I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
「疾患由来 iPS 細胞を利用した難治性疾患の創薬研究」総括研究報告書

研究総括

研究代表者：門脇　孝
（東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科教授）

研究要旨

iPS 細胞はさまざまな疾患の原因解明、特に、適切な動物モデルがなく患者数が非常に少ないために臨床研究を進めにくい希少難病疾患の病態解明や新規治療法の開発に役立つ可能性がある。そこで本研究では患者から非侵襲的に大量の罹患組織を採取することが困難な難病疾患等について、iPS 細胞を経て分化細胞やがん幹細胞を大量に得られるメリットを活かして病態研究や治療開発を行うことを目的とする。そのため iPS 細胞化技術の最適化によって効率的に疾患由来 iPS 細胞を樹立する取り組みを進め、ゲノムへの外来遺伝子の組み込みがなく形質転換などのリスクが最小限に抑えられた疾患由来 iPS 細胞の樹立技術を確立した。さらに、多能性幹細胞としての品質評価法、創薬研究に向けたフィーダーフリー培養系の整備を行った。また、ゲノム倫理審査の承認を受け、拠点全体で倫理面等の不備なく共同研究が推進できるよう基盤整備を行った。臍帯血と臍帯の採取・調製・凍結保管・提供システムを構築し、他大学からの疾患特異的臍帯を収集するシステムを構築した。また本研究の枠組みにおける一つの研究拠点として東京大学医学部附属病院内に幹細胞創薬研究室を創設し、運営している。また、ヒト、マウス iPS 細胞に特異的な miRNA 発現パターンを把握し、あるキナーゼがマウス iPS 細胞の樹立効率を著しく上げることを明らかにし、マウス、ヒトいずれにおいてもキナーゼ過剰発現により iPS 細胞樹立効率が著しく上昇すること、またキナーゼ領域が必要であることを明らかにした。平成 25 年度には上記のような基盤整備が完了し、血液、脳神経、心臓、代謝、眼科の各領域で疾患検体を用いた iPS 細胞樹立の試みを開始し、すでに t(8;9)転座型白血病および低リスク骨髄異形成症候群、脳腫瘍患者の腫瘍細胞から iPS 細胞を樹立することに成功した。また、t(8;9)転座型白血病および脳腫瘍由来 iPS 細胞から血液細胞に分化誘導した際には疾患や腫瘍幹細胞の特性を示すこと、腫瘍原性を保持することが培養系やマウスモデルの系で示された。さらに、白血病由来 iPS 細胞から分化させた血球細胞はチロシンキナーゼ阻害薬により増殖が抑制されることを示し、この結果から iPS 細胞は疾患の病態解析と創薬開発に有効であることが示唆された。また、循環器領域では遺伝性循環器疾患患者の遺伝子変異スクリーニングを行い、iPS 細胞樹立、さらに心筋細胞への分化誘導という一連のフローを確立した。また、心筋細胞の表現系を指標とする再現性の高い評価系を確立した。同時に創薬研究に用いるプラットフォームとして iPS 細胞由来の心筋細胞シート構造を作製し、その生理的・電気的活動の解析を行った。代謝領域では遺伝子変異を伴う先天性、および脂肪織炎を伴う後天性の脂肪萎縮性糖尿病、ミトコンドリア糖尿病、MODY の罹患患者を対象疾患とする。iPS 細胞の分化系においては、iPS 細胞から脂肪細胞への分化プロトコールを検討し、間葉系幹細胞様の細胞へと一旦誘導させてから脂肪細胞へ分化させるプロトコールの最適化を試み、iPS 細胞から間葉系幹細胞様細胞への分化、間葉系幹細胞からの脂肪細胞への分化が比較的効率よく誘導できることが確認できた。眼科領域のある遺伝性疾患について、iPS 樹立を開始し、また網膜分化プロトコールの移入を行った。エピジェネティックな機構をもちいた iPS 細胞からの網膜分化を目的

