

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明
2. 研究開発課題名：コレステロールが制御する繊毛機能とその破綻
3. 研究開発代表者：宮本 達雄（広島大学 原爆放射線医科学研究所）
4. 研究開発の成果

本研究開発では、コレステロールによる繊毛を介した細胞外シグナル受容機構とその破綻による繊毛病発症機構の解明を行い、「繊毛病」や「がん」を標的とした医薬品開発の基盤整備を研究目標としている。コレステロールが繊毛を介して細胞外シグナル受容を担うためには、(1) 小胞体でのコレステロールの生合成、(2) 小胞体から繊毛膜への輸送、(3) 繊毛でのシグナル受容体との相互作用の 3 つのステップが必要である。平成 27 年度の研究開発では、ゲノム編集技術を用いて各ステップの疾患モデル細胞を樹立して、繊毛病発症の分子機序を明らかにする研究資材の整備を行った（下図）。

繊毛研究のモデル細胞であるヒト網膜色素上皮由来 hTERT-RPE1 細胞株は相同組換え修復活性が低いために、従来法のゲノム編集技術による遺伝子破壊は困難である。そこで本年度の研究開発では、細胞種を超えて高い活性を示す非相同末端結合（NHEJ）経路を介した遺伝子ターゲティング法（CRISPR-OBRIGARE<Obligat e Ligation-Gated Recombination>法）のワークフローを整備して、繊毛細胞における迅速な遺伝子ターゲティングを可能にした。本方法の有効性を示すように、当初到達目標の 3 疾患 4 系統のライブラリーよりも多い 7 疾患 15 系統の繊毛病モデル細胞ライブラリーを作製した。

また、次年度以降実施予定の疾患モデル細胞の表現型解析のポイントを明確にするために、Smith-Lemli-Opitz 症候群患者細胞の繊毛構造の走査型電子顕微鏡観察を行った。その結果、Smith-Lemli-Opitz 症候群患者細胞の繊毛形態は健常者細胞の繊毛形態と変化がなかった。これらのことから、コレステロールは繊毛形成に必須ではなく、繊毛の「センサー機能」に必要であることが示唆された。

