

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 細胞を用いた病態解明・創薬研究課題)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 疾患特異的 iPS 細胞を用いた中枢神経における SENDA/BPAN の病態解明と治療法開発

(英語) Central nervous system disease modeling and therapeutic development for SENDA/BPAN using patient-derived iPS cell-based models

研究開発実施期間: 令和5年7月6日～令和7年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 栗屋智就

(英語) AWAYA, Tomonari

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:

(日本語) 国立大学法人京都大学・大学院医学研究科・准教授

(英語) Kyoto University, Graduate School of Medicine, Associate Professor

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

和文:

1. 研究開発の目的・ねらい

本研究では、SEND A/BPAN の中枢神経病態の解明と治療薬開発のため、疾患研究者が iPS 細胞技術を習得して自ら解析を行えるようにするための技術移転を目的とした。特に、中枢神経病態の解析のための iPS 細胞の神経細胞への効率的な分化誘導法の技術移転、効果的な病態評価、および薬剤探索のためのレポーター細胞等の研究資材の開発を行い、疾患研究者へ提供すること、また、中枢神経病態の探索に至るまで、線維芽細胞を用いた病態解析と創薬標的探索を深めることで、神経細胞での薬効評価へスムーズに移行するための準備を行うことをねらいとした。

2. 研究開発の背景

SEND A/BPAN は、小児期に知的障害、成人期に急速進行性の神経変性を呈する希少疾患で、有効な治療法は存在しない。原因遺伝子 WDR45 は、オートファジー関連分子 WIPI4 をコードする。分担研究者の村松・月田らは、線維芽細胞を用いてフェリチノファジー障害による二価鉄欠乏が病態の中心である可能性を示した。フェリチノファジーを標的とした創薬開発が期待されるが、中枢神経系における病態は数少ない割

検組織からの進行期の知見に限定され、iPS 細胞等を用いた病態研究基盤の開発が求められていた。そこで、本研究では、SENDA/BPAN の患者由来 iPS 細胞を神経系細胞へと分化誘導し、健常対照者由来 iPS 細胞から分化誘導した神経系細胞と比較検討することで、その早期の神経病態を把握し、線維芽細胞において観察された病態の外挿性の評価や治療標的の探索を目標とした。

3. 研究開発の概要

本研究では疾患特異的 iPS 細胞を用いて、大きく三つの柱からなる研究開発に取り組んだ。①資材開発と技術移転：短期間で安定的な神経細胞誘導を可能とする NGN2 カセット導入細胞や、オートファジー・ミトコンドリア機能を可視化するレポーター細胞、WDR45 ノックアウトおよびレスキュー細胞などの研究資材を開発した。これらを分化誘導法・品質評価法等の技術とともに提供し、疾患研究者が自施設で iPS 細胞技術を活用できるようにすることを目標とした。②神経病態解明：線維芽細胞で得られたフェリチノファジー障害や鉄代謝異常が、iPS 細胞由来神経細胞で再現されるかを明らかにするとともに、発展的には軸索形態異常やミトコンドリア機能低下など、神経細胞特有の表現型を可視化・定量化する評価系の確立を目指した。③創薬スクリーニングと二次評価：線維芽細胞において絞り込んだフェリチノファジー改善薬を、中枢神経細胞モデルを用いた薬効評価へと展開し、非臨床 PoC の取得を目指した。

4. 研究開発の成果およびその意義等

本研究においては、希少神経疾患である SENDA/BPAN に対する創薬研究と病態解明の基盤を構築することを目標とし、疾患研究者が iPS 細胞技術を用いて自律的に研究を進められるよう、必要な資材と技術の提供に重点を置いた。特に、神経細胞分化誘導のための技術移転においては、従来の dual SMAD 阻害法に加え、より迅速かつ再現性の高い分化を実現する転写因子 NGN2 導入型のカセット（いわゆる iNeuron 法）を整備し、それを用いたドパミン作動性神経細胞の分化誘導にも取り組んだ。これにより、SENDA/BPAN において、より安定で病態に即した *in vitro* モデルの確立を目指した。

さらに、病態解析に資する研究資材として、複数の細胞内プロセスを可視化する蛍光レポーターを構築・導入した。代表的なものとしては、線維芽細胞での薬剤探索にも用いられたオートファジー活性の指標となる LC3 レポーターを導入した LC3 レポーター iPS 細胞や、これに加えて鉄代謝やミトコンドリア機能といった細胞機能を可視化とするレポーター系を新たに構築した。これらの資材は、病態評価の解像度を高めるための技術基盤であるとともに、疾患 iPS 細胞を用いた創薬研究を想定して開発されたものであり、将来的には表現型スクリーニング等への展開も視野に入れている。技術移転は、研究分担者との密な連携のもと、培養法・分化条件・品質管理手法の共有にとどまらず、解析環境に応じたトラブルシューティング支援やハンズオンによる実践的指導を含めて実施し、iPS 細胞研究の非専門家である疾患研究者が、一定の再現性をもって病態解析を実施可能な体制の構築に成功した。

