

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：iPS細胞を活用した血液・免疫系難病に対する革新的治療法の開発
2. 研究開発代表者：谷 憲三朗（東京大学 医科学研究所 ALA 先端医療学社会連携研究部門）
3. 研究開発の成果

難病克服に向けた革新的医療技術として難病特異的人工多能性幹（iPS）細胞を用いることで、アンメット・メディカル・ニーズである希少疾患並びに難病病態の細胞レベルでの再現が可能となり、候補薬剤を効率良く選定できる可能性が高いものと期待できる。本研究は血液及び免疫系難病を対象とし、疾患特異的 iPS 細胞より分化誘導した造血・免疫細胞を対象に、薬剤候補物質を大規模スクリーニングし、候補物質を厳選し、それらの薬剤についての臨床研究を計画・実施するものである。

① 疾患特異的 iPS 細胞の樹立と保管

平成 27 年度は先天性赤血球異形成貧血（CDA）IV 型患者より検体を採取し（菅野）、CDA 特異的 iPS 細胞の樹立と品質評価を実施した（山田、谷）。発作性夜間血色素尿症（PNH）についても患者検体を採取し（花岡）、iPS 細胞の樹立に取り組んでいる（山田、谷）。

② 病態解析（遺伝子変異の機能的影響の検討、細胞分化障害機構の解析、細胞死誘導機構の解析、X 連鎖劣性遺伝性疾患女性例の X 染色体不活化の評価）と薬剤スクリーニング

ピルビン酸キナーゼ異常症（PKD）は解糖系酵素異常に起因する先天性溶血性貧血の中では最も頻度の高い疾患であり、我が国でも比較的多く見られる。平成 27 年度は、前年度に樹立した PKD-iPS 細胞において責任遺伝子異常をゲノムシーケンス解析法により確認した。続いて、PKD-iPS 細胞由来赤血球系列細胞の遺伝子発現解析を実施し、PKD の責任遺伝子 *PKLR* を発現する分化段階まで iPS 細胞を分化誘導可能であることを確認した（谷、菅野、杉山）。一般に完全に成熟した赤血球を iPS 細胞から *in vitro* で分化誘導することは容易ではないとされているため、この知見は引き続き病態解析及び薬剤スクリーニングを実施する上で重要な到達点であると考えられる。

CDA IV 型は世界的に希少ではあるが、責任遺伝子 *KLF1* は海外の一部地域で多く見られ日本においても頻度 1/1,000 人程度と報告されている。 β サラセミア等においてもその変異が報告されている遺伝子であり、赤血球系疾患の研究対象として重要であると考えられる。当該年度に樹立した CDA-iPS 細胞について責任遺伝子異常を確認するとともに、分化細胞のフローサイトメトリー解析を実施したところ赤血球系列細胞分画が正常対照群と比較して著減していた（谷、菅野、杉山）。この結果は CDA 患者における無効造血を再現しているものと考えられ、更なる解析を実施している。さらに、遺伝子 X の発現を亢進させる生理活性物質が病態を改善させるとの仮説に基づき、レポーター系を構築して化合物ライブラリーのスクリーニングを実施し、赤血球分化モデルとして利用される白血病細胞株 K562 において X 発現を亢進させる化合物 12 種を得た（谷）。

X 連鎖無ガンマグロブリン血症（XLA）、Wiskott-Aldrich 症候群（WAS）女性例は世界で数例と希少ではあるが、X 染色体の活性化異常が原因で発症すると考えられている様々な疾患（ファブリー病、友病女性例等）の治療に繋がる可能性が高いものと考え、X 染色体活性化異常の分子機構及びその解除法についての研究を推進している。平成 27 年度は前年度に引き続き患者末梢血のエキソーム解析を実施し、変異がみられた遺伝子は XLA で 135 個、WAS では 137 個が確認された（高田）。X 染色体活性化異常を解除する化合物のスクリーニングに向けて X 染色体活性化状態を可視化できるレポーター細胞を樹立するとともに（谷、高田）、X 染色体の活性化状態を評価する方法（HUMARA 法によるフラグメント解析）をハイスループットで安定に実施可能な実験系を確立した（谷）。これらの 2 種の評価法を活用し、スクリーニング過程において陽性コントロール培養条件を探索中である。