

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：疾患特異的 iPS 細胞技術を用いた神経難病研究
2. 研究開発代表者：岡野栄之（慶應義塾大学医学部）
3. 研究開発の成果

本研究の目的は、疾患特異的ヒト iPS 細胞樹立法や各種神経系細胞への分化誘導法を効率化、さらには難治性疾患研究班への疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解析の基盤技術を移転することにより、日本国内における神経難病研究全体の加速と参加している製薬企業における創薬研究を促進することである。

平成 27 年度は、末梢血単核球等から主にエピゾーマルベクターを用いた iPS 細胞樹立、樹立した iPS 細胞の品質管理と神経系細胞への分化誘導、遺伝子解析による品質管理やアデノウイルスベクターを用いた目的細胞の可視化などを実施した。

【疾患特異的 iPS 細胞の樹立と評価】

輸送に伴うトラブルもなく、検体受け入れから疾患特異的 iPS 細胞の樹立を行なった。さらに、一般的な品質管理として樹立に用いたプラスミドの残存有無や未分化マーカーの発現確認、神経系細胞への分化能確認を実施し、平成 27 年度は、5 疾患 10 症例の樹立と品質管理を完了した。

また、遺伝子変異が原因と考えられている家族性の疾患を対象として、ゲノム編集技術を用いた疾患モデル iPS 細胞を作製した。さらに、遺伝子解析による品質管理として CGH アレイ解析やゲノム配列解析を行い、iPS 細胞樹立に伴う染色体の一部欠失や非同義置換が起こっている部位を明らかにし、ゲノム解析による iPS 細胞品質管理の重要性を示した。

【目的細胞の可視化】

Hb9 レポーターを用いた運動ニューロンの可視化は成功しているが、さらなる特異性の向上などを目的として発現制御領域を改変したアデノウイルスベクターを作製した。アデノウイルス使用に際しては、作製からウイルスタイトルの確認や感染条件等の検討を東大分担機関で行なう体制にし、これまで使用者が行っていた条件設定等にかかる時間と労力を削減した。

ドーパミンニューロンの可視化に関しては、ヒト TH プロモーター領域を搭載したレポーターベクターを作製しレポーター遺伝子の発現確認ができたので、細胞特異性に関して検討を進めている。

【難治性疾患研究班との共同研究】

難治性疾患研究班から研究員の受け入れを行ない、iPS 細胞樹立から維持培養などに関連する技術や神経系細胞への分化誘導法等の技術移転を推進している。すでに iPS 細胞を提供している 3 グループに加えて、平成 27 年度は、2 つの難治性疾患研究班に iPS 細胞の提供と技術移転を実施した。さらに、一部の難治性疾患研究班には、ゲノム編集技術を用いて作製したゲノム編集 iPS 細胞も提供した。

技術移転先の難治性疾患研究班でも iPS 細胞を用いた疾患研究が実施可能となり、かつ、病態に関連した表現型の検出にも成功しているため、疾患研究や創薬研究がさらに加速されるものと考えられる。

【樹立した iPS 細胞株の理研 BRC への寄託】

寄託決定済みの 6 疾患 11 症例の iPS 細胞株の寄託を完了した。さらに、5 疾患 10 症例について品質管理を完了し寄託候補株を決定し、順次、理研 BRC への寄託を行なうので、より多くの疾患研究者が iPS 細胞を活用できるようになる。

【創薬スクリーニング】

進行性の難聴を示す Pendred 症候群につき、同疾患の内耳細胞の変性をブロックする既存薬を同定した。これら薬剤を用いた医師主導治験を計画中である。

また、家族性筋萎縮性側索硬化症をモデルケースとして、神経突起長や細胞死を 96-well プレートでイメージアナライザーを使用した解析を行った。その結果、健常者由来神経細胞の神経突起長と比較して、家族性筋萎縮性側索硬化症の iPS 細胞由来神経細胞の神経突起長は、培養 20 日目頃を境に短縮していくことを見出した。この突起長の差などを指標として化合物スクリーニングを実施し、創薬の候補になると考えられる化合物を見出した。このうち、神経疾患にすでに適応のある薬剤を用いて医師主導治験を計画中である。さらに、参画企業への疾患特異的 iPS 細胞の提供も行ない、企業による化合物スクリーニングやヒット化合物の同定を目指した創薬研究も開始した。