

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：自己炎症性疾患の治療標的分子同定および薬剤開発基盤整備
2. 研究開発代表者：平家俊男（京都大学大学院医学研究科発達小児科学講座小児科学専攻）
3. 研究開発の成果

本研究班の目標は、創薬に向けた自己炎症性疾患の病態解明と治療標的分子の同定である。具体的には、Cryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS)・Mevalonate kinase deficiency (MKD)・Blau 症候群 (Blau)・中條-西村症候群 (NNS)・家族性地中海熱 (FMF)・PAPA 症候群 (PAPA)・エカルディ-グティエール症候群 (AGS) の 7 疾患を対象とし、1) 患者検体・モデル動物・患者由来細胞株 (iPS 細胞含む) を用いた病態解析、2) 治療標的となる分子の同定、3) 候補薬剤のスクリーニング系の開発、を行っている。同時に、患者情報と患者検体の効率的な収集と将来的な活用を目指し、自己炎症性疾患データベースとバイオバンクの整備も行っている。

CAPS の研究では、軟骨過形成の病態解明と治療標的分子の同定を目指し、NLRP3 変異陽性及び陰性の疾患特異的 iPS 細胞クローンから軟骨前駆細胞や軟骨細胞への分化を行い、変異 NLRP3 依存性に軟骨形成を抑制する化合物をスクリーニングする系を構築し、パイロットスクリーニングにより 6 種の候補薬を同定した。又、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術を用いて、試験管内での無細胞系における NLRP3 インフラマソーム再構成システムの構築にほぼ成功した。加えて、血管病変の病態解明を目指し、患者由来 iPS 細胞から血管内皮細胞や平滑筋細胞への分化誘導を行い、解析に着手している。

MKD の炎症病態解析では、マクロファージの関与は少なく、単球が大きな役割をはたしている事を示唆する所見を得た。モデルマウスの作成に成功したため、今後詳細な検討を行う予定である。

Blau の解析では、患者由来 iPS 細胞とその変異を修復したクローン、及び NOD2 遺伝子欠損細胞を樹立し、これらの細胞から単球系細胞へと分化誘導することに成功した。更に、NOD2 遺伝子の発現が CD14 陽性細胞となることで誘導され、マクロファージへと分化誘導することで増強することを確認した。コムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術を用いて試験管内無細胞系におけるノッドソーム再構成システムの構築も進めている。

NNS の病態解明では、患者由来 iPS 細胞から分化させた単球と患者末梢血由来単球を用いて各種刺激を加える方法で病態の再現に成功した。又、PSMB8 遺伝子ノックアウトマウス及び変異 PSMB8 遺伝子ノックインマウスに於いて NNS のモデルとなりうる病態を見出し、それらのメカニズムを解明中である。更に、新規遺伝子の変異による NNS 類似症例を見出し、同じ遺伝子の変異を導入したノックインマウスを作成した。

FMF の病態解析ならびにバイオマーカー探索では、非発作時、発作時、コルヒチン導入後の血清サンプルを対象に網羅的サイトカイン解析を施行し、複数の標的候補サイトカインを見出した。又、疾患特異的 iPS 細胞より好中球を分化し、FMF 病態に於ける NETs (neutrophil extracellular traps) の検討を開始した。

PAPA の病態解明では PLB985 細胞を基にモデル細胞株を作成し機能解析を試みている。更に、CRISPR/Cas9 により mutant PSTPIP1 knock in PLB985 細胞の作成と遺伝子改変マウスの作成、患者由来疾患特異的 iPS 細胞を樹立中である。

AGS の病態解明では、複数の MDA5 遺伝子変異マウスモデルで病態の再現に成功しており、脳炎の病態解明を行っている。