

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：外来因子フリー難病由来 iPS 細胞のライブラリー構築とそれを使った疾患モデルと薬剤開発

2. 研究開発代表者：氏名 江良 択実（国立大学法人 熊本大学発生医学研究所幹細胞誘導分野）

3. 研究開発の成果

1) 外来因子フリー難病由来 iPS 細胞の樹立と薬剤開発を可能とする疾患モデル開発

疾患由来 iPS 細胞を作製する線維芽細胞と血液細胞については、平成 27 年度は、線維芽細胞と血液細胞、合計 47 症例、24 疾患、樹立・収集した。また iPS 細胞作製については、計 37 症例、24 疾患から 370 株あまりの細胞株を樹立した。

中胚葉系細胞、内胚葉系細胞を効率よく誘導させて分化能力の高い前駆細胞を得る技術を確立した。血管内皮細胞については、チューブフォーメーションアッセイ等の方法の条件適正化が終了した。誘導した神経系細胞について、シナプス機能や発現遺伝子を解析する方法を確立した。

ライソゾーム病であるニーマンピック病 C 型 (NPC) 由来 iPS 細胞使い、2-Hydroxypropyl- $\gamma$ -Cyclodextrin (HPGCD) 処理によってコレステロール蓄積が改善することを確認した。

2) 膵臓への分化誘導、疾患モデル開発

内胚葉分化促進作用のある未分化状態でのメチオニン除去培地での前処理を膵臓分化に応用するとともに、低分子化合物スクリーニングから膵臓分化促進作用のある化合物を見出した

3) 遺伝性腎疾患由来 iPS 細胞の樹立と解析

ポドサイトをヒト iPS 細胞から誘導する条件を確立した。腎疾患患者の血液から、iPS 細胞を誘導することにも成功した。

4) 疾患由来 iPS 細胞のエピゲノム解析

コンピューターを用いた細胞内構造体の形態学的な定量・分類法を確立したので、iPS 細胞などの質的な評価に応用した。とくに、核小体の形態特性について解析した。また疾患由来 iPS 細胞を準備して、疾患標的細胞の誘導法およびエピゲノム解析について検討した。

5) 細胞複合糖質の網羅的解析

リソゾーム病の疾患特異的な糖鎖や治療効果の判定に利用できる可能性のある複数の糖鎖を同定することができた。

6) リソゾーム病由来 iPS 細胞を使った薬剤開発

ライソゾーム病の細胞に対してシクロデキストリン (CyD) 誘導体は、エンドライソゾームに蓄積した脂質を低下させることが示唆された。

7) 外来因子フリー難病由来細胞の作成研究

センダイウイルス新型ベクターを使って眼科領域の疾患患者 6 名の末梢 T 細胞から iPS 細胞を樹立した。

8) 難病患者サンプルの情報管理

難病由来 iPS 細胞の樹立に用いる末梢血単核球採取を 3 疾患（6 症例）実施した。有機酸血症患者から採取した単核球から iPS 細胞を樹立し、これらを用いた標的臓器である神経細胞、肝細胞への分化誘導法を確立した。更に、確立した分化誘導法を用いて薬物スクリーニング系を確立した。

9) 血液疾患由来難病患者サンプルの収集と iPS 細胞を使った疾患解析、薬剤開発

遺伝性血液疾患の患者から iPS 細胞を樹立するため、海外との連携を図った。赤血球分化誘導系構築のため、正常 iPS 細胞の分化誘導を行い、最適な培養条件を検討した。

4. その他