として、その発生における役割を解析し、ヒストン H3K27 メチル化の網膜分化における役割を明らかにした。研究倫理・臨床倫理上の検討については iPS 細胞のバンク化を視野に入れてバイオバンクおよびデータベースへ研究参加者として試料を提供する際の意識を調査した。データベースに参加する際の同意のあり方は包括的な同意を考慮に入れざるを得ず、そうした包括的な同意の許容性について特に着目して調査を行った結果、包括的同意に賛意を示したのは 37.5%であったのに対し、個別的同意に賛意を示したのは 62.5%に及んだ。本研究によって様々な難治性疾患の病態解明や治療法の開発が期待され、さらに難治性疾患をモデルとした一般的な慢性疾患の治療法開発にもつながる可能性がある。高品質な疾患特異的 iPS 細胞をバンク化し配布可能とすることで、今後は民間企業をも巻き込んだ創薬研究の発展が期待される。

分担研究者

斉藤 延人　東京大学・脳神経外科 教授
黒川 峰夫　東京大学・血液・腫瘍内科 教授
小野 稔　東京大学・心臓外科 教授
山内 敏正　東京大学・糖尿病・代謝内科 准教授
森田 啓行　東京大学・循環器内科 特任准教授
瀧本 禎之　東京大学・医療倫理学・心身医学 准教授
今井 浩三　東京大学・抗体・ワクチン治療 特任教授
大津 真　東京大学・幹細胞治療 准教授
長村 登紀子　東京大学・血液免疫学・細胞プロセスとバンキング 准教授
東條 有伸　東京大学・幹細胞治療 教授
渡辺 すみ子　東京大学・再生基礎医科学・幹細胞学 特任教授

A．研究目的

iPS 細胞はさまざまな疾患の原因解明、特に、適切な動物モデルがなく患者数が非常に少ないために臨床研究も進めにくい希少難病疾患の病態解明や新規治療法の開発に役立つ可能性がある。東京大学では疾患特異的 iPS 細胞を用いた造血器腫瘍分子病態の解明を行っているほか、疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究(JST)の枠組みの中で造血障害班などの難病研究班が拠点や製薬企業と共同研究グループを形成し、効率的に創薬研究を推進する体制を構築しつつある。東京大学は 21 万を超える化合物を有する公的化合物ライブラリー(創薬オープンイノベーションセンター)を有しているほか、これまでの COE プログラムで医学・薬学融合型の研究拠点が形成されている。さらに、東京大学は橋渡し研究加速ネットワークプログラム(文科省)実施機関の一つで、基礎研究の成果を臨床に展開するさまざまな取り組みが支援されている。このような豊富な iPS 細胞取り扱い経験と支援環境を生かして創薬研究を更に推進するため、厚生労働「iPS 細胞を利用した創薬研究支援事業」にて「幹細胞創薬研究室」「医科学研究所ステムセルバンク」を中心とする拠点を整備した。この拠点で、患者から非侵襲的に大量の罹患組織を採取することが困難な骨・軟骨系難病疾患，代謝系難病疾患などについて、iPS 細胞を経て分化細胞を大量に得られるメリットを活かして病態研究や治療開発を行うことを本研究の目的とする。腫瘍性疾患についても、がん幹細胞に相当する細胞を大量に入手できるメリットを活かすことができる。

B．研究方法

臨床検体からの疾患由来 iPS 細胞の樹立については東大病院では黒川分担研究者、医科研では大津分担研究者を中心に、エピゾーマルベクター等を用いて行う。iPS 細胞特性を確認し、十分なロットの細胞を保存する。次に、iPS 細胞から各系統への分化誘導系を確立する。心筋細胞へは小野・森田分担研究者、星分担研究者、造血細胞へ

は黒川，大津各分担研究者、膵β細胞・脂肪細胞・肝細胞へは山内分担研究者を中心に行う。同一患者由来の iPS 細胞でもクローン間で分化能に差が認められるので、分化能の高いクローンを以後の研究に用いる。平成 27 年度末までに各臓器・領域について複数の患者由来 iPS 細胞を樹立し、そこから目的組織への分化誘導の系を確立することを目標とする。分化誘導に伴って、疾患の分子生物学的特性が細胞に現れることが多い。疾患 iPS 細胞由来の各組織細胞を用いてその十分な細胞量を活かしたトランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなどのオミクス解析を行って疾患病態を多角的に追究し、創薬ターゲットを同定する。

