

6. 家族性自律神経失調症 familial dysautonomia

家族性自律神経失調症は *I- κ -B kinase complex-associated protein (IKBKAP)* 遺伝子の変異によって末梢神経障害を生じる稀な疾患である。Leeらは、10歳の家族性自律神経失調症患者由来のiPS細胞を作製した。このiPS細胞から分化させた神経細胞においてスプライシングの異常を認めた。また、自律神経細胞の数の低下や遊走能の低下が認められた。一方、これらの所見は植物ホルモン的一种であるkinetin投与により改善した¹⁷⁾。

7. 精神疾患

Chiangらは、統合失調症やうつ病などの精神疾患発症の危険因子と考えられている *Disrupted-in-Schizophrenia 1 (DIS1)* 遺伝子の変異を有する統合失調症患者からiPS細胞を樹立した¹⁸⁾。Brennanらは、4人の統合失調症患者由来のiPS細胞を樹立し、神経細胞に分化させた。統合失調症の患者由来iPS細胞から分化誘導した神経細胞は、コントロールに比較して、神経突起数の減少、シナプス蛋白の減少を呈し、synaptic connectivityの低下を示した。これらの所見は、抗精神病薬のひとつであるloxapineによって改善がみられた¹⁹⁾。

メチル化制御に関連する遺伝子 *MeCP2* の変異で生じるレット症候群患者のiPS細胞由来神経細胞は、神経細胞体の小型化がみられた^{20,21)}。

B. iPS細胞を用いた神経・精神疾患モデル研究の課題と今後の展望

iPS細胞を用いた疾患モデリングにおいて、いくつかの克服すべき点がある。iPS細胞では同じ患者体細胞由来であっても分化誘導効率がクローンによって異なる場合がある。ES細胞でも同様

のクローンによる分化能の違いが報告されている²²⁾。疾患解析で生じた差がクローン間の差であるのか、個体間あるいは疾患による差であるのか、慎重に解析する必要がある。よって、iPS細胞を用いた疾患モデル研究では、クローン間のばらつきを超えた病態再現が必要となる。また全ゲノム関連解析 genome wide association studies (GWAS) などにより、疾患関連single nucleotide polymorphisms (SNPs) を全く有さない人がいることは考えにくく、疾患に応じてコントロールの設定を選択する必要がある²⁾。

多くの神経・精神疾患、特に神経変性疾患は比較的高齢になってから発症すること、孤発性疾患の場合には遺伝的背景以外の環境要因が発症に関連していることから、神経変性疾患の病態再現を行うには、加齢変化を短縮させ、環境要因と関連する因子の導入を行う必要があるかもしれない。

むすび

近年、遺伝子変異を有する神経・精神疾患の病態解明の急速な進歩により、神経・精神疾患の知見が深まってきている。iPS細胞を用いた研究の重要な特徴は、原因遺伝子が同定されている疾患だけでなく、原因遺伝子が不明な遺伝性疾患や孤発性疾患における病態解明や創薬への応用が期待できる点である。神経・精神疾患患者の多くは孤発性であり、iPS細胞を用いた神経・精神疾患病態解明への研究の発展と一日も早い治療開発への応用が望まれる。

文献

- 1) Shefner JM, Cudkovic ME, Schoenfeld D, et al. NEALS Consortium. A clinical trial of creatine in ALS. *Neurology*. 2004; 63: 1656-61.
- 2) Inoue H, Yamanaka S. The use of induced pluripotent stem cells in drug development. *Clin Pharmacol Ther*. 2011; 89: 655-61.
- 3) Takahashi K, Yamanaka S. Induction of

- pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006; 126: 663-76.
- 4) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007; 131: 861-72.
 - 5) Okita K, Matsumura Y, Sato Y, et al. A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. *Nat Methods*. 2011; 8: 409-12.
 - 6) Maekawa M, Yamaguchi K, Nakamura T, et al. Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1. *Nature*. 2011; 474: 225-9.
 - 7) Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science*. 2008; 321: 1218-21.
 - 8) Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell*. 2009; 136: 964-77.
 - 9) Cookson MR. The role of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci*. 2010; 11: 791-7.
 - 10) Nguyen HN, Byers B, Cord B, et al. LRRK2 mutant iPSC-derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress. *Cell Stem Cell*. 2011; 8: 267-80.
 - 11) Seibler P, Graziotto J, Jeong H, et al. Mitochondrial Parkin recruitment is impaired in neurons derived from mutant PINK1 induced pluripotent stem cells. *J Neurosci*. 2011; 31: 5970-6.
 - 12) Boulting GL, Kiskinis E, Croft GF, et al. A functionally characterized test set of human induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2011; 29: 279-86
 - 13) Ebert AD, Yu J, Rose FF Jr, et al. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature*. 2009; 457: 277-80.
 - 14) Park IH, Arora N, Huo H, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell*. 2008; 134: 877-86.
 - 15) Ku S, Soragni E, Campau E, et al. Friedreich's ataxia induced pluripotent stem cells model intergenerational GAA · TTC triplet repeat instability. *Cell Stem Cell*. 2010; 7: 631-7.
 - 16) Liu J, Verma PJ, Evans-Galea MV, et al. Generation of induced pluripotent stem cell lines from friedreich ataxia patients. *Stem Cell Rev*. 2011; 7: 703-13.
 - 17) Lee G, Papapetrou EP, Kim H, et al. Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature*. 2009; 461: 402-6.
 - 18) Chiang CH, Su Y, Wen Z, et al. Integration-free induced pluripotent stem cells derived from schizophrenia patients with a DISC1 mutation. *Mol Psychiatry*. 2011; 16: 358-60.
 - 19) Brennand KJ, Simone A, Jou J, et al. Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2011; 473: 221-5.
 - 20) Marchetto MC, Carromeu C, Acab A, et al. A model for neural development and treatment of Rett syndrome using human induced pluripotent stem cells. *Cell*. 2010; 143: 527-39.
 - 21) Cheung AY, Horvath LM, Grafodatskaya D, et al. Isolation of MECP2-null Rett syndrome patient hiPS cells and isogenic controls through X-chromosome inactivation. *Hum Mol Genet*. 2011; 20: 2103-15.
 - 22) Osafune K, Caron L, Borowiak M, et al. Marked differences in differentiation propensity among human embryonic stem cell lines. *Nat Biotechnol*. 2008; 26: 313-5.

