

学位取得者／学位記

●令和3年度 (2021.4~2022.3) ●

●学位取得者

川谷 圭司

A human isogenic iPSC-derived cell line panel identifies major regulators of aberrant astrocyte proliferation in Down syndrome

Commun Biol, 2021 Jun 14;4(1):730.

取得年月日：2021年7月31日

高岡 有理

Effectiveness and Safety of Double-Blind, Placebo-Controlled, Low-Dose Oral Immunotherapy with Low Allergen Egg-Containing Cookies for Severe Hen's Egg Allergy: A Single-Center Analysis.

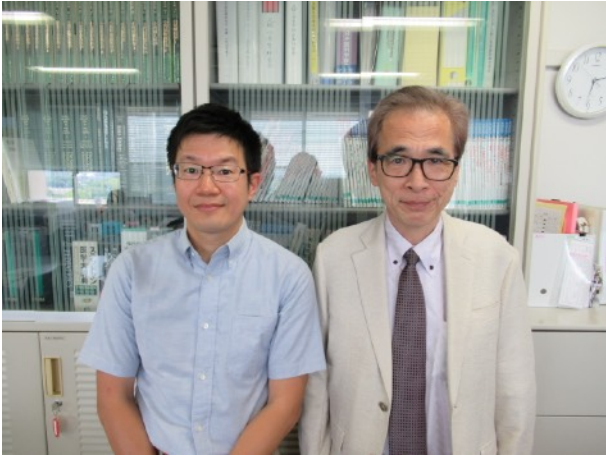
Int Arch Allergy Immunol, 2019;180(4):244-9.

取得年月日:2022年1月30日

Single-Center Noninferiority Randomized Trial on the Efficacy and Safety of Low- and High-Dose Rush Oral Milk Immunotherapy for Severe Milk Allergy

Int Arch Allergy Immunol, 2020;181(9):699-705.

取得年月日:2022年1月30日



A human isogenic iPSC-derived cell line panel identifies major regulators of aberrant astrocyte proliferation in Down syndrome

川谷 圭司

医学系研究科 情報統合医学 小児科学専攻

Commun Biol, 2021 Jun 14;4(1):730.

● 目的

ダウン症候群は先天性心疾患、認知障害、血液疾患など様々な合併症を生じる最も頻度の高い症候群である。21番染色体トリソミーによる遺伝子発現量の増加がダウン症候群の症状を引き起こすと考えられているが、どの遺伝子の組み合わせが病態につながるのかは明らかではない。我々は疾患特異的ヒトiPS細胞とゲノム編集技術を組み合わせ、ダウン症候群における病態責任遺伝子の同定を可能にする実験モデルの樹立を目指した。

● 方法

健常児の剖検脳と比べ、ダウン症候群の剖検脳ではアストロサイトが多く存在するとされ、過剰なアストロサイトが認知障害の一因となると考えられている。我々はすでにダウン症候群由来iPS細胞から分化させたアストロサイト前駆細胞 (Tri21 APC) が、健常児由来と比べ増殖速度が亢進するという表現型を見出し、本研究での標的細胞をAPCとして増殖速度に関する責任遺伝子特定を目指した。病態責任遺伝子を同定するためには、21番染色体上の遺伝子発現量が多様な組み合わせで3コピー、あるいは2コピー分となった部分トリソミーiPS細胞ライブラリの樹立と、それら発現量の違いによってもたらされる明確な細胞表現型を見出すことが重要となる。我々は染色体不活化をもたらす*XIST*遺伝子に注目し、これを3本ある21番染色体の1本のみ挿入することで、21番染色体1本の不活化、つまりダイソミー化を行うことを目指した。ダウン症候群由来iPS細胞の21番染色体のうち1本に、Tet発現誘導性*XIST*を挿入した細胞株 (*XIST*-Tri21 iPSC) を樹立した。Doxycycline投与なし (Dox OFF)、投与あり (Dox ON)、一定期間Dox投与後に再度中止 (Dox removal) することで*XIST*-Tri21 APCの表現型の変化を解析した。APCの増殖速度、遺伝子発現プロファイルなどの解析を行い、APC異常増殖の責任遺伝子の特定を試みた。