一方で、病態解析の柱として掲げていた SENDA/BPAN の神経細胞におけるフェリチノファジー障害の検出、およびその下流にあるミトコンドリア機能異常などの病態解明については、課題期間中に明確な成果に至ることは出来なかった。これは、神経分化後の細胞群における成熟度や分化の不均一性、あるいは表現型の再現性等、iPS 細胞を用いた病態解析に共通する課題が一因であり、疾患研究者が独立して iPS 細胞を用いた病態解析研究を遂行するハードルを示している。疾患モデルとしての iPS 細胞の利活用のためには、通常の細胞株を用いた実験のように、安定して扱える分化誘導系や条件の最適化が必要であることが示唆された。一方、通常の分化誘導技術についても、疾患研究者のトレーニングにより次第に安定した成果が得られつつあり、当初想定していた神経細胞での明確な病態同定には辿り着かなかったが、現時点で得られた知見と技術的蓄積は、今後の研究に向けた貴重な基盤となったと考えている。また、これらの技術の先にある、オルガノイド技術や、特定脳領域由来の細胞集団を模倣した複合モデル系の活用は、神

神経細胞の成熟促進や環境再現性の観点から有望な手法であり、今後の発展的な取り組みとして期待される。特に SENDA/BPAN では大脳基底核や中脳領域が主要な病変部位であることから、それらの構造的・機能的再現を目指すオルガノイドモデルの導入は、疾患特異的表現型の可視化や創薬スクリーニングの感度向上に大きく貢献すると考えられる。

創薬の側面においては、線維芽細胞を用いた初期スクリーニングにより選別されたオートファジー改善薬の中から、さらにフェリチノファジーを指標に再評価を行い、複数の候補化合物を同定することができた。これらの化合物は、鉄代謝の調節を通じて細胞内環境の修復を促進する可能性を持ち、神経疾患以外にも、がんや心不全、慢性炎症性疾患などへの応用の可能性がある。フェリチノファジーの異常は、細胞内の二価鉄過剰または欠乏を引き起こし、脂質酸化やミトコンドリア障害を介してフェロトシスに至るなど、多様な病態と関係しており、今後はこうした分子機構に基づいた薬剤の開発と評価が求められる。今回の研究で得られた候補化合物は、全て FDA 認可の中枢神経移行性のある薬剤であるが、既存の治療薬の治療標的や作用機序とは異なる経路を標的としており、ドラッグリポジショニングの観点からも注目に値する成果である。

5. まとめ

本研究は、希少神経疾患 SENDA/BPAN の病態解明と治療法開発に向け、疾患特異的 iPS 細胞を用いた技術と資材の整備、そしてそれらを疾患研究者が主体的に活用可能とするための技術移転を中心に展開した。今回の経験から、疾患研究者による iPS 細胞の利活用のためには、研究者自身のトレーニングと、iPS 細胞の特性を踏まえた研究資材の開発など、伴走型の支援が最も有効であることが確認された。疾患特異的 iPS 細胞を用いた創薬や病態解析は、単に細胞株を取得するだけでなく、その培養・分化誘導・評価系を一体的に運用するノウハウと体制が必要であり、その確立には相応の時間と技術的蓄積を要する。

本研究課題内では、iPS 細胞を用いた直接的な病態研究の成果は得られなかったが、将来的な展開に必要な研究基盤、解析系、共同体制の整備という点で着実な前進が見られ、今後の実質的な成果創出に向けた技術的・人的なインフラを段階的に整備することができた点は、非常に有意義であった。本課題で得られた協働の枠組みは、専門分野の垣根を越えた iPS 細胞利活用研究の一つのモデルケースとなることが期待される。今後、このような分野横断的な連携が多様な疾患領域にも展開され、iPS 細胞を基盤とした創薬研究のさらなる発展に寄与することが強く期待される。

英文：

Summary

This study aimed to establish the foundational technologies and collaborative framework necessary for disease modeling and therapeutic development of the rare neurodegenerative disorder SENDA/BPAN, using patient-derived induced pluripotent stem cells (iPSCs). This project focused on the development of iPSC-based resources and protocols for neural differentiation, as well as the transfer of these technologies to disease researchers who had limited prior experience with iPSC handling.

Through this collaboration, we found that a “side-by-side support model”, where iPSC specialists provide direct technical assistance and training while tailoring tools to the needs of disease researchers, is highly effective in enabling non-specialists to utilize iPSC technology. In particular, we developed and transferred optimized neural differentiation systems and reporter cell lines suitable for visualizing autophagy, mitochondrial function, and iron

metabolism, key processes implicated in SENDA/BPAN pathogenesis.

While the project did not yield immediate disease-specific phenotypes in iPSC-derived neural cells, it successfully laid the groundwork for future discoveries. We systematically developed experimental protocols, established quality control measures, and transferred both materials and techniques to disease researchers. This has resulted in a robust infrastructure—both technical and collaborative—that will support future phenotypic analyses and therapeutic screening.

Importantly, this effort also highlighted that successful application of iPSC technology in rare disease research requires more than the mere availability of cell lines. Rather, it demands a sustained and integrative transfer of practical knowledge, with particular attention to reproducibility and cellular maturity in disease modeling.

The collaborative framework established in this project, where iPSC researchers serve as technical partners and disease researchers lead the biological investigation, offers a valuable model for cross-disciplinary research. We anticipate that this framework will be applicable not only to SENDA/BPAN but also to other intractable and rare diseases. Moving forward, we will continue to refine our disease models and promote broader utilization of iPSC-based platforms for drug discovery across various disease areas.