

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：iPS細胞を用いた遺伝性心筋疾患の病態解明および治療法開発
2. 研究開発代表者：森田啓行（東京大学大学院医学系研究科）
3. 研究開発の成果

心疾患は日本における死因の第2位を占めている。医学の発達により様々な心疾患の病態が解明され治療法が開発されたが、遺伝性心筋疾患(心筋症、遺伝性不整脈)の病態解明および病態に基づいた治療法の開発は進んでいない。遺伝性心筋疾患の病態解明および治療法開発を妨げる最大の要因は、解析に必要な量・質の心筋細胞を遺伝性心筋疾患患者から得ることができない点であり、iPS細胞由来心筋細胞を用いて患者と同一ゲノムを有する心筋細胞を解析することで遺伝性心筋疾患の病態が明らかになると考えられる。

本研究では心筋症患者からiPS細胞を樹立し、国立成育医療研究センターと協力して品質検定を行った後に高品質のiPS細胞を理研BRCに寄託し、さらにiPS細胞から分化誘導した心筋細胞の形態や遺伝子発現、生理的機能の解析を通じて心筋症患者iPS細胞由来心筋細胞特異的に出現する疾患表現型およびその出現メカニズムを明らかにする。また、拡張型心筋症および肥大型心筋症患者から樹立したiPS細胞を分化誘導した心筋細胞に認められる疾患表現型を指標としたスクリーニング系を構築し、製薬企業と共同で新規治療薬開発を目指す。

平成27年度には新たに肥大型心筋症患者3名、拡張型心筋症患者7名、拘束型心筋症患者1名、不整脈源性右室心筋症患者1名、家族性心房細動・洞不全症候群患者2名、Noonan症候群患者1名、Danon病患者2名の合計17名に対してインフォームドコンセントを行い、同意を得た後に末梢血を採取、初期化因子を導入することでiPS細胞を樹立した。樹立したiPS細胞は簡易な品質検定(形態、免疫染色、RT-PCR)を行った後に独立行政法人国立成育医療研究センターに送付し、品質検定を依頼した。平成26年度までに樹立したiPS細胞8名15クローンについて独立行政法人国立成育医療研究センターから寄託登録用の疾患特異的iPS細胞データシートとともに品質検定結果の報告を受け、iPS細胞を理研BRCに寄託した。

疾患表現型解析を目的とした研究では、健常者iPS細胞4クローン、肥大型心筋症患者iPS細胞10クローン、拡張型心筋症患者iPS細胞10クローンから、東京大学で開発した分化用培地を利用したプロトコルで心筋細胞への分化誘導・精製を行い、Troponin T、MLC2v、MLC2a、skTnI、cTnIなどの心筋細胞で発現するサルコメアタンパクに対する抗体で免疫染色後、ハイコンテックス解析を通じて疾患に伴う特徴的な形態を明らかにした。また、MYL2、MYL7、Tnni1、Tnni3などの遺伝子発現をリアルタイムPCRで解析し、疾患によって発現が増減することを見出した。さらに、膜電位感受性色素やカルシウム感受性色素で心筋細胞を染色し、活動電位様波形やカルシウムトランジェント波形の解析を通じて分化誘導・精製した心筋細胞が正常な電気活動を示すことを確認するとともに、肥大型心筋症および拡張型心筋症患者iPS細胞由来心筋細胞に共通して出現する異常を同定した。疾患表現型が出現するメカニズムを解明するため、市販されている作用機序が明らかな化合物で構成された化合物のライブラリーのスクリーニングを行い、複数のヒット化合物を得た。

製薬企業との共同研究では、技術開発個別課題「再生医療用製品の大量生産に向けたヒトiPS細胞用培養装置開発」で開発された大型スピナーフラスコを利用して心筋細胞を大量生産し、平成26年度までに構築した肥大型心筋症治療薬スクリーニング系を利用して市販されているライブラリー化合物(約1,000化合物および製薬企業が有する5,120化合物)のスクリーニングを完了した。