Annual Review ^{しんけい} 神経 2012 ©

発行 2012年 1月25日 初版 1刷

編集者 鈴木 則宏
祖父江 元
荒木 信夫
宇川 義一
川原 信隆

発行者 株式会社 中外医学社

代表取締役 青木 滋

〒162-0805 東京都新宿区矢来町 62

電話 03-3268-2701 (代)

振替口座 00190-1-98814 番

印刷 / 東京リスマチック (株) < TO・HU >

製本 / 田中製本 (株) Printed in Japan

ISBN978-4-498-12896-5

JCOPY < (社) 出版者著作権管理機構 委託出版物 >

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。
複写される場合は、そのつど事前に、(社)出版者著作権管理機構
(電話 03-3513-6969, FAX 03-3513-6979, e-mail: info@jcopy.
or.jp) の許諾を得てください。

RNA 結合タンパク質の機能と神経変性疾患
— iPS 細胞を用いた疾患病態の再現と
RNA プロセッシング治療の可能性—

江川 齊宏, 井上 治久

RNA 結合タンパク質の機能と神経変性疾患 — iPS 細胞を用いた疾患病態の再現と RNA プロセッシング治療の可能性 —

江川 齊宏, 井上 治久

1. はじめに

RNA のプロセッシングの機構が明らかに進むにつれて、それらが神経変性疾患の病態に大きくかかわっていることが明らかになってきた。とくに、RNA 結合タンパクの遺伝子の変異や RNA 結合タンパク質が結合する領域の遺伝子の異常が神経変性疾患において数多く同定されている。また一方で、疾患由来の人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) を用いた研究がすすむにつれて、ヒト神経細胞が活着している状態で疾患病態を再現することが可能になってきた。ここでは、RNA 結合タンパク質の機能とそれらが神経変性疾患にいかにかかわっているかについて概説し、iPS 細胞を用いた神経変性疾患の病態再現の中での RNA プロセッシングをターゲットにした治療の可能性について考察する。

2. RNA プロセッシングとは

核内のゲノム DNA からメッセンジャー RNA (mRNA) が転写されるが、それまでには転写された mRNA 前駆体 (これを pre-mRNA と呼ぶ) は、キャッピング、ポリ A 付加、スプライシングなどの様々な修飾を受けて mRNA (mature mRNA) へと成熟してタンパク翻訳のために細胞質へ運ばれる。この pre-mRNA から mature mRNA の過程を RNA プロセッシングと呼び、この過程には、多くの RNA 結合タンパクや、タンパク情報を含まない小分子 RNA (non-coding RNA) が関与している。

キャッピングとポリ A 付加は mRNA の安定性向上、RNA 修飾の向上の役割をもち、スプライシングはタンパク情報を含まない介在配列 (イントロン領域とよばれる) を除去してタンパク情報を含む配列 (エクソン領域と呼ばれる) をつなぐ役割を担っている。スプライシングには、5 種類 (U1, U2, U4, U5, U6) の核内低分子 RNA (small nuclear RNA ; snRNA) を中心にして、RNA に結合するタンパク質で構成されたスプライソソームによって触媒されて、mRNA が産生される (図 1A)。最近では mRNA のみならず、イントロン中にコードされる核小体低

RNA binding proteins in neurodegenerative disease
— Prospect for a therapy in disease modeling using iPS cells —
Naohiro Egawa, Haruhisa Inoue
京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門 [〒 606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53]
Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto University (53 Kawahara-Cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan)

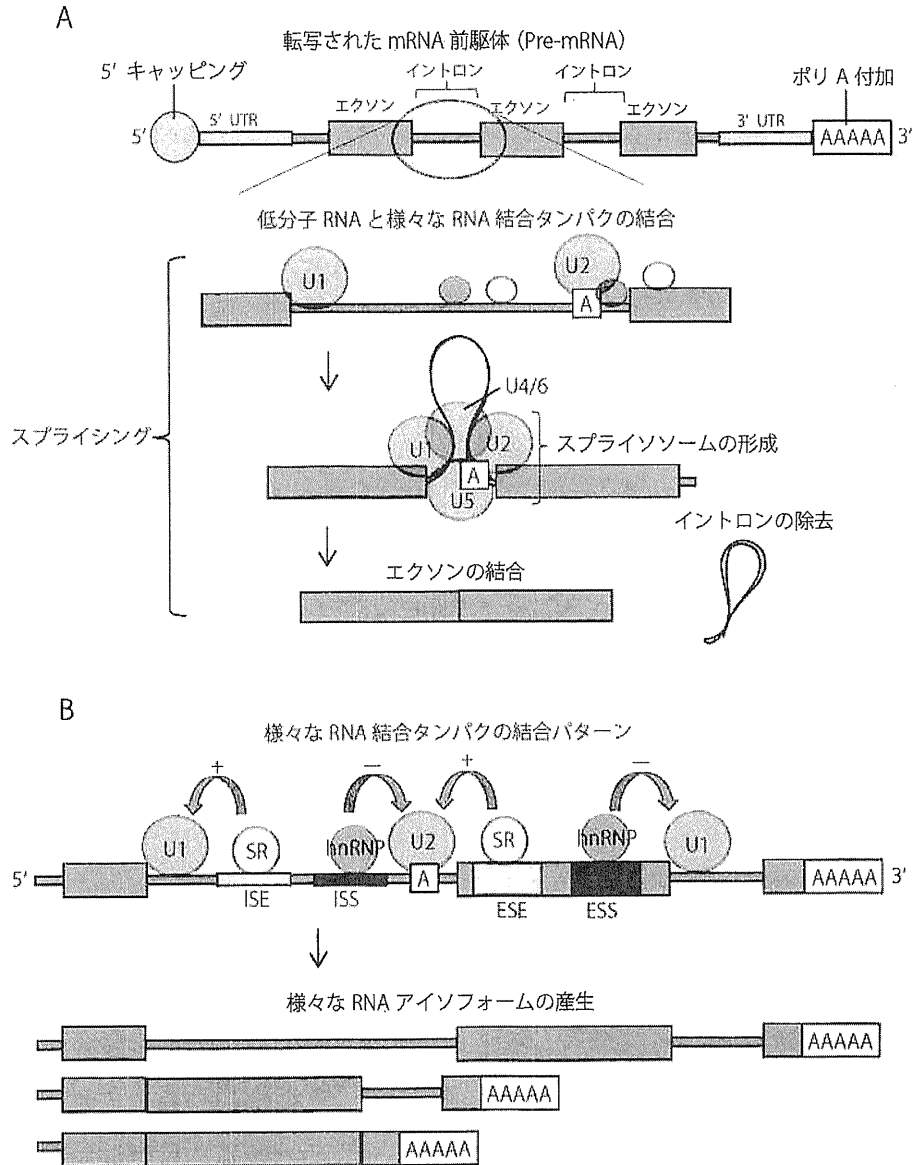


図 1. RNA プロセシングの過程と RNA アイソフォームの誕生

分子 RNA (small nucleolar RNA ; snoRNA) が産生されることが分かってきた。snoRNA は snRNA の成熟に関わっており、スプライシングは、これら snRNA と snoRNA を含む non-coding RNA と RNA 結合タンパク質によって調節されている。スプライシングによって、エクソンの持つ情報が翻訳されないことをエクソンスキッピング (exon skipping)、エクソンが翻訳されることをエクソン包含 (exon inclusion) と呼ぶ。mRNA はプロセシング以外にも RNA 編集とよばれる RNA 修飾をうける。たとえばグルタミン酸受容体 GluR2 の mRNA は ADAR2 (adenosine

deaminase 2) によってエクソン 11 のアデノシンがイノシンへ変換される RNA 編集をうけるが、筋萎縮性硬化症 (ALS) では、GluR2 mRNA エディティングが低下していることが指摘されている (Kwak & Kawahara, 2005)。

