

日本医療研究開発機構 再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム
(疾患特異的 iPS 細胞の利活用促進・難病研究加速プログラム)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 自然免疫異常症に対する包括的 iPS 細胞バンクの構築
(英語) Construction of a Comprehensive iPS Cell Bank for Innate Immune Disorders
研究開発実施期間: 令和4年6月7日～令和7年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 八角 高裕
(英語) YASUMI, Takahiro

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 京都大学大学院医学研究科・特定教授
(英語) Kyoto University Graduate School of Medicine, Program-specific professor

II 研究開発の概要

【研究の目的と背景】

自然免疫系は生体に病原体が侵入してきた際に最初に応答する免疫系であり、好中球やマクロファージなどの食細胞が主にその役割を担っている。これらの細胞は、パターン認識受容体と呼ばれる受容体を介して病原体が持つ特徴的な分子を認識し、適切な炎症を引き起こす事により免疫応答を惹起する。これら病原体成分認識受容体、及び下流のシグナル伝達経路の構成分子をコードする遺伝子に異常が生じると、自然免疫系の過剰応答や欠損をきたし、過剰な炎症や重症感染症などが引き起こされる。これらの疾患は「自然免疫異常症」と総称され原発性免疫不全症候群に分類されるが、特に過剰な免疫応答による炎症性病態を呈する疾患群は「自己炎症性疾患」と呼ばれる。自然免疫系の異常は、慢性炎症が関与する生活習慣病（痛風、動脈硬化や2型糖尿病など）にも関与していることが報告されており、遺伝性自然免疫異常症の研究は、これらの自然免疫が関与する多因子疾患の病態理解と治療法開発にも重要である。しかし、遺伝性自然免疫異常症はいずれも希少疾患であり、研究に必要な患者由来細胞の確保が難しいため疾患自体の病態が解明されておらず、診断法や治療法が確立していないという問題がある。これらの課題を解決するためには、病態解明に必要な患者由来細胞と実際の患者臨床情報を有機的に結びつけ、研究促進に有用なリソースを提供する基盤が必要である。以上を背景として、本研究では、自然免疫異常症患者由来の iPS 細胞を樹立すると同時に、遺伝子変異情報を含めた詳細な臨床情報と共に理研バイオリソースセンターへ寄託し、信頼性の高い病歴情報が付随した iPS 細胞バンクの構築を行うと同時に、樹立した iPS 細胞を用いて一部疾患の病態解明研究を行った。

【研究成果の概要】

研究開発初年度には、iPS 細胞の商用利用を含めた利活用を可能とする内容を盛り込んだ新たな研究計画を作成して京都大学医の倫理委員会より承認を得ると共に、日本免疫不全・自己炎症学会（JSIAD）と厚労省科研費補助金難治性疾患政策研究事業研究班（自己炎症性疾患及び原発性免疫不全症）との連携体制を構築してドナーリクルートを開始した。リクルートは順調に進み、研究開発終了時点（令和 7 年 3 月末）で当初の目標を超える 48 症例の自然免疫異常症患者から研究同意が得られた。MTA に関わる書類手続きの関係で寄託には至っていないものの、一部症例を除いて iPS 細胞の樹立は終了しており、今後寄託が行われる予定である。尚、本研究開発課題で同意が得られた自然免疫異常症症例は以下の通りである。

- ・クリオピリン関連周期熱症候群（CAPS）：11 症例
- ・家族性地中海熱：6 症例
- ・PAAND（好中球性皮膚症を伴うピリン関連自己炎症性疾患）：2 症例
- ・PAPA（化膿性無菌性関節炎・壊疽性膿皮症・アクネ）症候群：1 症例
- ・CDC42 異常症：2 症例
- ・メバロン酸キナーゼ欠損症：1 症例
- ・SAVI（乳児発症 STING 関連血管炎）：1 症例
- ・COPA 症候群：2 症例
- ・AGS（エイカルディグティエール症候群）：1 症例
- ・A20 ハプロ不全症：7 症例
- ・NEMO 異常症：1 症例
- ・IRAK4 欠損症：1 症例
- ・ADA2 欠損症：3 症例
- ・XIAP 欠損症：1 症例
- ・ELF4 異常症：5 症例
- ・慢性肉芽腫症：2 症例
- ・TYK2 欠損症：1 症例

疾患病態解析では、新規 CDC42 異常症患者由来の iPS 細胞を用いた pyrin インフラマソーム形成機構の解明研究で大きな進展が認められた。我々は、CDC42 遺伝子の C 末端領域のミスセンス変異（R186C）により CDC42 変異体がゴルジ体へ集積して pyrin インフラマソームの過剰活性化を引き起こすこと（Nishitani-Isa, J Exp Med 2022）、及び変異体のゴルジ体集積により STING が活性化されて I 型インターフェロン産生が亢進すること（Iannuzzo, Nat Comm 2024）を報告してきたが、CDC42 の変異体によって pyrin インフラマソームが過剰に活性化されるメカニズムは未解明であった。今回新たに同意を得られた症例に認められる CDC42 ミスセンス変異の位置は C 末端領域ではなく、変異体の細胞内分布も正常であったが、患者単球及びマクロファージは pyrin 刺激に対して特異的に過剰反応を示し、この現象は患者由来 iPS 細胞から分化誘導された単球系細胞に於いても再現された。患者に認められた変異部位のアミノ酸残基を別のアミノ酸に置換する実験を行ったところ、pyrin インフラマソームの活性化が促進されるアミノ酸、正常レベルの活性化を示すアミノ酸、及び活性の低下するアミノ酸が存在することが明らかとなり、同部位のアミノ酸残基が pyrin 活性化に於いて重要な役割を担っていることが判明した。更に病態の解析を進めたところ、CDC42 分子は同領域を介して pyrin 分子と直接会合して pyrin 分子の細胞内局在を制御しており、これが pyrin インフラマソーム活性化に於ける重要なステップである事が明らかとなった。又、家族性地中海熱に認められる pyrin 変異体は野生型 pyrin 分子より CDC42 に強く会合し、このことが家族性地中海熱に認められる炎症病態の主要なメカニズムであることも判明した。今回の解析で明らかとなった pyrin インフラマソーム形成過程に於ける CDC42 分子の役割は、多様な pyrin 変異体によって誘導される複雑な病態形成メカニズムの解明に繋がる大きな成果であり、現在論文投稿中である。