将来的には基盤が整った領域から創薬オープンイノベーションセンターを利用した創薬研究を開始する。標的のシグナルやタンパク質が同定されていれば蛍光タンパク質やレポーター遺伝子の安定発現株が有用である場合が多いので、それらを作製し、発光や蛍光，蛍光偏光(FP)，蛍光タンパク質の局在，蛍光エネルギー転移反応(FRET)などを指標にスクリーニングを行う。また、細胞膜タンパク質が標的として同定されれば抗体の効果を検証するほか、膜輸送体やシグナル伝達タンパク質が標的として同定されれば構造解析による阻害剤の in silico 設計の可能性を追究する。標的が同定されない場合は、ランダムスクリーニングとして 9,600 種の代表的化合物から成る Core Library を活用し、細胞生存・増殖，遊走，サイトカイン分泌，イオン濃度，ATP 活性などをエンドポイントとしてスクリーニングを行う。血液領域では、骨髄増殖性腫瘍、および難治性疾患等克服研究事業「特発性造血障害に関する調査研究班」と一部連携して、関連の疾患細胞を用いる。血液腫瘍の研究では、特に未分化ながん幹細胞分画の細胞を特異的に抑制する化合物を探索する。また、心・血管領域では心筋症などを対象とする。

（倫理面への配慮）

幹細胞医療研究の倫理支援は赤林朗教授を委員長とする「医学系研究科倫理委員会」、武藤教授を室長とする「研究倫理支援室」が対応し、研究計画と説明同意文書のチェックや実地調査等を行っている。臨床試験は山崎力教授をセンター長とする「臨床研究支援センター」、長村文孝教授を室長とする「臨床試験管理推進室」が対応し、プロトコールと説明同意文書のチェックや体制整備及び規制対応を行っている。これらは連携して基礎から臨床までの一貫した支援体制を構築しており、ヒト幹細胞臨床研究審査委員会、倫理審査委員会、ゲノム審査委員会等の委員会の運営支援を行っている他、再生医療ハイウェイにおける再生医療倫理相談窓口の運営にも参画している。各委員会は外部機関からの倫理申請も受け付けており、個人情報保護に関しても所内で規定を設けている。医科研病院では臨床試験実施時には、被験者への説明と理解状況の確認に重点をおいたコーディネーターを配置し、心理状況を適切に把握するために外部から先端医療に通じた臨床心理士（大木桃代文教大学教授）にも適宜患者面接を行っている。以上のような対応により、研究対象者の人権に配慮し、同意撤回の自由を保護し、それによる不利を受けないことを保証する。

動物実験は各組織の動物実験委員会が研究の審査を行い、動物実験施設と共に動物愛護を含めた実験講習を実施し、研究内容の確認も行った。また動物実験の自己点検・評価を行い、東京大学本部ライフサイエンス研究倫理支援室と内容の確認を行った。

C．研究結果

iPS 細胞は、様々な疾患、特に適切な動物モデルがなく臨床研究も進めにくい希少難病疾患の病態解明や新規治療法の開発に役立つ可能性を持つ。本研究事業では平成 26 年度から対象臓器・領域に的を絞り、血液、脳神経、心臓、代謝、網膜の難治性疾患について、iPS 細胞から得た十分量の分

化細胞を用いて創薬研究を行うことを目標とする。疾患 iPS 細胞を活用した難病研究の遂行に必要な基盤技術の開発、確立、維持と、拠点内研究者への技術供与を行っている。

血液領域では、平成 25 年度までに iPS 細胞化技術の最適化によって効率的に造血器疾患由来 iPS 細胞を樹立する取り組みを進め、センダイウイルスベクターやエピゾーマルベクターを用いた iPS 細胞樹立法を導入し、ゲノムへの外来遺伝子の組み込みがなく(Science. 324:797-801, 2009)、形質転換などのリスクが最小限に抑えられた疾患由来 iPS 細胞を樹立することに成功した。また、末梢血細胞からエピゾーマルベクターを用いた樹立の最適条件の検討を行ったところ、前培養は 2 日間 SCF、IL3、GM-CSF、TPO 添加して行い、5%O2 低酸素培養条件でブチル酸、ロックインヒビターなどの小分子化合物を付加することにより樹立の効率が上昇することを確認した。また、エピゾーマルベクターでは CD34 陽性細胞のみならず、単球、B リンパ球に遺伝子導入することが可能である、末梢血の単球にエピゾーマルベクターを用いて iPS 細胞を樹立させる系を確立した。さらに、多能性幹細胞としての品質評価法、創薬研究に向けたフィーダーフリー培養系の整備を行った。また、ゲノム倫理研究計画書を新規に作成し承認を受け、拠点全体で倫理面等の不備なく共同研究が推進できるよう基盤整備を行った。t(8;9) 転座型白血病は極めて稀な白血病であり、その希少さゆえに、造血細胞移植以外有効な治療法は分かっていない。t(8;9) 転座型白血病患者（Yamamoto, Ebihara et al: Leuk & Lymph, 2013）の血液腫瘍細胞から iPS 細胞を樹立した。この iPS 細胞から血液細胞を分化誘導すると、マクロファージの異常増殖が認められ、これがこの疾患の本体であると考えられた。また、imatinib はマクロファージ増殖を抑制できなかったが、ponatinib などの tyrosine kinase inhibitor は有意にマクロファージ増殖を抑制できた。これらの結果から、この iPS 細胞は疾患の病態解析と創薬開発に有効であると考えられた。また、医科学研究所ステムセルバンクと共同研究を行い、センダイウイルスベクターを用いて低リスク骨髄異形成症候群（MDS-RCMD）患者骨髄 CD34 陽性細胞由来の iPS 細胞株の樹立に成功した。iPS 細胞が MDS クローン由来であることの検証には、当該患者骨髄系細胞と同一の遺伝子変異が iPS 細胞にも検出されることが必須である。今回、RCMD で最も高頻度に変異の見つかるスプライスソーム遺伝子に関してスクリーニングした領域には変異がなかったため、現在、次世代シークエンサーを用いたより広範な MDS 関連遺伝子の標的シークエンスを準備中である。また、iPS 細胞から造血系への分化誘導過程で HoxB4 を恒常的に活性化すると、CD45 陰性 GATA2 強陽性の細胞分画中に HS/PC の前駆細胞ともいうべき細胞が長期間維持される可能性が示唆された。家族性血小板異常症(FPD)患者由来の疾患 iPS 細胞について、平成 26 年度は FPD 由来 iPS 細胞（FPD-iPS 細胞）を用いて病態を反映するかどうかを検討した。FPD-iPS 細胞を 10T1/2 上で VEGF 添加により血球に分化させたところ、CD34 陽性 CD43 陽性の造血前駆細胞と考えられる血球細胞を得ることができたが、この時点で正常細胞由来の iPS 細胞との差異は認められなかった。さらにコロニーアッセイを行ったところ、FPD-iPS 細胞から CD41a 陽性、CD42b 陽性細胞への分化が正常と比較して阻害されていることが示された。このことから、FPD-iPS 細胞から血球分化させた細胞は疾患の特性をよく反映することがわかった。さらに、FPD の原因は RUNX1 遺伝子変異と言われていることから、この巨核球系への分化障害が RUNX1 遺伝子変異のために生じていることを示すため、TALEN システムを用いた Gene editing の手法を用いることにより FPD における RUNX1_R174X 変異に修復を施した。その結果、阻害されていた巨核球分化は部分的に回復したことから、Proof of concept

（POC）を獲得することができた。一方で、悪性リンパ腫および多発性骨髄腫からの iPS 細胞樹立は困難であり未だに成功しておらず、今後の iPS 細胞樹立方法の更なる工夫・改善が必要である。

脳神経領域では平成26年度に2人の患者検体からの脳腫瘍幹細胞株の樹立に成功した。樹立した脳腫瘍幹細胞株の in vivo 環境下での腫瘍増大速度と関連する因子に関して検討を行ったが、今回の DNA 解析の結果からは有意に関連する因子は見出だせなかったため、今後 RNA を用いた網羅的発現解析を含めてさらなる検討を要することが判明した。

