

京都大学	博士 ( 医学 )	氏名	石川 泰三
論文題目	Genetic and pharmacological correction of aberrant dopamine synthesis using patient iPSCs with BH4 metabolism disorders (BH4代謝病患者iPS細胞を用いた異常なドパミン合成の遺伝学および薬理学的修復)		
(論文内容の要旨)			
<p>テトラヒドロビオプテリン (BH4) はドパミンなどのカテコールアミン生合成に必要なチロシン水酸化酵素 (TH) 、セロトニン生合成に必要なトリプトファン水酸化酵素、またフェニルアラニンからチロシンへの代謝に必要なフェニルアラニン水酸化酵素の補酵素である。その生合成の障害である BH4 代謝病ではフェニルアラニンの代謝異常によるフェニルケトン尿症に加え、脳内のカテコールアミンやセロトニンが減少することによる症状を呈する。特にドパミンの減少はパーキンソン病等のいくつかの疾患で見られるような運動障害をはじめ、様々な症状をきたす。</p> <p>BH4 は 6-pyruvoyltetrahydropterin synthase (PTPS) 等の酵素により GTP から生合成された後、TH 等の補酵素として働き、<i>quinonoid</i> dihydrobiopterin (<i>q</i>BH2) に酸化される。<i>q</i>BH2 は dihydropteridine reductase (DHPR) により還元され、再び BH4 にリサイクルされる。従って、これら BH4 の生成に関わる遺伝子の変異は、BH4 代謝病を引き起こす。BH4 代謝病患者に対し、BH4 の投与が行われているが、脳血液関門の透過性に問題があり、神経症状に対する治療効果は限定的である。そのため、患者神経細胞において、どのようにして BH4 代謝関連遺伝子変異がドパミン合成異常を引き起こし、また、どのような物質がその異常を改善しうるのか十分に解明されていない。</p> <p>近年の iPSC 細胞技術の発展は患者神経細胞の入手を容易にし、一方、ゲノム編集技術の発展は iPSC 細胞における疾患原因遺伝子変異の修復を可能とした。これらの技術により、遺伝的背景が同一である理想的なコントロール細胞を利用した疾患研究が可能となっている。本研究では PTPS 変異および DHPR 変異 BH4 代謝病患者末梢血より iPSC 細胞を作製した後、疾患原因遺伝子変異をゲノム編集技術により修復した。</p> <p>BH4 代謝病における病因細胞の疾患表現型を研究するため、疾患 iPSC 細胞および修復 iPSC 細胞からドパミン神経細胞を分化誘導した。その結果、PTPS 変異神経細胞は、BH4 量やドパミン量の減少を示した。一方、DHPR 変異神経細胞は BH4 量が減少しておらず、BH4 酸化物である dihydrobiopterin (BH2) の増加が観察された。本結果から両疾患関連遺伝子変異でドパミン量の減少をきたす機序に差異のある可能性が示唆された。</p> <p>次に PTPS 変異神経細胞に、BH4 あるいは前駆物質であるセピアプテリンを添加し、疾患表現型に与える影響を調べた。その結果、両生理活性物質ともにドパミン量を増加させ、特にセピアプテリンはより強い効果を示した。このことはセピアプテリンが BH4 代謝病の神経症状を改善しうる候補物質であることを示している。</p> <p>そこでそれがさらに他のドパミンが欠乏する病態に一般化できるかを検証する</p>			

ため、パーキンソン病治療におけるセピアプテリンの可能性を検討した。この目的のため、ドパミン量の減少が既に知られている、glucocerebrosidase (GBA) 遺伝子に変異を持つパーキンソン病患者 iPSC 細胞由来神経細胞に対して、セピアプテリンを添加したところ、ドパミン量の増加が観察された。

本研究結果から、BH4 代謝病患者由来 iPSC 細胞はドパミン合成異常を示す疾患のドパミン合成を改善する生理活性物質や治療薬のスクリーニングに利用可能であることが分かると同時に、BH4 代謝病とパーキンソン病という異なる両疾患に対し、共通の生理活性物質が有効である可能性を示した。

(論文審査の結果の要旨)

テトラヒドロビオプテリン (BH4) 代謝病患者に対し BH4 補充が行われているが、神経症状に対する治療効果は限定的である。そのため、患者神経細胞における BH4 代謝関連遺伝子変異のドパミン合成異常にかかる機序や、その異常を改善する物質の解明は不十分であった。

本研究では、BH4 生合成酵素である 6-pyruvoyltetrahydropterin synthase (PTPS)、あるいは BH4 リサイクル酵素である dihydropteridine reductase (DHPR) の遺伝子に変異を持つ患者から iPSC 細胞を作製した後、遺伝的背景が同一であるコントロールをゲノム編集技術により作製した。iPSC 細胞からドパミン神経細胞を分化誘導した結果、PTPS 変異神経細胞は、BH4 量やドパミン量の減少を示した。一方、DHPR 変異神経細胞は BH4 量が減少しておらず、その酸化物である BH2 が増加していた。本結果から両疾患関連遺伝子変異でドパミン量の減少をきたす機序に差異のある可能性が示唆された。

また、BH4 前駆体セピアプテリンが PTPS 変異神経細胞およびドパミン量の減少が既報のパーキンソン病 iPSC 細胞由来神経細胞においてドパミン量を増加させることを見出した。

以上の研究は、BH4 代謝関連遺伝子のドパミン合成異常にかかる機序の解明に貢献し、将来的なドパミン合成異常を示す疾患群の治療薬開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成29年3月23日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、十分な知識を有していると認められ、博士に値するものと認定されたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降