3. RNA 結合タンパク質

ヒトは、2 万数千個の遺伝子から数十万種類の多様なポリペプチドを産生するが、この多様性はスプライシングのパターンをかえて pre-mRNA から複

表 1. RNA プロセッシング異常をきたす神経変性疾患

疾患名	原因 (異常) 遺伝子	RNA プロセッシングの異常
FTDP-17	MAPT	スプライシング (エクソン 10 包含)
筋萎縮性側索硬化症	FUS, TDP-43	スプライシング, RNA 編集 (GluR2)
脊髄性筋萎縮症	SMN1	スプライシング (snRNP の減少)
筋強直性ジストロフィー	DMPK, ZNF9	スプライシング (制御蛋白 CUGBP1 の機能亢進)
Duchenne 型筋ジストロフィー	Dystrophin	スプライシング (エクソン 31 スキッピング)
Prader-Willi 症候群	HB-II-52 snoRNA	スプライシング (HTR2C エクソン 5b 包含)
家族性自律神経失調症	IKBKAP	スプライシング (エクソン 20 以降の欠損)
ミトコンドリア脳筋症 (MELAS)	mt tRNA Leu	タウリン修飾欠損
ミトコンドリア脳筋症 (MERRF)	mt tRNA Lys	タウリン修飾欠損

数の mature mRNA を産生する (これを選択的スプライシングと呼ぶ) ことで達成されている (Nabeshima et al., 1984). エクソンもしくはイントロンには, スプライシングを促進する配列 (exonic/intronic splicing enhancer; ESE, ISE) もしくは, スプライシングを抑制する配列 (exonic/intronic splicing silencer; ESS, ISS) が存在している (図 1B). 前者には, SR プロテインに代表されるスプライシング促進性の RNA 結合タンパク質が, 後者には, hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein) などに代表される抑制性の RNA 結合タンパク質が結合し, これら様々なタンパクの結合パターンによって, エクソンスキッピングとエクソン包含がおこり, 多様な RNA 発現パターンが決定されている. RNA 結合タンパク質自身の多くは, RNA レベルではセルフフィードバックをうけて厳密な発現の自己制御, タンパクレベルではリン酸化をうけて厳密な機能制御がされているが, RNA 結合タンパク質の結合パターンの異常あるいは, その制御機構の破綻によって様々な神経疾患を引き起こすことが分かってきた (表 1). 以下にはその代表的な疾患について紹介したい.

4. 前頭側頭葉型認知症 (Frontotemporal dementia and Parkinsonism linked to chromosome 17: FTLD-17)

FTLD-17 はパーキンソニズムをともなう前頭側頭葉型認知症で, その原因遺伝子は第 17 染色体遺

伝子に存在する原因遺伝子 tau (MAPT) である. tau タンパクは神経細胞に多く存在し, その細胞骨格に重要な機能をもつ微小管を安定化させている. tau タンパクをコードしている MAPT 遺伝子の mRNA は, エクソン 2, 3, 10 が発達段階に応じて選択的スプライシングをうけて変化するが, 成人では 6 個の分子種 (アイソフォーム) が産生される. アイソフォームは主に, 繰り返し配列を 3 つまたは, 4 つ含む 3R, 4R tau に分類され, 4R tau は 3R より微小管の安定化を果たしている. FTLD-17 では数多くの点遺伝子変異が報告されているが, エクソン 10 上の N279K, K280del, L284L の 3 種類の遺伝子変異では, エクソン 10 の包含がおこる. 結果的に 4R のアイソフォームの方が相対的に多くなり, 微小管の過剰安定化を招き, 最終的に神経細胞死を引き起こす (Panda et al., 2003). Black らは, エクソン 10 の選択性を制御する低分子化合物をスクリーニングして, 強心剤であるジゴキシンなどの有効性を見出した (Stoilov et al., 2008).

5. 脊髄性筋萎縮症 (Spinal Muscular Atrophy: SMA)

SMA は, 小児科領域では比較的高頻度 (1/6,000) におこり, 脊髄前角の運動神経が選択的に変性脱落する常染色体劣性遺伝性の疾患である. SMN1 遺伝子の欠損または変異ホモ接合子において発症するが, 機能的な SMN タンパクが産生されないことに起因する. ヒトでは SMN1 以外にほぼ同一配列を

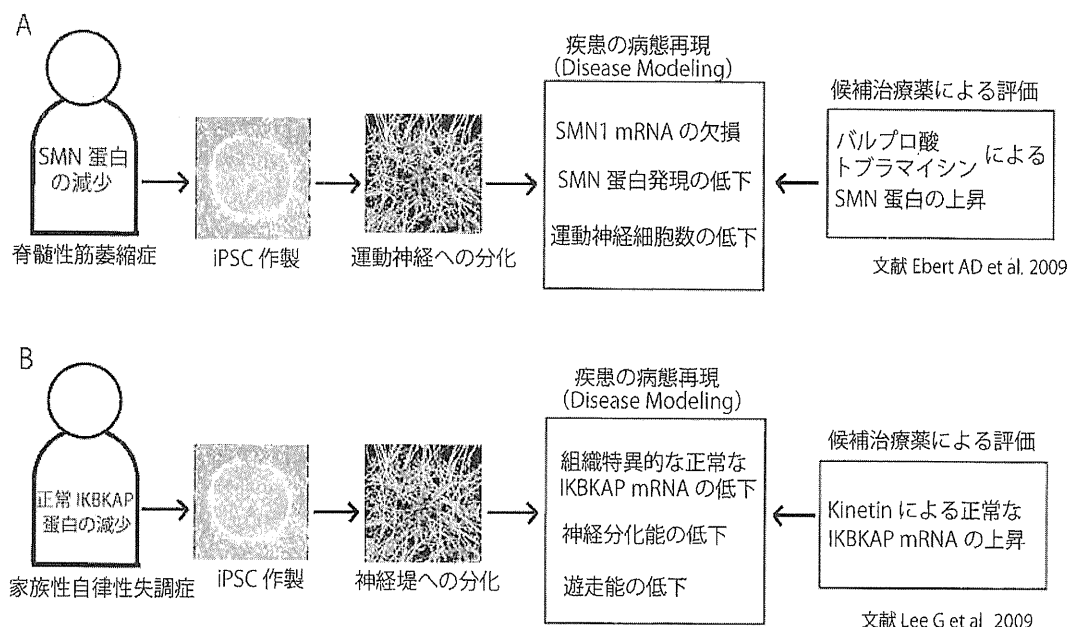


図 2. 神経変性疾患由来 iPSC 細胞を用いた RNA プロセッシング異常の病態再現と治療

もつ SMN2 遺伝子が SMN タンパクを産生するが、イントロン7にスプライシング抑制性 RNA 結合タンパク質である hnRNP A1 が結合する ISS 配列をもっており、エクソン7のスキッピングが起きるため、機能的な SMN を 20% しか産生できないため発症を防ぐことができない (Wirth et al., 2006). SMN タンパクは、RNA 結合タンパク質であり、前述した snRNA に結合して、snRNP を構築して細胞内でそれらを運搬している。SMA では機能的な SMN タンパクが低下することによって、snRNP が低下して、そのスプライシングの不均衡をまねき、広範なスプライシングパターンの変化をもたらし、最終的に運動神経の選択的な細胞死を引き起こす (Zhang et al., 2008). 2009 年、Ebert らは SMA 疾患由来の iPSC 細胞から分化した運動神経は、コントロールの細胞と比較して、SMN タンパク発現の低下が認められ、運動神経のマーカーである ChAT 陽性の細胞が減少することを報告した (Ebert et al., 2009). iPSC 細胞から分化した細胞が疾患病態を再現する可能性を示した最初の報告である。さらに SMN 蛋白の発現は、候補治療薬であるバルプロ酸で改善することが確認された (図 2A).

