

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：疾患特異的単球株を用いた横断的な免疫疾患創薬スクリーニング系構築と新規候補化合物探索
2. 研究開発代表者： 齋藤 潤（京都大学 iPS 細胞研究所 准教授）
3. 研究開発の成果

炎症の制御はヒト疾患の制御において重要な課題である。ヒトと他の動物種では炎症制御経路が異なることがあり、ヒト試料による探索は有用であるが、患者由来サンプルを用いた免疫疾患の研究では、得られる細胞数が限られることや、生体内のサイトカイン環境などに影響されることもあり、治療薬候補をスクリーニングする試みはあまり行われていない。ヒト人工多能性幹細胞（iPS 細胞）の樹立が解決策となり得るが、分化細胞の安定供給やコストなどに問題がある。本研究では、（遺伝子改変）疾患 iPS 細胞より分化誘導した単球を株化することにより汎用性の高い化合物スクリーニングプラットフォームを確立し、複数の免疫疾患に対する横断的探索を行って新規創薬シーズを得ることを目標とする申請者らは、多くの疾患 iPS 細胞樹立を行っており、免疫疾患由来 iPS 細胞を用いて化合物スクリーニングが行えることも示している（Tanaka, Blood, 2012）他、効率のよい単球分化系を開発している（Yanagimachi, PlosONE, 2013）。本研究所内に約 50,000 の化合物を所有しており、化合物スクリーニング系も確立している。iPS 細胞樹立については、文部科学省「疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究」拠点と連携する。遺伝子修復による対照クローンを作製して表現型の差分をとる。表現型解析については、サイトカイン産生のほか、シグナル経路のレポーターの組み込みや画像解析を組み合わせる。単球株化は、熊本大学の千住覚先生らが開発した手法を用いる。「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」に基づいて研究を行う。

平成 27 年度は、CINCA 症候群、若年性サルコイドーシス（EOS）、中條西村症候群（NNS）に重点を置いて研究を進めた。CINCA 症候群について、責任遺伝子をノックアウトした iPS 細胞株を作製した。CRISPR/Cas9 システムによる配列特異的 DNA 切断に対して NHEJ による修復を行わせることにより変異を導入し、iPS 細胞株のサブクローニングによりホモノックアウト細胞を得た。疾患 iPS 細胞・遺伝子修復 iPS 細胞・対照多能性幹細胞・変異導入多能性幹細胞等から単球分化を行い、単球株を樹立した。中條西村症候群について、疾患 iPS 細胞・遺伝子修復 iPS 細胞から単球分化を行い、単球株を樹立した。iPS 細胞由来単球株を IFN γ 等で刺激し、免疫プロテアソームを誘導した。その後免疫プロテアソーム活性やサイトカイン産生能を評価した。若年性サルコイドーシスについて、疾患 iPS 細胞・遺伝子修復 iPS 細胞から単球分化を行い、単球株を樹立した。