心臓領域では創薬研究に用いるプラットフォームとして iPS 細胞由来の心筋細胞シート構造を作製し、その生理的・電気的活動の解析を行った。作製したヒト iPS 心筋細胞シートが生体内で生着するかを確認するために心筋細胞シートを 3 層に重ねたものをヌードラットの背部皮下に移植したところ、移植 2 週間後に移植部位は全体が同期して肉眼的に拍動しており、電気的にも一定の周期の電位変化を計測できた。組織学的検査により機能的血管網を伴う心筋様組織となっていることが確認された。移植後 13 カ月でも全体が同期した肉眼的拍動や電気的活動が観察できた。電子顕微鏡で観察したところ、時間経過とともに心筋組織として成熟していくことが確認できた。また、3 層の細胞シートを連続 3 日間積層して計 9 層移植した方が 3 層移植よりも分厚い心筋組織ができており、機能的血管網を伴っていた。さらに、この方法で構築した心筋組織を、灌流する動静脈とともに取り出し、血管吻合することで異所的に移植できるかどうか検証するために、ヌードラットの鼠径部皮下にヒト心筋細胞シート 6 層を移植し、2 週間後に移植部を灌流する大腿動静脈を含めて血管付きグラフトとして摘出、別個体の頚部の動静脈に吻合し、1 週間後に評価したところ、全体が同期した肉眼的拍動・電位変化を認め、組織学的にも機能的な心筋組織であり、生着していることが確認できた。一方で、現時点で特異的治療法が存在しない遺伝性循環器疾患の病態解明および特異的治療法開発を目指し、今年度は遺伝性循環器疾患患者の遺伝子変異スクリーニングを行い、iPS 細胞樹立、さらに心筋細胞への分化誘導という一連のフローを確立した。また、心筋細胞の表現系を指標とする再現性の高い評価系を確立した。

代謝領域では、遺伝子変異を伴う先天性、および脂肪織炎を伴う後天性の脂肪萎縮性糖尿病、ミトコンドリア糖尿病、MODY の罹患患者を対象疾患とし、脂肪萎縮性糖尿病２名（うち１名は３月）および、インスリン抵抗性を伴う高インスリン血症１名から同意取得を得た。来年度前半に iPS 細胞樹立を施行する。iPS 細胞の作成技術と樹立後の維持・管理技術については、東京大学医科学研究所大津研究室との共同研究で、iPS 細胞の作成技術と樹立後の維持・管理技術の習得による体制の整備を行った。iPS 細胞の分化系においては、iPS 細胞から脂肪細胞への分化プロトコールを検討し、間葉系幹細胞様の細胞へと一旦誘導させてから脂肪細胞へ分化させるプロトコールの最適化を試み、iPS 細胞から間葉系幹細胞様細胞への分化、間葉系幹細胞からの脂肪細胞への分化が比較的効率よく誘導できることが確認できた。

眼科領域のある遺伝性疾患について、iPS 樹立を開始し、また網膜分化プロトコールの移入を行った。エピジェネティックな機構をもちいた iPS からの網膜分化を目的として、その発生における役割を解析し、ヒストン H3K27 メチル化の網膜分化における役割を明らかにした。

臍帯血・臍帯由来細胞は、ドナーへの肉体的負担のない生後の影響を受けていない未熟な体細胞である。臍帯血は、増殖力の高い造血幹細胞や naïve リンパ球を含み、臍帯は、豊富な間葉系細胞を含む。ともに再生医療や免疫療法への応用が期待されており、iPS 細胞のソースとしても注目されている。本研究では臍帯血・臍帯バンクプロジェクトと連携し、iPS 細胞ソースとして疾患特

異的臍帯血・臍帯由来間葉系細胞を収集・保存、提供する体制を構築することも目的としている。これまで、臍帯血・臍帯バンクにおいて、有疾患児の細胞を収集する体制を確立したが、平成 26 年度は、さらに疾患特異的臍帯・臍帯血を積極的に収集するために、他大学からの疾患特異的臍帯を収集するシステムを構築した。

iPS 細胞樹立効率の向上についてはヒト、マウス iPS に共通、特異的な miRNA 発現パターンを把握した。現在注目しているキナーゼがマウス iPS 細胞の樹立効率を著しくあげることが明らかになった。平成 26 年度は iPS 樹立効率をあげることが期待されたキナーゼについてより詳細な検討を行い、マウス、ヒトいずれにおいてもキナーゼ過剰発現により iPS 樹立効率が著しく上昇すること、またキナーゼ領域が必要であることが明らかになった。

研究倫理・臨床倫理上の検討において、iPS 細胞を利用した医学研究に対する市民の意識を引き続き調査した。平成 26 年度は特に iPS 細胞のバンク化を視野に入れてバイオバンクおよびデータベースへ研究参加者として試料を提供する際の意識を調査した。データベースに参加する際の同意のあり方は包括的な同意を考慮に入れざるを得ず、そうした包括的な同意の許容性について特に着目して調査を行った。その結果、包括的同意に賛意を示したのは 37.5%であったのに対し、個別的同意に賛意を示したのは 62.5%に及んだ。