6. 筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis: ALS)

近年になって DNA/RNA 結合タンパク質をコードする TDP-43 と FUS/TLS が原因遺伝子として同定された。ともに構造的に hnRNP に類似しており、主に核に存在する RNA 結合タンパク質である (Lagier-Tourenne et al., 2009). そもそも TDP-43 は HIV-1 遺伝子の転写発現を抑制する因子として同定され、その後嚢胞性線維症の原因遺伝子 CFTR エクソン9スキッピングを惹起することが知られていた (Ayala et al., 2006) が、2006年にリン酸化された TDP-43 が ALS の脊髄前角運動神経細胞に蓄積することが報告された (Arai et al. 2006; Neumann et al., 2006). さらに遺伝性および孤発性の ALS に TDP-43 遺伝子のミスセンス変異が同定され (Sreedharan et al., 2008), 変異はほとんどが TDP-43 C 末端にみとめており、C 末端断片が発症に関わる重要な役割を果たしていると考えられる。その TDP-43 は様々な RNA に結合して、転写、スプライシングや RNA 分解に関わっていると考えられている。スプライシングのターゲットは CFTR 以外に Apolipo-

proteinA-II (ApoA-II) や SMN などが知られているが、病態に結びつくターゲットは明らかではない。TDP-43 につづいて FUS/TLS のミスセンス変異が遺伝性 ALS に同定された (Vance et al., 2009)。FUS/TDP-43 は、YB-1 や Spi-1/PU.1, PTBP, hnRNP A1 などの他の RNA 結合タンパク質とともに選択的スプライシングの調節をおこなっている。

7. 筋強直性ジストロフィー (Myotonic Dystrophy)

常染色体優性遺伝で筋萎縮、ミオトニア、知能障害、白内障、インスリン抵抗性、性腺機能低下、心伝導障害を特徴とする。DMPK 遺伝子の 3' 非翻訳領域 (UTR) の CTG リピート異常伸長による DM1 (dystrophia myotonica type 1) と ZNF9 遺伝子イントロン 1 の CCTG リピート異常伸長による DM2 (dystrophia myotonica type 2) がある。DM1 では、PKC (protein kinase C) の活性化を介してスプライシングや RNA 編集を調節する RNA 結合タンパク質である CUGBP1 (CUG binding protein 1) の機能亢進をおこし、各組織で発現している標的遺伝子のさまざまなスプライシング異常を起こすと考えられている (Kuyumcu-Martinez et al., 2007; Wang et al., 2009)。

8. Prader-Willi 症候群 (PWS)

常染色体優性遺伝で、肥満、筋緊張低下、精神発達障害、性腺機能低下、四肢短縮を特徴とする。染色体 15 番長腕近位側 (15q11-q13) はインプリンティングをうけており、父もしくは母由来の単一アレルのみが発現している。父由来の発現するべき領域が欠損すると PWS になる。一方母由来の発現する領域 UBE3A が欠損すると angelman 症候群になる。15q11-q13 には核小体低分子 RNA (snoRNA) HB II-52 がコードされており、本来 HB II-52 はセロトニン受容体 2C をコードする HTR2C エクソン 5b の ESS に結合してスプライシングをおこなすが、PWS ではスプライシング異常が起こりセロトニン系機能

異常の原因になる (Jacquemont et al., 2007)。

9. 家族性自律神経失調症 (Familial Dysautonomia: FD)

FD は、感覚神経と自律神経の変性をおこす常染色体劣性遺伝性疾患で、I-k-B kinase complex-associated protein (IKBKAP) 遺伝子の点変異が原因である。イントロン 20 に存在する点変異によりスプライシングの過程でエクソン 20 の欠損が起こり、結果的に正常に機能する IKAP タンパクの量が減少する (Slaugenhaupt et al., 2001)。感覚神経と自律神経は神経堤から発達するが、FD 患者由来の iPS 細胞から分化した神経堤は、組織特異的に IKBKAP スプライシング異常が起こり、正常な IKBKAP mRNA の産生が低下することが報告された (Lee et al., 2009)。また疾患 iPS 細胞由来の神経細胞は神経分化能と遊走能が低下する。さらに候補治療薬 kinein の効果を検討してスプライシング異常を改善し、正常な IKBKAP mRNA を増やすことで神経分化能の改善が示された (図 2B)。

10. iPS 細胞を用いた神経変性疾患再現と治療の可能性

これまで iPS 細胞を用いて疾患病態を再現することが数多く報告されている。先述した SMA や FD の例が示していることは、分化誘導された iPS 細胞由来の神経が組織特異的な RNA プロセッシング異常をきたし、病態を再現し、さらに候補治療薬でその異常が改善されることである。これは iPS 細胞が、RNA プロセッシング異常に関係する神経変性疾患のモデリングと創薬のツールに有用である可能性を示唆している。iPS 細胞から特異的な分化誘導をおこなうことによって、組織特異的な病態を検討することが可能になるであろうし、神経自律的な (cell autonomous) 細胞死と非神経自律的な (Non cell autonomous) 細胞死のメカニズムもあわせて、より多面的な解析が可能になると考えられる。

さらに、疾患由来のナイーブなヒト神経細胞を用

いて、病態の解析と治療効果を確認することが可能になったことで、これまで困難であった、原因遺伝子が特定されない希少難病疾患の研究あるいは神経変性疾患の病態について横断的な研究が可能になると考えられる (Inoue et al., 2010)。これまで、細胞株や疾患動物モデルで得られた知見を実際のヒト神経で検証することも可能になると期待される。現在、われわれは筋萎縮性側索硬化症由来の iPS 細胞を樹立後に運動神経へ分化をおこない、RNA 結合タンパク質の機能を中心に解析し、それに基づく新規治療ターゲットの同定を試みている。運動神経を識別、選別することによって、選択的な運動神経の細胞死の病態をより詳細に検証することが可能になるであろう。

しかしながら多くの課題が残されている。これまでの iPS 細胞を用いた病態再現についての報告は、生後比較的早期に発症する疾患がほとんどであり、加齢変化をとめない、神経が変性脱落する疾患について病態を再現できるかについては今後の進展が待たれる。また、表現形の解析についても、同じヒトから樹立した iPS 細胞株間に分化効率の差があることから、サンプル数などを含めて慎重に進める必要性があると考えられる。

11. おわりに

遺伝性疾患において、点変異が RNA のスプライシングに影響をあたえることは古くから知られていたが、その制御機構について不明な部分が多かった。RNA プロセシングの研究が進むにつれて、RNA 結合タンパク質による制御機構が多くの神経変性疾患の病態に関わっていることが明らかになった。さらには、iPS 細胞を用いてヒト神経細胞においてそれらを再現することが可能になった。これからの iPS 細胞を用いた研究が、疾患病態のモデリングだけでなく、神経変性疾患の病態に新しい知見をもたらす、それに基づいた画期的な治療法につながることを期待したい。

