

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）  
 プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

## SSPE 患者由来人工多能性幹細胞 (iPSC) からの神経細胞の作製

研究分担者：楠原浩一 産業医科大学小児科  
 研究協力者：石崎義人 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野  
 研究協力者：原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野

**研究要旨** SSPE 患者の疾患感受性の解析に関して、中枢神経では、末梢血球と異なる intrinsic な自然免疫応答が起こっている可能性があり、患者由来人工多能性幹細胞(iPSC)を神経細胞に分化させた検討が必要と思われる。この目的のために、SSPE 患者 3 名の末梢血単核球から作成した患者由来 iPSC の分化誘導を行い、神経幹細胞を樹立した。今後は、この神経幹細胞を神経系細胞に分化させ、麻疹ウイルスに対する感受性を正常対照由来のものと比較する予定である。

### A. 研究目的

SSPE の宿主遺伝的要因は正確には解明されていない。私たちは、これまで、遺伝子多型を用いた関連解析により、自然免疫に関わる遺伝子の中で *MxA* と *TLR3*、獲得免疫に関わる遺伝子の中で *IL4* と *PD1* のバリエーションが SSPE の発症に関与していることを報告してきた。

最近、宿主側の遺伝的要因が解明されてきたウイルス性脳炎として、単純ヘルペス脳炎 (HSE) がある。HSE は、基本的には散発性に発生する。しかし、家族集積性が認められる家系があること、そのような家系の一部に血族婚がみられること、再発を繰り返す症例があることなどから、何らかの遺伝的要因が関与していることが示唆されていた。2000 年代の後半から、*TLR3* から IFN 産生、IFN-stimulated genes 発現に至る経路の遺伝子異常が HSE の発症要因となっていることが報告されるようになった<sup>1)</sup>。この中で、*UNC93B* 欠損症と *TLR3* 欠損症では、患者由来の人工多能性幹細胞(iPSC)から分化させた神経細胞を用いた研究が行われている<sup>2)</sup>。これによれば、*UNC93B* 欠損症患者および *TLR3* 欠損症患者由来の iPSC から分化させた神経細胞は正常対照由来と比較して HSV-1 に対する感受性が高いこと報告されている。このような現象が、SSPE 患者でもみられるかを検討するために今回の研究を行った。本研究は、「SSPE の診療ガイドラインの策定・改訂」に関連した研究である。

### B. 研究方法

対象は、SSPE 患者 3 名とした。昨年度、末梢血から患者ごとに 3~6 株の iPSC を樹立した。まず、STEMdiff Neural Induction Medium を用いて、iPSC から nestin および Sox1 陽性の神経前駆細胞の豊富な Neural rosette clusters を作成した。さらに、FGF2 および EGF を添加した培養条件下で、SFEB-quick 法により神経系細胞への誘導を行った<sup>3)</sup>。

#### (倫理面への配慮)

本研究は所属施設の倫理委員会の承認を受けており、被検者あるいは保護者の文書による同意を得て行った。

### C. 研究結果

患者ごとに神経幹細胞を樹立した。細胞の品質評価のため、形態学的観察と神経前駆細胞のマーカーである nestin、神経幹細胞のマーカーである PAX6 および SOX2 の免疫蛍光染色を行った。得られた細胞は、ロゼットを形成し、また上記のマーカーが陽性であった(図1, 図2)。SSPE 患者由来と健常者由来で、iPSC から神経幹細胞への分化誘導段階において形態やマーカー発現に特に差を認めなかった。

### D. 考察

SSPE 患者の疾患感受性の解析に関して、中枢神経では、末梢血球と異なる intrinsic な自然免

疫応答が起こっている可能性があり、患者由来 iPSC を神経細胞に分化させた検討が必要と思われる。今後は、最終段階として、今回樹立した神経幹細胞を神経系細胞に分化させる予定である。さらに、この iPSC 由来の神経系細胞に麻疹ウイルスを感染させ、麻疹ウイルスへの感受性を健常対照由来のものと比較する予定である。

**E. 結論**

SSPE 患者 3 名の末梢血単核球を出発点として、患者由来 iPSC を経て神経幹細胞を樹立した。今後は、この iPSC を神経細胞に分化させ、麻疹ウイルスに対する感受性を正常対照由来のものと比較する予定である。

**[参考文献]**

1) Sancho-Shimizu V, Perez de Diego R, Jouanguy E, Zhang SY, Casanova JL. Inborn errors of anti-viral interferon immunity in humans. *Curr Opin Virol* 1:487-96, 2011.

2) Lafaille FG, Pessach IM, Zhang SY, Ciancanelli MJ, Herman M, Abhyankar A, Ying SW, Keros S, Goldstein PA, Mostoslavsky G, Ordovas-Montanes J, Jouanguy E, Plancoulaine S, Tu E, Elkabetz Y, Al-Muhsen S, Tardieu M, Schlaeger TM, