

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：難治性血液・免疫疾患由来の疾患特異的 iPS 細胞の樹立と新規治療法開発
2. 研究開発代表者：中畑龍俊（京都大学 iPS 細胞研究所）
3. 研究開発の成果

本事業は、代表機関である京都大学と分担機関である東京大学の共同事業として遂行している。平成27年度は、前年度までの成果を受けて対象疾患及び研究班の整理・病態解析及び創薬に向けた研究計画の調整、および倫理申請を継続しつつ、疾患iPS細胞の樹立・病態解析及び創薬に向けた研究を進めた。以下に、京大拠点のH27年度の成果を記載する。

### 研究開発項目 1：研究計画書作成・承認及びiPS細胞樹立

本年度はX連鎖無ガンマグロブリン血症（原班）、再生不良性貧血（黒川班）、骨髓線維症（黒川班）の3疾患について、研究計画の申請・承認を行った上でiPS細胞を新規樹立した。これらを含め、H27年度に新たに樹立されたiPS細胞は下記のとおりである（計7疾患9症例）。

X連鎖無ガンマグロブリン血症1例、重症先天性好中球減少症1例、高IgD症候群3例、CINCA症候群1例、再生不良性貧血1例、骨髓異形性症候群1例、骨髓線維症1例

### 研究開発項目 2：iPS細胞維持培養・iPS細胞評価・バンク寄託

本事業では多数のiPS細胞を扱う必要があることに鑑み、今年度は維持培養についてほぼ全てをラミニン511-E8フラグメント上でのフィーダーフリー系へ移行した。これにより、従来に比べて大幅に簡便かつ高効率な維持培養が可能になった。評価については、すでに樹立拠点との連携のもと確立済みの手法を用いて性状評価を順次行った。具体的には、形態、未分化マーカー発現（OCT4, NANOG）、エピソーマルプラスミド残存、TCR/IgH再構成をチェックした。樹立した各クローンについて、血球分化能を確認、クローン選択後に疾患特異的表現型の検討を行った。これらが確認されたクローンについて、2疾患3症例（重症先天性好中球減少症2例、CINCA症候群1例）分を理研バイオリソースセンターへ寄託した。

### 研究開発項目 3：分化・血球機能評価系供与

#### ①フィーダーフリー血球分化系

前項の維持培養系と同様、造血細胞への分化についても本年度はフィーダーフリー培養系を積極的に採用した。特に、前項に記載の維持培養（マトリゲルまたはラミニン511-E8系）から培地交換だけでそのまま造血細胞分化系へ移行できるような分化系の最適化を行った。受け入れ研究員が所属先研究室に戻った後も引き続き助言及びマテリアル供与を行い、当該研究室で円滑に研究が継続されるよう支援した。

#### ②OP9血球分化系

代表機関においてはリクエストがなかったため、今年度は技術供与を行わなかった。

#### ③血球機能評価

免疫担当細胞の貪食能・殺菌能・遊走能、赤血球機能、表面マーカー解析、T細胞刺激能、ミトコンドリア機能。転写プロファイル解析について実験条件の整備を行った。創薬に関しては、前年度に熊本大学との合意のもと導入した単球細胞株樹立法を用いて大量の単球・マクロファージを誘導する系を用い、CINCA症候群、チェディアック東症候群、中條西村症候群、若年性サルコイドーシスの疾患解析に応用した。

### 研究開発項目 4：疾患ごとの解析

前年度から開始しているCINCA症候群のスクリーニングについては、東京大学創薬オープンイノベーションセンターの化合物ライブラリを含め、平成27年度末までに149,307化合物のスクリーニングを終了した。現在、既に参画企業において*in silico*でのクラスタリング、リード化合物抽出を開始している。また、骨髓異形性症候群についても、同じくスクリーニングを開始した。その他、中條西村症候群についてもスクリーニング系の構築が完了した。