文 献

- Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Ikeda K, Nonaka T, Mori H, Mann D, Tsuchiya K, Yoshida M, Hashizume Y, Oda T (2006) TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 351 : 602-611
- Agala YM, Pagani F, Baralle FE (2006) TDP43 depletion rescues aberrant CFTR exon 9 skipping. *FEBS Lett* 580 : 1339-1344
- Ebert AD, Yu J, Rose FF, Jr, Mattis VB, Lorson CL, Thomson JA, Svendsen CN (2009) Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 457 : 277-280
- Inoue H (2010) Neurodegenerative disease-specific induced pluripotent stem cell research. *Exp Cell Res* 316 : 2560-2564
- Jacquemont S, Hagerman RJ, Hagerman PJ, Leehey MA (2007) Fragile-X syndrome and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome : two faces of FMR1. *Lancet Neurol* 6 : 45-55
- Kuyumcu-Martinez NM, Wang GS, Cooper TA (2007) Increased steady-state levels of CUGBP1 in myotonic dystrophy 1 are due to PKC-mediated hyperphosphorylation. *Mol Cell* 28 : 68-78
- Kwak S, Kawahara Y (2005) Deficient RNA editing of GluR2 and neuronal death in amyotrophic lateral sclerosis. *J Mol Med (Berl)* 83 : 110-120
- Lagier-Tourenne C, Polymenidou M, Cleveland DW (2009) TDP-43 and FUS/TLS : emerging roles in RNA processing and neurodegeneration. *Hum Mol Genet* 19 : R46-64
- Lee G, Papapetrou EP, Kim H, Chambers SM, Tomishima MJ, Fasano CA, Ganat YM, Menon J, Shimizu F, Viale A, Tabar V, Sadelain M, Studer L (2009) Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature* 461 : 402-406
- Nabeshima Y, Fujii-Kuriyama Y, Muramatsu M, Ogata K (1984) Alternative transcription and two modes of splicing results in two myosin light chains from one gene. *Nature* 308 : 333-338
- Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, Bruce J, Schuck T, Grossman M, Clark CM, McCluskey LF, Miller BL, Masliah E, Mackenzie IR, Feldman H, Feiden W, Kretzschmar HA, Trojanowski JQ, Lee VM (2006) Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314 : 130-133
- Panda D, Samuel JC, Massie M, Feinstein SC, Wilson L (2003)

- Differential regulation of microtubule dynamics by three- and four-repeat tau : implications for the onset of neurodegenerative disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 : 9548-9553
- Slaugenhaupt SA, Blumenfeld A, Gill SP, Leyne M, Mull J, Cua-jungco MP, Liebert CB, Chadwick B, Idelson M, Reznik L, Robbins C, Makalowska I, Brownstein M, Krappmann D, Scheiderei C, Maayan C, Axelrod FB, Gusella JF (2001) Tissue-specific expression of a splicing mutation in the IKB-KAP gene causes familial dysautonomia. *Am J Hum Genet* 68 : 598-605
- Sreedharan J, Blair IP, Tripathi VB, Hu X, Vance C, Rogelj B, Ackerley S, Durnall JC, Williams KL, Buratti E, Baralle F, de Belleruche J, Mitchell JD, Leigh PN, Al-Chalabi A, Miller CC, Nicholson G, Shaw CE (2008) TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 319 : 1668-1672
- Stoilov P, Lin CH, Damoiseaux R, Nikolic J, Black DL (2008) A high-throughput screening strategy identifies cardiotonic steroids as alternative splicing modulators. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105 : 11218-11223
- Vance C, Rogelj B, Hortobagyi T, De Vos KJ, Nishimura AL, Sreedharan J, Hu X, Smith B, Ruddy D, Wright P, Ganesalingam J, Williams KL, Tripathi V, Al-Saraj S, Al-Chalabi A, Leigh PN, Blair IP, Nicholson G, de Belleruche J, Gallo JM, Miller CC, Shaw CE (2009) Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 323 : 1208-1211
- Wang GS, Kuyumcu-Martinez MN, Sarma S, Mathur N, Wehrens XH, Cooper TA (2009) PKC inhibition ameliorates the cardiac phenotype in a mouse model of myotonic dystrophy type 1. *J Clin Invest* 119 : 3797-3806
- Wirth B, Brichta L, Schrank B, Lochmuller H, Blick S, Baasner A, Heller R (2006) Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased SMN2 copy number. *Hum Genet* 119 : 422-428
- Zhang Z, Lotti F, Dittmar K, Younis I, Wan L, Kasim M, Dreyfuss G (2008) SMN deficiency causes tissue-specific perturbations in the repertoire of snRNAs and widespread defects in splicing. *Cell* 133 : 585-600

RNA binding proteins in neurodegenerative disease
— Prospect for a therapy in disease modeling using iPS cells —

Naohiro Egawa, Haruhisa Inoue
Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto University

Recent analyses have revealed that RNA processing machinery play crucial roles in the pathogenesis of neurodegeneration. Mutations in the genes encoding for RNA binding proteins have been identified to cause neurodegenerative disease. On the contrary, induced pluripotent stem cell (iPSC) research shows neurodegenerative disease modeling with aberrant RNA splicing. We reviewed the function of RNA binding proteins and the potential therapeutic target for RNA processing in neurodegenerative disease using iPSCs.

Address correspondence to Dr. Haruhisa Inoue, Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto University (53 Kawahara-Cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan)

特集1

神経系におけるiPS細胞 iPS細胞の活用も含めた神経機能修復の現状と将来

iPS 細胞技術の神経疾患研究での有用性 および今後の課題

きたおかしほ
北岡志保

いのうえはるひさ
井上治久

京都大学 iPS 細胞研究所臨床応用研究部門 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53)
戦略的創造研究推進事業 (CREST), 独立行政法人科学技術振興機構 (JST)
(〒332-0012 埼玉県川口市本町4-1-8)
E-mail: haruhisa@cira.kyoto-u.ac.jp

SUMMARY

iPS 細胞作製技術の開発により、これまで生体から入手困難であった患者由来組織の細胞を研究材料として使用できるようになった。その結果、神経疾患特異的 iPS 細胞から疾患の標的細胞である神経細胞あるいはグリア細胞に分化誘導し、*in vitro* での疾患モデルの構築や、構築された疾患モデルを利用した創薬プラットフォームの創出が進められている。また、iPS 細胞の *in vivo* での活用法としては、ヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen: HLA) ハプロタイプが一致するヒト iPS 細胞から分化誘導した細胞を移植する他家移植、または、患者由来の細胞を *in vitro* で治療した細胞を用いた自家移植に関する研究などが進められている。本稿では、iPS 細胞を用いた神経疾患研究の現状と今後の課題について述べる。

はじめに

神経変性疾患や精神疾患に関する現在の知見は死後病理組織の解析に基づくものが多い。しかしながら、死後病理組織は疾患の末期での病態を反映し、必ずしも疾患の発症前もしくは進行期での病態を反映するものではない。さらに、死後病理組織は疾患の影響以外に、死後変化などを含め、二次的な影響を受けている可能性がある。一方、原因遺伝子が明らかな疾患では動物モデル・細胞モデルでの解析が進められているが、これらのモデルを用いた治療実験で効果を有した薬剤が臨床試験で必ずしも効果を示すとは限らない^{1,2)}。