D. 考察

本研究事業の成果としては、下記の 3 点が期待される。

① 希少疾患や腫瘍などの疾患特異的 iPS 細胞は創薬研究上極めて貴重である。高品質な疾患特異的 iPS 細胞を配布可能とすることで、通常それらを用いることが難しい企業とも連携した創薬研究の発展が期待できる。再生医療以外にも iPS 細胞の有用な臨床利用法を示すことで、企業による iPS 細胞の利用全体が促進され、産業化の可能性が高まることが期待される。

② 厚労省難治性疾患克服研究事業の対象疾患の病態解明や治療法の開発につながる可能性がある。これらの疾患の治療法開発は、患者の QOL 向上や生命維持に貢献するほか、遺伝性で罹患期間の長い疾患が多いため医療経済的にも効果がある。また、程度の差はあっても、希少疾患に認められる分子病態が一般的な慢性疾患にも認められるケースはしばしば存在すると考えられる。従って、希少難病疾患をモデルとして開発された治療法が幅広い患者に有効である可能性があり、その点で潜在的に多大な経済効果や医療への貢献をもたらす可能性がある。

③ ヒト iPS 細胞の安全で効率的な保存方法や分析・評価方法，ベクター発現細胞株作製方法，分化誘導法などの技術が整備され、品質の安定化が進むことが期待される。iPS 細胞由来の分化細胞は現在セルベースアッセイに頻用されている細胞株よりも生理的な状態に近く、真のヒット化合物を効率的に発見できることが期待される。

今後さらに疾患由来 iPS 細胞を用いた研究の可能性を追究していくためには、相互の情報交換を通じて限られた時間の中で効率よく各領域の研究を推進する必要があると考えられる。また、疾患由来 iPS 細胞が疾患の病態をどれほど反映するのか、各領域でより詳細に検討し、今後の病態解明に基づいた創薬研究の基盤とする必要があると考えられた。

血液領域では血液領域では、iPS 細胞化技術、血球への分化誘導技術の最適化がほぼ完了したため、この手法を用いてさまざまな血液疾患、特に疾患由来 iPS 細胞を用いた病態解明の意義が高いと考えられる悪性リンパ腫・多発性骨髄腫・良性疾患を中心に疾患由来 iPS 細胞の樹立を進める。また、さらなる病態生理を明らかにし、それとともに創薬開発に努める。低悪性度骨髄異形成症候群（MDS）由来の iPS 細胞の報告はほとんどなく、

樹立した株は MDS における造血異常の解析ツールとして貴重である。血球への分化誘導時に認められる事象を正常 iPS 細胞と比較解析することにより、樹立した iPS 細胞由来の血球細胞における疾患特異性を確認することができると考えられ、また、その上での病態解析に基づく創薬研究を推進するに当たり、大変有用なツールとなることが期待される。

脳神経領域では近年、悪性神経膠腫の治療抵抗性の原因として脳腫瘍幹細胞が注目されているが、そのメカニズムはいまだ十分に解明されておらず、その機序同定が治療成績向上のため必須と考えられている。今後、我々が樹立した脳腫瘍幹細胞株を用いて、幹細胞性維持、増殖を制御する因子に関して解析を行い、将来の新規治療法に繋げることを目標とする。また、今回樹立したこれら脳腫瘍幹細胞は、今後の iPS 様脳腫瘍細胞作成に活用できると考える。

心臓領域では iPS 細胞樹立および心室筋型心筋細胞への分化誘導はスムーズに行うことができている。また、今年度は、表現型解析をもちいた評価系を確立することができた。遺伝子発現パターン、細胞内電位変化をもちいた評価系開発に関しては現在進行形であり早急な確立を目指す。iPS 細胞樹立対象患者のリクルートをさらに進める必要がある。解析コントロール症例として、変異陰性血縁者が最適であり、その意味でも大きな家系を構成している患者を今後優先的に解析対象にする。また、ヒト iPS 細胞より分化誘導させた心筋細胞を細胞シートにし、生体内で積層化することで機能的なヒト心筋組織を作製することができた。将来的にこの方法をスケールアップできれば分厚い成熟した機能的なヒト心筋組織を構築することができ、創薬に向けた一つの理想的プラットフォームとなる可能性がある。

