

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：iPS細胞を用いた家族性筋萎縮性側索硬化症（ALS）の病態解明・新規治療法開発
2. 研究開発代表者：国立大学法人東北大学大学院医学系研究科 青木 正志
3. 研究開発の成果

これまで、家族性ALS家系の集積により13家系のFused in Sarcoma (FUS)遺伝子変異を同定した。臨床型に関しては2015年度にMuscle Nerve誌に報告した。1家系2例のFUS関連ALS (FUS-ALS)罹患者より本学倫理委員会で承認された手順に則り同意を得て、皮膚生検を行った。これより初代培養線維芽細胞を樹立し、連携研究者の施設にてiPS細胞樹立に成功した。樹立したFUS-ALS疾患特異的iPS細胞株の品質管理を行うため、外来遺伝子ゲノム挿入部位の確認、未分化マーカーの発現、多分化能の確認を実施、良質なクローンを選択した。また、由来した罹患者と同一のFUS遺伝子変異確認も行った。岡野拠点と協力して樹立したFUS変異ALS患者由来iPS細胞のアイソジェニックラインも活用し、運動ニューロンまたアストログリアへと分化させ、細胞種毎の病態関与因子をRNA-Seqで網羅的に解析し、Stem Cell Reports誌に報告した。

2015年度にALSの原因遺伝子として報告され、また封入体を伴うミオパチーの原因遺伝子でもあるhNRNPA1に関する遺伝子解析結果に関しNeurology Genetics誌に報告した。この家系の罹患者から協力を得て、hNRNPA1変異を持つiPS細胞を樹立した。本患者の変異は家系によってはALSの表現型を出すことも知られており、細胞種特異的な解析を行なうのに適した対象である。運動ニューロンへ適切に分化させることもできた。

家族性2型ALS (ALS2)は、常染色体劣性遺伝形式を示す若年発症型の運動ニューロン疾患であり、2001年にその原因遺伝子が同定されている(Hadanoら, Nat Genet)。研究開発分担者らは、これまでの研究により、ALS2遺伝子がコードするALS2タンパク質が、低分子量Gタンパク質Rab5の活性化因子であり、また細胞内においてはエンドソーム及びオートファゴソームの動態調節を担っていることを明らかにしてきた。慶應義塾大学拠点において、本邦のALS2患者2名及び非患者(2名)のT細胞及び線維芽細胞からiPS細胞を樹立している。現在、それらの細胞株から運動ニューロンを分化誘導する方法を確立し、その細胞表現型の解析を継続している。RNA-seqデータを得て、解析中である。

上記の解析法としてマイクロ流体デバイスに注目し、神経細胞の極性を制御し、かつ樹状突起や軸索を取り囲む特異的な微細環境を再現することができる新たなiPS細胞由来の運動ニューロン培養法の確立を試みている。蛍光マーカーにより軸索流を可視化することに成功している。今後はiPS細胞由来運動ニューロンでの評価を行なっていく。