2007年にヒト iPS 細胞技術が開発され^{3,4)}、患者自身の体細胞から iPS 細胞を作製し、疾患の標的細胞へ分化させることが可能になった。このことはさらに、患者由来の標的細胞を用いた *in vitro* での疾患モデリング・創薬プラットフォームの開発を可能にしつつある。

また、これまで ES 細胞や胎児由来細胞が移植細胞のリソースとして使用されてきたが、倫理的・量的制限および拒絶反応が問題であった。しかしながら、iPS 細胞技術は移植の新たなツールを提供した。本稿では、神経疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患モデルの構築・創薬プラットフォームの創出・移植に関する現

KEY WORDS

創薬
移植
神経細胞
グリア細胞
モデリング

況および今後の課題について述べる (図 1)。

I. *in vitro* での iPS 細胞の活用

I. 疾患モデリング

iPS 細胞技術が開発されて以来、さまざまな疾患特異的 iPS 細胞を用いた *in vitro* での疾患モデリング (疾患再現) が報告されている。それらの中で神経・精神疾患に関する報告を表 1 にまとめた。

早発性疾患は原因遺伝子の影響が大きいと考えられ、脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy: SMA)⁵⁾・家族性自律神経失調症 (familial dysautonomia: FD)⁶⁾ などでいち早く疾患再現が報告された。SMA では疾患 iPS 細胞由来運動神経細胞の減少や患者由来線維芽細胞・iPS 細胞での核ジェム数の減少が示された。また、FD では疾患特異的 iPS 細胞由来神経堤細胞の移動度の減少が示された。

その後、晩発性疾患であるパーキンソン病⁷⁾で、疾

患特異的 iPS 細胞由来ドーパミン作動性神経細胞を酸化ストレスの一種である過酸化水素や 6-OHDA に曝露すると、コントロール細胞と比較し神経細胞死が誘導されやすい、つまり酸化ストレスに対し脆弱であることが示された。

また、精神疾患である統合失調症⁸⁾の疾患再現が報告された。細胞レベルでの表現型が不明な疾患ではあるが、コントロール iPS 細胞および疾患特異的 iPS 細胞からシナプシン陽性神経細胞を分化誘導し、疾患特異的 iPS 細胞から分化誘導した神経細胞のシナプス結合が減少していることを示した。さらに、抗精神病薬の一つであるロキサピンを培養液に添加することにより、減少していたシナプス結合がコントロール細胞と同程度にまで増加した。このように、多因子で生じる疾患や細胞レベルでの表現型が不明な疾患であっても、疾患 iPS 細胞から分化誘導した神経細胞をコントロールと比較することでモデルを構築することが可能であることが示された点で iPS 細胞の有用性が大きく

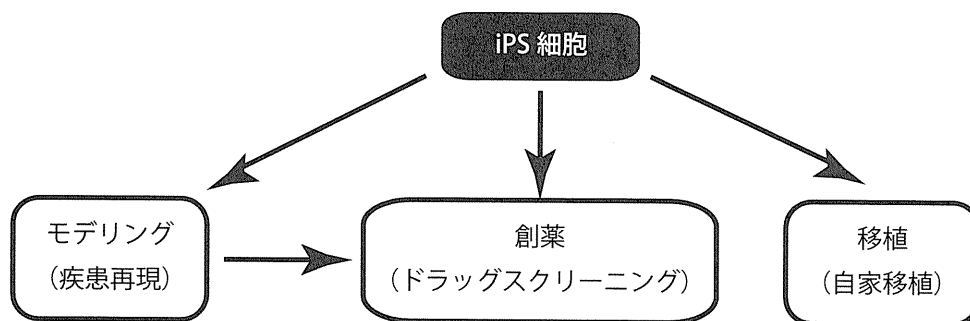


図 1 iPS 細胞の活用法

表 1 神経精神疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患モデリング

		報告年	疾患名	解析対象の細胞種	疾患モデル
神経変性疾患	早発性疾患	2009	家族性自律神経失調症	神経堤細胞	遊走異常
		2009	脊髄性筋萎縮症	下位運動神経細胞	運動神経細胞死
	晩発性疾患	2011	パーキンソン病	中脳ドーパミン神経細胞	酸化ストレスに対する脆弱性
精神疾患		2010	レット症候群 ⁹⁾	神経細胞	(形態的)シナプスの減少
		2011	統合失調症	神経細胞	(機能的)シナプス結合の減少

示された。

II. 創薬

疾患モデリングが成功した神経疾患の中で、薬剤スクリーニングが進んでいる疾患が先述した SMA である。SMA は SMN1 (survival motor neuron 1) 遺伝子の変異が原因で、重症度の高い患者ほど SMN たんぱく質の産生量が著しく低下している。SMN2 遺伝子は SMN1 遺伝子と非常に相同性が高いものの、一部の塩基配列の置換が原因で、SMN2 遺伝子から産生されるたんぱく質の約 90% はエクソン 7 が欠失した SMN たんぱく質である。エクソン 7 のスキッピングを修正する薬物は SMA 患者での全長 SMN たんぱく質の産生量を増加させ、SMA の治療薬になり得る可能性がある。

実際に、SMA で疾患再現・核ジェム数の減少を報告した論文では、ヒストン脱アセチル化酵素阻害作用を有するバルプロ酸およびトブラマイシンが疾患 iPS 細胞での全長 SMN たんぱく質量を増加させることを示している。

III. 今後の課題

創薬開発を目的とした薬剤スクリーニングを行うためには、同時に多数のサンプルを高速で解析する必要

がある。また、疾患の標的細胞への高効率な分化誘導法を確立し、各疾患のモデルを構築する必要がある。そのことによって、今後、他の疾患においても、薬剤スクリーニングのためのプラットフォームの創出が可能になるであろう。

さらに、晩発性疾患の大部分は原因遺伝子が不明の孤発性が大部分を占める。家族性疾患から得られた知見を孤発性疾患に応用することが iPS 細胞作製技術を最大限に活用することになると考えられる。そのためには、均一な iPS 細胞株を使用する必要がある。現在ではホストのゲノムへの遺伝子挿入がない方法での iPS 細胞の樹立が行われている。しかしながら、iPS 細胞は ES 細胞と類似の性質を有しているものの、DNA のメチル化の状態は ES 細胞と異なることが示されている¹⁰⁾。また、iPS 細胞は体細胞コード領域の変異の起こる頻度が高いこと¹¹⁾、オリジナルの細胞とは異なったコピー数の多型が検出されること¹²⁾が報告された。これらが、iPS 細胞のクローン間や iPS 細胞株間の多様性の原因であると考えられる(表 2)。今後、これらの課題を克服する技術が開発されるであろう。

