

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
分担研究報告書
疾患特異的 iPS 細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発

研究分担者
大阪大学大学院医学系研究科 高島 成二

研究要旨

疾患特異的 iPS 細胞を作成し創薬スクリーニングとして使用するためには、疾患の原因となる遺伝背景が解明されていなければならない。本研究においては、心血管疾患を有する患者の原因遺伝子を解明しさらにその機能解析を行い、病態モデルとなりうる多彩な iPS 細胞を樹立することを目的とする。そこで、希少難治性遺伝性疾患患者遺伝子の Exome 解析を行い原因遺伝子の同定に成功した。

A．研究目的

疾患モデルとなる iPS 細胞樹立のためには遺伝子情報の解析は非常に重要である。近年、高速シーケンサーの進歩により、疾患家系から多くの検体が得られなくても、効率よく原因遺伝子を同定することが可能となった。本研究では疾患モデルとなりうる iPS 細胞樹立を目的として、心疾患患者の原因遺伝子解明を行った。また心筋に分化誘導した iPS 細胞のエネルギー代謝系をアッセイする新たな評価系を確立することも目的とした。

B．研究方法

孤発例を含めた心疾患患者約 100 名の Exome 解析を行い原因遺伝子の解析を行った。その中で疾患 iPS 細胞を樹立することにより表現型を含めた解析が今後可能と思われた遺伝子変異について機能解析をすすめた。さらに細胞内のエネルギー状態を定量化する技術の開発を行った。

（倫理面への配慮）

患者情報の解析に関しては施設の倫理委員会の承認を得た上、臨床研究倫理指針を遵守し慎重にお

こなう。その上で患者とは個別に、医師が書面に示した計画書を明示し、十分説明をしたうえで承諾を得たもののみを本研究に使用する。特に以下の点に留意する。

- 1) 試料提供者の個人識別情報を含む情報の保護：診療情報を含めた個人情報と検体とは徹底した匿名化を行い、遺伝情報と個人情報の連結は個人識別情報管理者のみが可能となるように個人識別情報管理者において情報を管理する。
- 2) 試料提供者に対する予想される危険や不利益およびそれらが生じた場合の措置：心筋生検試料採取は通常の診療の際に医学的必要性に応じて行われたもののうち、診療に用いない残余検体を利用することとし、危険や不利益はないと考える。誤って遺伝情報が外部に漏洩した場合、就職・結婚・保険への加入等に関して不利益をこうむる可能性が考えられるため、これを防ぐために、個人識別情報管理

者を置き、同管理者は試料の匿名化を行うとともに個人情報に厳重に管理・保管し、試料提供者のプライバシーを保護する。

3) 試料提供者から採取した生体材料の取り扱いについて：提供された試料は、個人識別情報管理者が連結匿名化し、匿名化ラベルのみ貼って保存する。これらの試料は、生体試料の包括利用同意を得ており、本研究だけでなく、将来倫理委員会で承認された他の自主臨床研究についても用いることが可能である。したがって検査済みの試料は、適宜連結可能匿名化番号を含む検体等を完全に削除した上で廃棄するが、使用可能な残余検体は匿名化されたまま施錠された保管場所で保管される。また、特に研究成果として得られた情報の管理には、外部に漏洩しないように対策を行う。

4) 動物実験においても愛護上の問題点を考慮の上、施設の審査結果を本研究について得た。この倫理規定にのっとり動物愛護上の配慮を十分行って実験をおこなう。

C．研究結果

心疾患家系において今まで報告のなかった特異的変異を同定した。さらにその変異の機能を解析するため細胞を用いた機能解析実験を行った。結果、この変異が当該遺伝子の機能を上げることが明らかになったため疾患 iPS 細胞樹立によりその機能を下げる薬剤のスクリーニングに使用できることが示唆された。今後アッセイ系を変えて本変異の機能をさらに明らかにしていく。また心筋症家系においても原因と思われる遺伝子変異を同定した。全く未知の機能を持ったタンパク質であり、疾患 iPS 細胞樹立によりその変異の機能解析を行い、心筋症発症との関連が解明されることが期待された。また分化誘導した心筋細胞のエネルギー代謝を定量化する新たなアッセイ法の開発にも成

功した。

D．考察

ヒトで見いだされた変異の機能解析をラットやマウスの細胞等を使って行うことは困難なことが多い。しかし、ヒト疾患で見いだされた変異についてはすでにヒトで病因となっていることが明らかであるため、その変異をもつ iPS 細胞を樹立することができれば疾患モデルとして病態解析に非常に有用であるばかりでなく、創薬スクリーニングに使用することも可能である。今後も、こういった iPS 細胞樹立により疾患解析が進むであろう変異の同定と機能解析を進めていく。

E．結論

iPS 細胞樹立により疾患モデルになりうる可能性のある複数の心疾患原因遺伝子を同定した。また新たなエネルギー代謝アッセイ系も構築した。

F．健康危険情報

該当なし

G．研究発表

1．論文発表

Hayashi T, Asano Y, Shintani Y, Aoyama H, Kioka H, Tsukamoto O, Hikita M, Shinzawa-Itoh K, Takafuji K, Higo S, Kato H, Yamazaki S, Matsuoka K, Nakano A, Asanuma H, Asakura M, Minamino T, Goto YI, Ogura T, Kitakaze M, Komuro I, Sakata Y, Tsukihara T, Yoshikawa S, Takashima S. Higd1a is a positive regulator of cytochrome c oxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 112(5):1553-8. (2015)

Yan Y, Tsukamoto O, Nakano A, Kato H, Kioka H, Ito N, Higo S, Yamazaki S, Shintani Y, Matsuoka K, Liao Y, Asanuma H, Asakura M, Takafuji K, Minamino T, Asano Y, Kitakaze M, Takashima S. Augmented AMPK activity inhibits cell migration by phosphorylating the novel substrate Pdlm5. *Nat Commun*. 6: 6137. (2015)

2．学会発表

該当なし

H．知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1．特許取得 該当なし

2．実用新登録 該当なし

3．その他 特記事項なし