代謝領域では対象疾患に絞り込んだ患者由来の疾患特異的 iPS 細胞を作成し、系統的に分化させることで、病態の原因がどの過程の障害によるものか、網羅的な転写解析やエピゲノム解析などのオミクス解析などの技術を駆使して明らかにすることで、希少疾患のモデルの確立や病態研究、創薬研究の標的の同定が期待される。

眼科領域では網膜視細胞変性疾患の病態の理解と薬剤スクリーニングの一刻も早い体制作りが必要であり、品質管理の行き届いた iPS 細胞での進展を推進する準備が整った。

今年度確立した臍帯血と臍帯の採取・調製・凍結保管・提供システムを、今後も一定の比率で発生する難治性疾患の保管に生かすとともに、得られた疾患の提供を積極的に行う。iPS 細胞に共通、特異的な miRNA 発現パターンを今後指標として、研究班で作成される疾患由来 iPS の miRNA 発現パターンの相違の検討が可能になると期待される。RNA sequence, ChiP sequence, DNA methylation についても同様の解析をスタートすることが期待される。

研究倫理・臨床倫理上の検討において白紙委任のような仕方で同意を与えることに肯首する層は少ないことから、包括的同意を得る際にはできうる限りの情報を提供し、さらにできればおおまかな研究領域までを提示した層別同意までを考慮に入れる必要があると考えられた。また、再生医療や生殖補助医療に iPS 細胞を使用することに忌避感を有し、個別的同意を望むという試料の提供に慎重な層が一定数いるということは考慮すべきであり、研究計画の説明の際には研究への不参加を含めた選択肢の提示と、できる限りの情報提供が必要であると考えられた。

E. 結論

本研究によって様々な難治性疾患の病態解明や治療法の開発が期待され、さらに難治性疾患をモデルとした一般的な慢性疾患の治療法開発にもつながる可能性がある。高品質な疾患特異的 iPS 細胞をバンク化し配布可能とすることで、民間企業をも巻き込んだ創薬研究の発展が期待される。

F．研究発表

1. 論文発表

● Nakatsu D, Horiuchi Y, Kano F, Noguchi Y, Sugawara T, Takamoto I, Kubota N, Kadowaki T, Murata M l-cysteine reversibly inhibits glucose-induced biphasic insulin secretion and ATP production by inactivating PKM2. ***Proc Natl Acad Sci U S A***. [Epub ahead of print]. 2015

● Tanabe H, Motoyama K, Ikeda M, Wakiyama M, Terada T, Ohsawa N, Hosaka T, Hato M, Fujii Y, Nakamura Y, Ogasawara S, Hino T, Murata T, Iwata S, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Hirata K, Kawano Y, Yamamoto M, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Yamauchi T, Kadowaki T, Yokoyama S Expression, purification, crystallization, and preliminary X-ray crystallographic studies of the human adiponectin receptors, AdipoR1 and AdipoR2. ***J Struct Funct Genomics.*** 16(1):11-23. 2015

● Motonishi S, Nangaku M, Wada T, Ishimoto Y, Ohse T, Matsusaka T, Kubota N, Shimizu A, Kadowaki T, Tobe K, Inagi R Sirtuin1 Maintains Actin Cytoskeleton by Deacetylation of Cortactin in Injured Podocytes. ***J Am Soc Nephrol.*** [Epub ahead of print]. 2014

● Yamada T, Hara K, Svensson AK, Shojima N, Hosoe J, Iwasaki M, Yamauchi T, Kadowaki T Successfully achieving target weight loss influences subsequent maintenance of lower weight and dropout from treatment. ***Obesity*** (Silver Spring). 23(1):183-91. 2015

● Hashimoto S, Kubota N, Sato H, Sasaki M, Takamoto I, Kubota T, Nakaya K, Noda M, Ueki K, Kadowaki T Insulin receptor substrate-2 (irs2) in endothelial cells plays a crucial role in insulin secretion. ***Diabetes***. 64(3):876-86. 2015

