

氏名	服部 妙香		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	第 6218 号		
授与報告番号	甲第 3503 号		
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者		
学位論文名	<b>Metabolic Signature of MELAS/Leigh Overlap Syndrome in Patient-specific Induced Pluripotent Stem Cells Model (MELAS/Leigh Overlap 症候群の患者 iPS 細胞における代謝特性)</b>		
論文審査委員	主査	新宅治夫 教授	副査 古山将康 教授
	副査	池田一雄 教授	

## 論文内容の要旨

【背景】MELAS/Leigh Overlap 症候群の原因はミトコンドリア呼吸鎖の障害であるが、その障害が細胞レベルでの代謝にどのような影響があり、またどのように臨床症状を引き起こすのかは未解明な部分が大きい。

【目的】我々は、MELAS/Leigh Overlap 症候群の患者より誘導した人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の代謝特性を、ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS) を用いて分析した。

【方法】ミトコンドリア変異 (m. 10191T>C) を持つ MELAS/Leigh Overlap 症候群患者の皮膚線維芽細胞より、ミトコンドリア遺伝子変異のヘテロプラスミーの程度が高い iPS 細胞 (ND3<sup>high</sup>-iPSC) とヘテロプラスミーの程度が低い iPS 細胞 (ND3<sup>low</sup>-iPSC) の同質遺伝的な iPS 細胞を作製した。皮膚線維芽細胞、iPS 細胞、iPS 細胞を分化させた細胞を GC-MS で分析し、主成分分析で相違を解析した。

【結果】GC-MS を用いて皮膚線維芽細胞と iPS 細胞より約 40 種類の代謝産物を同定した。皮膚線維芽細胞と iPS 細胞は区別が可能で、乳酸とプロリンがその区別に寄与していた。皮膚線維芽細胞の比較では、対照と患者細胞に相違を認めなかった。しかし、iPS 細胞で比較すると、患者より誘導した変異ミトコンドリアのヘテロプラスミーの程度の高い ND3<sup>high</sup>-iPSC と、ヘテロプラスミーの程度が低い ND3<sup>low</sup>-iPSC・対照 iPS 細胞の区別が可能であった。区別に寄与した代謝産物は、主としてピルビン酸、リンゴ酸、パルミチン酸、ステアリン酸、乳酸であった。代謝産物に特性が認められたのは、未分化状態の iPS 細胞での解析のみで、iPS 細胞を分化させた細胞では明らかな相違は認めなかった。

【結論】患者由来の iPS 細胞を作製、解析することで、ミトコンドリア呼吸鎖病に特徴的な代謝経路の存在が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

MELAS/Leigh Overlap 症候群の原因はミトコンドリア呼吸鎖の障害であるが、その障害が細胞レベルでの代謝にどのような影響があり、またどのように臨床症状を引き起こすのかは未解明な部分が大きい。本研究は、MELAS/Leigh Overlap 症候群の患者より誘導した人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の代謝特性を明らかにするため、ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS) を用いて分析し検討したものである。

方法は、ミトコンドリア変異 (m. 10191T>C) を持つ MELAS/Leigh Overlap 症候群患者の皮膚線維芽細胞より、ミトコンドリア遺伝子変異のヘテロプラスミーの程度が高い iPS 細胞 (ND3<sup>high</sup>-iPSC) とヘテロプラスミーの程度が低い iPS 細胞 (ND3<sup>low</sup>-iPSC) の同質遺伝的な iPS 細胞を作製し、皮膚線維芽細胞、iPS 細胞、iPS 細胞を分化させた細胞を GC-MS で分析し、主成分分析で相違を解析した。

その結果、GC-MS を用いて皮膚線維芽細胞と iPS 細胞より約 40 種類の代謝産物を同定した。皮膚線維芽細胞と iPS 細胞は区別が可能で、乳酸とプロリンがその区別に寄与していた。皮膚線維芽細胞の比較では、対照と患者細胞に相違を認めなかった。しかし、iPS 細胞で比較すると、患者より誘導

した変異ミトコンドリアのヘテロプラスミーの程度の高いND3<sup>high</sup>-iPSC と、ヘテロプラスミーの程度の低いND3<sup>low</sup>-iPSC・対照 iPSC 細胞の区別が可能であった。区別に寄与した代謝産物は、主としてピルビン酸、リンゴ酸、パルミチン酸、ステアリン酸、乳酸であった。代謝産物に特性が認められたのは、未分化状態の iPSC 細胞での解析のみで、iPSC 細胞を分化させた細胞では明らかな相違は認めなかった。

この研究の成績は、患者由来の iPSC 細胞を作製し解析することで、初めてミトコンドリア呼吸鎖病に特徴的な代謝経路の存在することを明らかにしたものであり、ミトコンドリア呼吸鎖病の病態解明に大きく寄与したことから、著者は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定した。