

## 論文の内容の要旨

氏名：中 村 吉 宏

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：偽性副甲状腺機能低下症の疾患特異的 iPS 細胞由来尿細管細胞を用いた PTH 負荷に対する cAMP およびリン酸の反応の検討

遺伝性腎尿細管疾患は一般臨床において正確な機能評価による最終診断を行うことは困難なことが多い。偽性副甲状腺機能低下症においても、副甲状腺ホルモン（parathyroid hormone: PTH）に対する腎尿細管の反応（尿中サイクリック AMP (cAMP) とリン酸増加反応）を指標に、副甲状腺機能低下症の鑑別診断を行う Ellsworth – Howard 試験が臨床にて行われている。しかし、Ellsworth – Howard 試験は煩雑かつ厳格な条件下で行う必要があり、評価が困難な事例も多い。そこで本研究は患者の末梢血から患者の遺伝情報を有する疾患特異的人工多能性幹細胞（iPS 細胞：induced pluripotent stem cell）を作製し、尿細管細胞に分化させ、PTH を添加し、cAMP の増加とリン酸の細胞内取り込みを評価することで正確な偽性副甲状腺機能低下症の診断法を確立することを目的とした。胚性幹細胞を維持する転写因子である山中 4 因子をセンダイウイルスベクターにより患者末梢血単核細胞に導入して iPS 細胞を作製し、Bone Morphogenetic Protein-2、Bone Morphogenetic Protein-7、Activin-A、Retinoic acid の添加により尿細管細胞への分化誘導を行い、免疫蛍光染色、ヒト腎近位尿細管細胞株との遺伝子発現の比較、PTH 負荷に対する cAMP の反応の確認にて、尿細管細胞への分化を確認した。正常 iPS 細胞から作製した尿細管細胞に対して PTH (0、 $10^{-11}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ M) の負荷をおこない細胞内と培養上清中の cAMP を測定し、PTH 濃度依存性に cAMP の増加反応を確認した。一方、偽性副甲状腺機能低下症患者由来の iPS 細胞から作製した尿細管細胞では PTH 負荷後に細胞内と培養上清中で一致する cAMP 増加反応は見られなかった。また、同様に iPS 細胞から分化させた尿細管細胞に PTH 負荷を行い、細胞内へのリン酸の取り込みをラジオアイソトープ  $^{32}\text{P}$  を用いて確認したところ、PTH 濃度依存性にリン酸の取り込み低下が認められた。一方、偽性副甲状腺機能低下症患者の iPS 細胞から作製した尿細管細胞では、cAMP 同様に有意な反応が認められなかった。以上より、偽性副甲状腺機能低下症患者から採取した血液中の末梢血細胞から疾患特異的 iPS 細胞を樹立し、尿細管細胞に分化させ、PTH に対する細胞内・外の cAMP と細胞内へのリン酸の取り込みをみることで、in vitro にて新たな方法で正確に診断ができる可能性が示された。