

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 吉田路子

主論文 1編

Modeling the Early Phenotype at the Neuromuscular Junction of Spinal Muscular Atrophy Using Patient-Derived iPSCs.

Stem Cell Reports 4;561-568, 2015

審査結果の要旨

脊髄性筋萎縮症（SMA : Spinal Muscular Atrophy）I型は、乳児期早期に筋萎縮・筋力低下に伴う呼吸不全をきたす重篤な神経筋疾患である。SMN1 (*Survival of Motor Neuron 1*) 遺伝子の機能喪失変異により発症するが、発症と進行に至るメカニズムは未だ不明で、有効な治療法はない。これまで、臨床検査所見と病理組織像から、SMA は脊髄運動神経（MN : motor neuron）細胞死が原因の神経変性疾患に分類されてきた。しかし近年、SMA モデルマウスを用いた研究により、神経筋接合部（NMJ : neuromuscular junction）の構造異常が MN の細胞死に先立って観察されることが報告され、NMJ 形成障害から運動神経細胞死に至ることが示唆された。

申請者は、治療ターゲットとすべきは MN の細胞死ではなく NMJ 形成障害であると考え、この表現型を I 型 SMA 患者由来の iPSCs (induced Pluripotent Stem Cells) を分化誘導して得られた MN を用いて *in vitro* で再現し、さらにこの表現型を回復させることができる、候補薬剤の評価系を構築することを目的とした。まず異なる 2 名の I 型 SMA 患者皮膚線維芽細胞から iPSCs を樹立し、未分化性・多能性及び患者の SMN 遺伝子変異の維持を確認した。次にこの iPSCs を MN へ分化誘導し、分化効率・長期培養後の細胞数の維持において、健常コントロール-iPSCs 由来の MN と有意な差がないことを示した。分化誘導した MN の NMJ 形成能を評価するために、マウス筋管細胞と共培養したところ、NMJ 形成初期に観察されるアセチルコリン受容体 (AChR) のクラスターリングが、健常コントロール-iPSCs 由来の MN と共培養したものに比し著明に減少していることが免疫染色により示された。この際も明らかな MN 細胞死は認めなかった。さらに治療薬の評価系を構築するために、SMA-iPSCs 由来 MN を用いた上記共培養系に、SMN 蛋白量を増加させることが既知のバルプロ酸やアンチセンスオリゴを投与したところ、いずれも筋管細胞表面の AChR のクラスターリング障害を回復することが示された。SMA-iPSCs 由来 MN を用いて、SMA 発症早期に観察される NMJ 形成障害を再現した。NMJ 形成障害は MN 細胞死ではなく、NMJ の成熟・維持等に関わる MN の機能障害が原因と考えられた。

以上が本論文の要旨であるが、脊髄運動神経における SMN 蛋白量の減少が、神経筋接合部形成を障害することを示し、発症早期に観察される表現型によって治療候補となる薬剤評価系を構築した点で、医学上価値ある研究と認める。

平成 27 年 12 月 17 日

審査委員 教授 橋本直哉 ㊞

審査委員 教授 伊東恭子 ㊞

審査委員 教授 八木田和弘 ㊞