表 2 iPS 細胞技術の課題

	体細胞コード領域変異	コピー数多型 (copy number variation: CNV)	エピジェネティック修飾
頻度	線維芽細胞と比較し、iPS 細胞での変異は高頻度にかかる	オリジナルの細胞では検出されない CNV が iPS 細胞で検出される	ES 細胞と iPS 細胞で異なる CG-メチル化領域から体細胞由来のメチル化領域を差し引いた iPS 細胞に特異的な割合が 51~56%
検出方法	たんぱく質をコードする領域の全ゲノムシーケンス	affymetrix genome-wide human SNP array 6.0	バイサルファイト・ショットガン・シーケンス法
原因	少数の線維芽細胞に既存の変異 リプログラミング培養	リプログラミング培養	リプログラミング培養

II. *in vivo* での iPS 細胞の活用

I. 移植

ファンconi貧血の論文¹³⁾では、患者から採取した線維芽細胞の遺伝子変異を修復することで iPS 細胞の樹立が可能となったことが示された。このことは、患者自身から採取した細胞を *in vitro* で治療した後、患者に移植するという自家移植の可能性を強く支持するものである。

現在、iPS 細胞を使用したヒトへの移植治療や治験はまだ行われていない。しかしながら、ES 細胞由来の細胞をヒトに移植する治験や、iPS 細胞由来の細胞を動物モデルに移植する研究が進められている。

米国では、ES 細胞由来の網膜色素上皮細胞を用いたスターガルト病・加齢性黄斑変性治療が第一相臨床治験として開始されている¹⁴⁾。また、移植を目的とし、ヒト iPS 細胞から網膜色素上皮および視細胞が異種成分不含の分化方法により誘導されている¹⁵⁾。ブタ iPS 細胞由来の視細胞を、ヨード酢酸塩投与により視細胞を除去したブタに移植し、移植した視細胞が外顆粒層に生着することが示された¹⁶⁾。

パーキンソン病ではカニクイザルの ES 細胞から分化誘導したドーパミン作動性神経細胞をパーキンソン病モデルのカニクイザルの脳に移植し、移植された細胞が脳内で生着し神経症状の改善をもたらすことが報告されている¹⁷⁾。ヒト iPS 細胞を用いた研究では、分化誘導したドーパミン作動性神経細胞をパーキンソン病モデルのラットに移植し、運動疾患が改善されることが示された¹⁸⁾。

脊髄損傷や筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) モデルでは主としてグリア細胞が移植実験に利用されている¹⁹⁾。脊髄損傷モデルではヒト ES 細胞から分化誘導したオリゴデンドロサイトを脊髄損傷モデルのラットに移植し行動が改善されることを示している²⁰⁾。グリア前駆細胞を ALS モデルマウスに移植した実験では、正常なアストロサイトの運動神経細胞保護効果が示唆されている²¹⁾。

II. 今後の課題

iPS 細胞由来細胞の移植については、未分化な細胞から生じる奇形腫や移植する目的細胞が過剰に増殖す

るといった腫瘍形成の問題がある。これらの問題を回避するために未分化細胞の除去や目的細胞の *in vivo* での長期にわたる観察が必要である。

おわりに

近年、中枢神経系の治療に対する研究は、神経幹細胞・iPS 細胞・ES 細胞からの神経細胞の発生・分化に基づき進められてきた。一方で、神経細胞が機能を有するためには、神経細胞の機能再生も重要であり、軸索伸長に関する研究が重ねられてきている^{22, 23)}。軸索伸長には微小管やアクチンフィラメントといった細胞骨格の再構築が必須で、それらを制御しているシグナル伝達経路として、低分子量 G タンパク質 Rho ファミリー (Rho, Rac および Cdc42) があげられる。神経細胞において、Rho の活性化は神経突起の退縮に必要であり、Rac と Cdc42 はそれぞれ成長円錐における葉状仮足および糸状仮足形成を制御し、神経突起の伸長に必要であることがわかっている²⁴⁾。さらに、Rho/ROCK 経路は神経細胞のアポトーシスに関与しており、ROCK 阻害剤である Y-27632 を移植細胞に加えることにより移植細胞である神経幹細胞のアポトーシスが抑制されることが示されている²⁵⁾。以上のことから、神経細胞またはグリア細胞の移植時に低分子量 G タンパク質 Rho ファミリーに作用する薬剤を使用することで移植細胞の生存率を上げ、神経細胞の突起伸長を促すことなどが期待される。これまでの中枢神経の研究を統合した手法により、神経系の再生医療においてさらなる発展が期待される。

参考文献

- 1) Desnuelle C, et al : A double-blind, placebo-controlled randomized clinical trial of alpha-tocopherol (vitamin E) in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. ALS riluzole-tocopherol study group. *Amyotroph. Lateral scler. Other Motor Neuron Disord* 2 : 9-18, 2001.
- 2) Shefner JM, et al : NEALS Consortium. A clinical trial of creatine in ALS. *Neurology* 63 : 1656-1661, 2004.
- 3) Takahashi K, et al : Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131 : 861-872, 2007.
- 4) Yu J, et al : Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318 : 1917-1920, 2007.
- 5) Ebert AD, et al : Induced pluripotent stem cells from a

- spinal muscular atrophy patient. Nature 457 : 277-280, 2009.
- 6) Lee G, et al : Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. Nature 461 : 402-406, 2009.
 - 7) Nguyen HN, et al : LRRK2 mutant iPSC-derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress. Cell Stem Cell 8 : 267-280, 2011.
 - 8) Brennand KJ, et al : Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. Nature 473 : 221-225, 2011.
 - 9) Marchetto MCN, et al : A model for neural development and treatment of rett syndrome using human induced pluripotent stem cells. Cell 143 : 527-539, 2010.
 - 10) Gore A, et al : Somatic coding mutations in human induced pluripotent stem cells. Nature 471 : 63-67, 2011.
 - 11) Hussein SM, et al : Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency. Nature 471 : 58-62, 2011.
 - 12) Lister R, et al : Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells. Nature 471 : 68-73, 2011.
 - 13) Raya A, et al : Disease-corrected haematopoietic progenitors from fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. Nature 460 : 53-59, 2009.
 - 14) Zhu D, et al : Polarized secretion of PEDF from human embryonic stem cell-derived RPE promotes retinal progenitor cell survival. Invest Ophthalmol Vis Sci 52 : 1573-1585, 2011.
 - 15) Osakada F, et al : In vitro differentiation of retinal cells from human pluripotent stem cells by small-molecule induction. J Cell Sci 122 : 3169-3179, 2009.
 - 16) Zhou L, et al : Differentiation of induced pluripotent stem cells of Swine into rod photoreceptors and their integration into the retina. Stem Cells 29 : 972-980, 2011.
 - 17) Takagi Y, et al : Dopaminergic neurons generated from monkey embryonic stem cells function in a Parkinson primate model. J Clin Invest 115 : 102-109, 2005.
 - 18) Rhee YH, et al : Protein-based human iPS cells efficiently generate functional dopamine neurons and can treat a rat model of Parkinson disease. J Clin Invest 121 : 2326-2335, 2011.
 - 19) Kumagai G, et al : Roles of ES cell-derived gliogenic neural stem/progenitor cells in functional recovery after spinal cord injury. PLoS One 4 : e7706, 2009.
 - 20) Erceg S, et al : Transplanted oligodendrocytes and motoneuron progenitors generated from human embryonic stem cells promote locomotor recovery after spinal cord transection. Stem Cells 28 : 1541-1549, 2010.
 - 21) Lepore AC, et al : Focal transplantation-based astrocyte replacement is neuroprotective in a model of motor neuron disease. Nat Neurosci 11 : 1294-1301, 2008.
 - 22) Fujita Y, et al : Myelin suppresses axon regeneration by PIR-B/SHP-mediated inhibition of Trk activity. EMBO J 30 : 1389-1401, 2011.
 - 23) Inoue H, et al : Inhibition of the leucine-rich repeat protein LINGO-1 enhances survival, structure, and function of dopaminergic neurons in Parkinson's disease models. Proc Natl Acad Sci USA 104 : 14430-14435, 2007.
 - 24) Luo L : Actin cytoskeleton regulation in neuronal morphogenesis and structural plasticity. Annu Rev Cell Dev Biol 18 : 601-635, 2002.
 - 25) Koyanagi M, et al : Inhibition of the Rho/ROCK pathway reduces apoptosis during transplantation of embryonic stem cell-derived neural precursors. Journal of Neuroscience Research 86 : 270-280, 2008.