● Hwang JY, Sim X, Wu Y, Liang J, Tabara Y, Hu C, Hara K, Tam CH, Cai Q, Zhao Q, Jee S, Takeuchi F, Go MJ, Ong RT, Ohkubo T, Kim YJ, Zhang R, Yamauchi T, So WY, Long J, Gu D, Lee NR, Kim S, Katsuya T, Oh JH, Liu J, Umemura S, Kim YJ, Jiang F, Maeda S, Chan JC, Lu W, Hixson JE, Adair LS, Jung KJ, Nabika T, Bae JB, Lee MH, Seielstad M, Young TL, Teo YY, Kita Y, Takashima N, Osawa H, Lee SH, Shin MH, Shin DH, Choi BY, Shi J, Gao YT, Xiang YB, Zheng W, Kato N, Yoon M, He J, Shu XO, Ma RC, Kadowaki T, Jia W, Miki T, Qi L, Tai ES, Mohlke KL, Han BG, Cho YS, Kim BJ Genome-wide association meta-analysis identifies novel variants associated with fasting plasma glucose in East Asians. ***Diabetes***. 64(1):291-8. 2015

● Hara K, Shojima N, Hosoe J, Kadowaki T Genetic architecture of type 2 diabetes. ***Biochem Biophys Res Commun***. 452(2):213-20. 2014

● Nishimura S, Nagasaki M, Okudaira S, Aoki J, Ohmori T, Ohkawa R, Nakamura K, Igarashi K, Yamashita H, Eto K, Uno K, Hayashi N, Kadowaki T, Komuro I, Yatomi Y, Nagai R ENPP2 contributes to adipose tissue expansion and insulin resistance in diet-induced obesity. ***Diabetes.*** 63(12):4154-64. 2014

● Hirokawa M, Morita H, Tajima T, Takahashi A, Ashikawa K, Miya F, Shigemizu D, Ozaki K, Sakata Y, Nakatani D, Suna S, Imai Y, Tanaka T, Tsunoda T, Matsuda K, Kadowaki T, Nakamura Y, Nagai R, Komuro I, Kubo M A genome-wide association study identifies PLCL2 and AP3D1-DOT1L-SF3A2 as new susceptibility loci for myocardial infarction in Japanese. ***Eur J Hum Genet.*** 23(3):374-80. 2015

● Sato T, Goyama S, Kataoka K, Nasu R, Tsuruta-Kishino T, Kagoya Y, Nukina A, Kumagai K, Kubota N, Nakagawa M, Arai S, Yoshimi A, Honda H, Kadowaki T, Kurokawa M Evi1 defines leukemia-initiating capacity and tyrosine kinase inhibitor resistance in chronic myeloid leukemia. ***Oncogene.*** 33(42):5028-38. 2014

● Suzuki Y, Shimizu H, Ishizuka N, Kubota N, Kubota T, Senoo A, Kageyama H, Osaka T, Hirako S, Kim HJ,

Matsumoto A, Shioda S, Mori M, Kadowaki T, Inoue S Vagal hyperactivity due to ventromedial hypothalamic lesions increases adiponectin production and release. ***Diabetes.*** 63(5):1637-48. 2014

● Awazawa M, Futami T, Sakada M, Kaneko K, Ohsugi M, Nakaya K, Terai A, Suzuki R, Koike M, Uchiyama Y, Kadowaki T, Ueki K Deregulation of pancreas-specific oxidoreductin ERO1β in the pathogenesis of diabetes mellitus. ***Mol Cell Biol.*** 34(7):1290-9. 2014

2. **学会発表**

● Takashi Kadowaki. A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. ***Homeodynamics in Clocks, Sleep and Metabolism—Tokyo Translational Therapeutics Meeting***, 2014.9.24, Tokyo, Japan

● Takashi Kadowaki. A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. ***FASEB Science Research Conference (AMPK: Biological Action and Therapeutic Perspectives)***, 2014.9.29, Lucca, Italy

● Takashi Kadowaki. Systems Biology of Diabetes Mellitus: The epigenome and its role in diabetes. ***10th IDF-WPR Congress***, 2014.11.21, Singapore

● Takashi Kadowaki. Adiponectin receptor and metabolic syndrome. the joint 2015 ***Keystone Symposia on Obesity and the Metabolic Syndrome***, 2015. 3. 26, British Columbia, Canada

IV. 研究成果の刊行物・別刷 (主なもの)

刊行物

● **門脇孝、川口義弥、粂昭苑、宮島篤. 膵β細胞の再生医療と糖尿病治療への応用。** ***Islet Equality*** 3(2) 4-13、2014.07

●**門脇孝. 【糖尿病・メタボリックシンドローム-分子機序と治療戦略-】 総論 糖尿病・メタボリックシンドローム 分子機序と治療戦略。** ***BIO Clinica*** 29(14) 1356-1357、2014.12