

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：小児難病患者及び成育疾患患者由来 iPS 細胞の樹立と薬剤スクリーニング系の確立
2. 研究開発代表者：梅澤明弘（国立研究開発法人国立成育医療研究センター 再生医療センター長）
3. 研究開発の成果

本事業の目的は、**A. 難病等の患者由来の iPS 細胞等**を利用し、当該疾患に対する創薬シーズを探索する体制の構築、**B. iPS 細胞を肝細胞等に分化させ、その細胞を利用した薬剤候補物質の安全性を評価する体制の整備**である。国立研究開発法人国立成育医療研究センターの特色を生かし、稀少疾患である「遺伝子修復に係る遺伝子に変異を伴う疾患」についての iPS 細胞を樹立し、創薬シーズを探索する。特に、治療法のない小児難病疾患および成育疾患に対する治療法の開発に向けた iPS 細胞の有用性を提示していく。

●DNA シーケンスから今後の疾患の病態解明に資するかについて

DNA 修復は生体維持にとってきわめて重要なプロセスで、相同組換え等による二本鎖修復、および塩基除去修復等による一本鎖修復の2つに分けることができる。それぞれの分子機構の異常に関わる疾患として、毛細血管拡張性運動失調症(AT)や色素性乾皮症(XP)といった悪性腫瘍を発生させる遺伝性疾患が知られており、本研究ではこれらの患者の線維芽細胞から iPS 細胞を樹立し、発症機序の解明や治療法の開発、創薬に向けて研究を進めている。もとの線維芽細胞株および樹立された細胞株に対し、次世代シーケンサを用いたエクソーム解析と SNP アレイを用いた構造変異解析を行い、細胞のリプログラミング前後において獲得されたと考える変異を調べた結果、AT と XP 両疾患の間に対照的な違いが得られた。全コーディングおよび周辺配列に見つかった一塩基置換の変異数の平均は AT が 41 であったのに対し、XP では約 5 倍の 202。通常のエクソーム解析で検出される全バリエーションのうち約 1 割は短い挿入欠失であるが、AT および XP ではそれぞれ全体の 30.1% および 9.8% が挿入欠失変異であり、また AT では平均 3 箇所の大規模な構造変異が観察された一方、XPA では全株で構造変異は一つも見られなかった。これらの結果はそれぞれの原因遺伝子とされる ATM および XPA の分子機序を如実に反映した結果であると考えられる。本研究により DNA 修復機構に関し、対照的な iPS 細胞株を樹立することができ、さらにその特性を活かして継代を重ねた細胞に対しても同様なデータを取得することで、変異パターンに関する知見も蓄積している。

●薬剤のスクリーニングについて

厚生労働科学研究委託業務 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患等実用化研究事業）「毛細血管拡張性小脳失調症および DNA 損傷修復異常を基盤とするその類縁疾患の病態解明・診断法の確立及び治療法の開発に関する研究」（H26-委託（難）一般-074）研究代表者 高木正稔と連携し、スクリーニング体制を構築した。

●患者由来 iPS 細胞が疾患の病態を反映するかについて

毛細血管拡張症は、神経症状、毛細血管拡張、免疫不全(IgG2・IgA 低下、リンパ球減少・機能低下)、悪性腫瘍の高頻度合併(15-30%)、成長障害、性腺機能障害、耐糖能異常、電離放射線高感受性、血清 α フェトプロテイン(AFP)の上昇、リンパ球、線維芽細胞の染色体異常を示す。そのうち、患者由来 iPS 細胞は、電離放射線高感受性を示した。また、神経分化に伴い、アポトーシスを生じ、神経症状との連関が見られた。さらに、染色体異常を構造レベルで示し(structural alteration)、疾患を反映する所見といえる。これらについては、**Fukawatase Y, et al., Ataxia telangiectasia derived iPS cells show preserved x-ray sensitivity and decreased chromosomal instability. Scientific Reports, 4:5421, 2014** として報告した。