その他の疾患病態研究では、X 連鎖性潜性遺伝性疾患として報告されていた ELF4 異常症の新規家系に於いて複数の女性患者を同定し、その原因が X 染色体不活化の偏りである事を解明した。現在、X 染色体不活化の偏りが複数の女性で認められた機序の解明を進めると共に、患者由来 iPS 細胞を用いた炎症病態の解明を進めている。

更に、新規 STING 阻害薬の実証研究にも参画し、COPA 症候群患者由来 iPS 細胞を用いて当該化合物が STING の活性化を抑制することを確認した。既にマウスに於ける検証も終了しており、こちらの成果についても論文化を進めているところである。

【研究成果の意義】

世界各国で疾患 iPS 細胞が樹立されており、種々のデータベースが構築されているが、免疫系疾患の iPS 細胞登録は僅かである。今回リクルートされた遺伝性自然免疫異常症患者由来 iPS 細胞に試料附随情報や診療情報を附随させた iPS 細胞バンクは、世界各国の iPS バンクと比較しても独自の地位を確保し、疾患解析に有用な細胞リソースとして企業や研究者に利用されることが期待できる。

又、病態解明研究で解明された新規 CDC42 異常症患者に於ける pyrin インフラマソーム過剰活性化機構の解明と、それに続く pyrin インフラマソーム形成に於ける CDC42 分子の役割の解明は、pyrin 分子の様々な変異体と関連する複雑な炎症病態の解明に繋がることが期待される。

【Research objectives and background】

The innate immune system forms the first line of defense against infections by responding to invading pathogens and is primarily carried out by phagocytes such as neutrophils and macrophages. These cells trigger an immune response by recognizing characteristic molecules of pathogens via receptors called pattern recognition receptors and inducing appropriate inflammation in the infected tissue. When components of these pathogen recognition receptors or genes encoding downstream signaling pathways become abnormal, the innate immune response becomes exaggerated or defective, leading to excessive inflammation and severe infections. These diseases are collectively referred to as “innate immune dysregulation” and are classified as primary immunodeficiency syndromes. In particular, the group of diseases that present inflammatory pathologies due to excessive immune responses are called “autoinflammatory diseases.

It has been reported that abnormalities of the innate immune system are also involved in lifestyle-related diseases with chronic inflammation (gout, atherosclerosis, type 2 diabetes, etc.), and research on hereditary innate immune disorders is also important for clarifying the pathology of these multifactorial diseases involving innate immunity and developing therapeutic modalities. However, because hereditary innate immune diseases are rare and it is difficult to secure patient-derived cells necessary for research, the pathophysiology of the diseases remain unraveled. To solve these problems, it is necessary to develop an infrastructure that provides useful resources to promote research on these diseases by linking the patient-derived cells needed to elucidate the pathogenesis with clinical information on actual patients. In this study, iPS cells derived from patients with hereditary innate immune disorders were established and deposited at the RIKEN BioResource Center together with detailed clinical information, to establish an iPS cell bank with highly reliable disease history information. At the same time, we used the established iPS cells to elucidate the pathogenesis of several diseases.

【Summary of Research Results】

In the first year of R&D, a new research plan incorporating the possibility of commercial use of iPS cells was prepared and approved by the Kyoto University Medical Ethics Committee. Donor recruitment proceeded smoothly. iPS cell establishment has not yet been completed due to MTA-related administrative procedures, but with the

exception of a few cases, establishment has been completed and will be deposited in the near future. The following innate immune disorder cases have been consented for this R&D.

- Cryopyrin associated periodic syndrome: 11 cases
- Familial Mediterranean fever: 6 cases
- Pyrin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis: 2 cases
- Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne syndrome : 1 症例
- CDC42-associated autoinflammation: 2 cases
- Mevalonate kinase deficiency: 1 case
- STING-associated vasculopathy with onset in infancy: 1 case
- COPA syndrome: 2 cases
- Aicardi-Goutieres syndrome: 1 case
- A20 haploinsufficiency: 7 cases
- NEMO deficiency: 1 case
- IRAK4 deficiency: 1 case
- ADA2 deficiency: 3 cases
- XIAP deficiency: 1 case
- ELF4 deficiency: 5 cases
- Chronic granulomatous disease: 2 cases
- TYK2 deficiency: 1 case

【Significance of Research Results】

Disease iPS cells have been established in many countries around the world and various databases have been constructed, but there are only a few iPS cell registries for immune diseases. The iPS cell bank, for which accompanies medical information to iPS cells derived from patients with hereditary innate immune disorders, is expected to secure a unique position compared to other iPS banks in the world and be utilized by companies and researchers as a useful cell resource for disease analysis