精神科専門医・研修医待望のアドバンスクラスレベルの教科書

Advanced Psychiatry

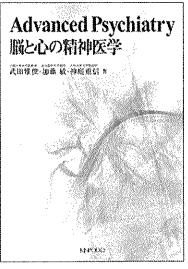
脳と心の精神医学

大阪大学大学院教授 自治医科大学教授 九州大学大学院教授
武田雅俊・加藤 敏・神庭重信 著

NBM と EBM が統合されたわが国独自の精神医学の確立をゴールにすえて、内外の重要誌 (AGP, AJP, BJP, 精神誌等) の最新の知見に目を通した上でのオリジナリティあふれる書下ろし。

A5変型判・440頁 定価 7,140円 (本体 6,800円+税5%) ISBN978-4-7653-1299-8

Advanced Psychiatry
 脳と心の精神医学
武田雅俊・加藤敏・神庭重信 著



株式会社金芳堂 京都市左京区鹿ヶ谷西寺ノ前町 34 番地 〒606-8425
 Tel 075-751-1111 Fax 075-751-6858

E-mail (営業部) : eigyo@kinpodo-pub.co.jp
<http://www.kinpodo-pub.co.jp/>

幹細胞を用いてシャーレの中で病気を再現できれば ほかの方法では手に入れるのが難しい、あるいは まったく入手不可能な細胞を実験に使う道が開ける

に30を超え、今も増え続けている。その多くは、極めて重篤なALS患者に見られる変異を持っている。

さらに重要なのは、シャーレ内で病気を再現するという手法の威力が発揮され始め、運動ニューロン病の本質についての手掛かりが得られつつあることだ。例えば、クロアチアの老姉妹の細胞を用いた研究から、運動ニューロンの死と関係があるとみられる分子経路が見つかった（論文では未発表。右ページの監修者ノート参照）。運動ニューロンは、ニューロンをサポートす

るアストロサイトと呼ばれるグリア細胞から放出される毒素にさらされると死滅する。現在、ニューロンとアストロサイトを同じシャーレで培養し、アストロサイトの毒性を阻害するか、あるいは運動ニューロンの生存を助ける物質の探索が進んでいる。

また2010年1月、プロジェクトALSは、ALS患者からiPS細胞技術で作り出した運動ニューロンを用いて、約2000の化合物の一次スクリーニングを始めた。ALS遺伝子に変異したニューロンの生存期間を延ばす分子が

ないかどうかを調べる。今回の予備的な計画は、薬剤スクリーニングにおける新しい考え方を取り入れている。ほかの病気の治療薬としてすでに米食品医薬品局（FDA）に認可されている薬剤から調べ始めたのだ。運が良ければ、すでにヒトでの安全性が試験され、確認されているものの中から目的の物質が見つかり、すぐさま運動ニューロン疾患に適用拡大できるだろう。

ルビンはハーバード大学で同様の研究を進め、プロジェクトALSが発見した分子経路の1つに作用して、運動ニューロンの生存期間を延長する低分子化合物を20種類以上見つけた。現在、脊髄性筋萎縮症財団が、この病気の動物モデルを用いてその1つを調べているところだ。

天からの蜘蛛の糸を生かすには

ベーブ・ルースと並んで、米メジャーリーグのニューヨーク・ヤンキースの顔だったルー・ゲーリックは、1938年に入り、プレーの精彩を極端に欠き始める。翌年、彼は、フランスの神経学者シャルコー（Jean-Martin Charcot）が1869年に記載した「脊髄が固くなる原因不明の麻痺」である筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis：ALS）と診断されて引退を余儀なくされ、その2年後、37歳の若さで他界した。

それから70年たった現在、ALSは米国ではルー・ゲーリック病とも呼ばれているが、依然として有効な治療方法のない過酷な疾患であることに変わりはない。患者さんは症状の進行によって全身の運動機能を消失するが、進行後も、意識は清明で知的機能は保たれる。さらに、人工呼吸器を使用するか、そしてゴールのない介護を受けるかどうかという患者さんに突きつけられる選択は、ALSが最も容赦のない疾患の1つといわれる所以である。

1993年にALSの原因遺伝子の1つが同定され、さらにヒトと同様の症状を呈するモデルマウスが作出されたにもかかわらず、ALSの治療方法は確立していない。その解決のための重要なミッシングピースの1つがヒトの運動ニューロンであるという考えを、私たちのグループも有していた。そして米国のグループと同様、iPS細胞が発見される以前から、ALSの患者さんの皮膚にある幹細胞を収集し、運動ニューロンを作り出そうとしていた。米国のグループは核移植による方法を模索していたが、私たちは皮膚の幹細胞を運動ニューロンに分化させるこ

とに悪戦苦闘していた。

取り組んでいた方法は違えど、私たちにとっても、iPS細胞技術は天からの蜘蛛の糸であった。2008年夏、いよいよ患者さんの皮膚細胞から満を持してiPS細胞を作りはじめた1カ月後、私たちは、ALSの遺伝的特徴を持つ運動ニューロンを作り出したというエッグン博士らの論文に驚くことになる。

私たちを含め、この難問に取り組む世界中の研究者は、治療法の開発という最終ゴールのために、あらゆる可能性、考えるすべての手法を導入しようとしている。さらに、分野を超えて協力しうるすべての研究者との共同研究によって、全速力で、疾患の制圧を目指している。

その中で、iPS細胞作成技術というこれまでの歴史上に存在しなかった革命的技術はどうしても必要であり、それを用いることによって、シャーレの中での難病の疾患モデリングが可能となるであろう。ALSだけではない。慢性乳児神経皮膚関節炎症候群、多発性嚢胞腎、ダウン症、脊髄性筋萎縮症、肺高血圧症をはじめ、ほかの多くの病気についても、シャーレ内で疾患モデルを作る研究が日本と世界で精力的に行われており、知見が蓄積されつつある。

iPS細胞を用いた研究は、既存のパラダイムとの融合によって、病態解明、創薬開発をさらに加速することになると思われる。与えられた蜘蛛の糸を最大限に生かし、いかに疾患の治療法につなげていくかが、今後の重要課題である。

（井上治久＝右ページの監修者紹介参照）

