

乙 第 号

野田 正志 学位請求論文

審 査 要 旨

奈 良 県 立 医 科 大 学

## 論文審査の要旨及び担当者

	委員長	教授	堀江 恭二
論文審査担当者	委員	教授	粕田 承吾
	委員(指導教員)	教授	西尾 健治

主論文

Development of alternative gene transfer techniques for ex vivo and in vivo gene therapy in a canine model

犬モデルにおける ex vivo および in vivo 遺伝子治療のための代替遺伝子導入技術の開発

Masashi Noda, Kohei Tatsumi, Hideto Matsui, Yasunori Matsunari, Takeshi Sato,

Yasushi Fukuoka, Akitsu Hotta, Teruo Okano, Kimihiko Kichikawa, Mitsuhiko

Sugimoto, Midori Shima, Kenji Nishio

Regenerative Therapy 2021 Sep 10;18:347-354

## 論文審査の要旨

本研究では、これまで血友病 A マウスを用いて開発されてきた *ex vivo* および *in vivo* 遺伝子導入技術を血友病患者に応用する目的で、犬モデルを用いて有効性と安全性を検証した。*Ex vivo* 実験では、イヌの末梢血由来の血管内皮前駆細胞 (BOECs) にレンチウイルスベクターを用いて GFP 遺伝子を導入し、細胞シートを作製してイヌの大網に移植した。*In vivo* 実験では piggyBac トランスポゾンベクターを用いて肝臓を標的としたハイドロダイナミックジーンデリバリー法 (HGD) による GFP 遺伝子導入を行った。

いずれの方法でも大きな有害事象は認めなかった。*Ex vivo* 実験では、移植後 20 週の組織学的検査で GFP 陽性の管腔構造を認め、移植した BOECs が成熟内皮細胞に分化して生着したことが示された。*In vivo* 実験では、HGD 実施後 20 週において肝葉の 50% 以上で GFP が陽性であり、ベクターが効率的にゲノムへ挿入したと考えられた。

審査委員からは、大網および肝臓を標的とした理由が問われ、大網では血管が豊富なために BOECs の生着に適していることや、肝臓が本来の凝固因子の産生のある場であることが説明された。導入した遺伝子の長期発現のためには、幹細胞の性質を有す細胞への遺伝子導入が必要ではないかとの質問に対しては、遺伝子が導入された細胞における幹細胞マーカーの発現解析による検討が可能との、具体的な対応策が提示された。HGD による肝機能障害の出現の有無と遺伝子導入効率との関係について問われた際には、肝機能障害が出現した犬の方で遺伝子導入効率が高かったことが述べられた。その理由として、肝障害が出現した犬では、体重あたりの注入液量が多かったために肝静脈内圧が上昇して肝障害を招き、そのことがトランスポゾンベクターの肝細胞内への移行を促進して遺伝子導入効率を高めたのではないかとの考察がなされた。

上の研究は、血友病のみならず、遺伝子治療全般における治療戦略の構築に寄与する重要なものであり、博士 (医学) の学位に値すると評価できる。

## 参 考 論 文

1. Functional regulation of von Willebrand factor ameliorates acute ischemia-reperfusion kidney injury in mice.

Ono S, Matsui H, Noda M, Kasuda S, Yada N, Yoshimoto K, Akiyama M, Miyata T, Sugimoto M, Nishio K. *Sci Rep.* 2019 Oct 8;9(1):14453.

2. イヌ実験の知識

野田 正志, 松井 英人, 杉本 充彦. *IVR 会誌* 31 卷 1 号 Page34-41(2016.01)

以上、主論文に報告された研究成績は、参考論文とともに総合臨床病態学の進歩に寄与するところが大きいと認める。

令和3年12月14日

学位審査委員長

生体機能制御機構学

教授 堀江恭二

学位審査委員

法医学

教授 粕田承吾

学位審査委員(指導教員)

総合臨床病態学

教授 西尾健治