● 結果

XIST-Tri21 APCは、Dox OFFの状態では健常細胞に比較して増殖速度は亢進したが、Dox ONにより増殖速度は低下し健常細胞と同程度となった。Dox removalではAPCの増殖速度は再び上昇した。この表現型を遺伝子発現プロファイルと比較することで、責任遺伝子を*DYRK1A*、*PIGP*、*DSCR3*の3つに絞り込んだ。*DYRK1A*に対してCRISPR/Cas9 systemを用いて、*DYRK1A*の発現コピー数を減少させることで、APCの増殖速度が低下することを見出した。*DYRK1A*阻害剤を用いても同様にAPCの増殖速度は低下した。また、*PIGP*、*DSCR3*に関しては、*piggyBac* transposon systemを用いて、それぞれ遺伝子の強制発現を行うことで解析を行った。*PIGP*の強制発現においてAPCの増殖速度は亢進したが、*DSCR3*に関しては増殖速度に変化はなかった。またそれぞれSiRNAを用いてknockdownを行うと、Si*PIGP*では増殖速度は低下したが、Si*DSCR3*では増殖速度に変化はなかった。以上の結果より、APC異常増殖に関連する遺伝子として*DYRK1A*、*PIGP*を同定した。

●総括

遺伝的背景が同一である細胞株パネルを用いて、APC増殖責任遺伝子を特定した。今回の結果を踏まえ、ダウン症候群の認知障害のメカニズムをさらに明らかにしていきたいと考える。またこの実験モデルを用いて他の細胞においても実験を行い、ダウン症候群における病態解明を進めていきたい。

●本人コメント

ダウン症候群の病態メカニズム解明のための実験モデルを作るという壮大なテーマで始めた研究でしたが、最終的に形にすることができ、とても有意義な時間を過ごすことができました。この大学院生活で得た知識や技術をもとに、現在アメリカのフロリダ州でアルツハイマー病の基礎研究をしています。自信を持ってこちらで研究を行うことができるのも、阪大小児科での大学院生活があったからだと思っています。大藺先生、北畠先生はじめ、多くの先生方に支えていただき、たいへん感謝しております。ありがとうございました。



Effectiveness and safety of oral immunotherapy for severe food allergy

(重症食物アレルギーにおける経口免疫療法の有効性と安全性)

高岡 有理
大阪はびきの医療センター
小児科 副部長

論文1.

Effectiveness and Safety of Double-Blind, Placebo-Controlled, Low-Dose Oral Immunotherapy with Low Allergen Egg-Containing Cookies for Severe Hen's Egg Allergy: A Single-Center Analysis.

(Int Arch Allergy Immunol. 2019;180(4):244-9.)

●目的

少量の鶏卵成分を含む低アレルギー化クッキー (low allergen cookies, LAC) を使用した経口免疫療法 (oral immunotherapy, OIT) の有効性と安全性を評価する。

●方法ならびに結果

33人の重症鶏卵アレルギーにLAC (n = 21) を用いたOITを行い、プラセボ (n = 12) と比較した。OIT4か月後に行った固ゆで卵白経口食物負荷試験 (OFC) 陰性人数は、LAC群がプラセボ群よりも多かった (7/19 [37%] vs.1/12 [8%] p = 0.077)。LAC群ではOIT前後でOFCの最終負荷量が有意に改善した (p = 0.015)。OIT中LAC群では合計1,938回のLAC摂取回数のうち誘発症状がみられたのは99回のうち90回は軽症だった。

●総括

LACによるOITはOFC閾値を増大させかつ比較的安全な治療法と考えられた。

論文2.

Single-Center Noninferiority Randomized Trial on the Efficacy and Safety of Low- and High-Dose Rush Oral Milk Immunotherapy for Severe Milk Allergy

(Int Arch Allergy Immunol. 2020;181(9):699-705.)

●目的

重症牛乳アレルギーに対する低用量および高用量の急速経口免疫療法 (oral immunotherapy, OIT) の有効性と安全性を非劣性ランダム化試験にて評価する。

●方法ならびに結果

重症牛乳アレルギーでOITの維持目標量を低用量 (20 mL; n = 19) または高用量 (100 mL; n = 14) の2群に割り付け、維持目標量まで急速に増量する。その後6か月間の維持期間の後、OFCにて閾値の再確認を行った。さらにOIT中の有害事象を評価した。OIT後のOFCの最終負荷量は両群ともにOIT前と比較して

有意に上昇し（低用量; $p = 0.000$; 高用量; $p = 0.006$ ）、OIT後の最終負荷量に群間差はみられなかった（ $p = 0.767$ ）。一方低用量群は高用量群よりも維持期間の全摂取回数に対する重症な誘発症状の回数が有意に少なかった。（低用量; 4/3230 vs高用量;11/2355, $p=0.018$ ）。

●総括

重度の牛乳アレルギーのOITでは閾値上昇効果と安全性の面から低用量がより適すると考えられた。

●本人コメント

乳幼児期発症の鶏卵や牛乳のアレルギーでは、OITにより摂取可能量が増大することで食生活の質が向上すると考えています。今回の研究にあたりご指導いただいた大藺恵一先生をはじめ学外の先生方に厚く御礼申し上げます。今後もさらに食物アレルギーに対する安全かつ有効な治療の開発に取り組み、食物アレルギーの治療の発展に少しでも寄与できたら幸いです。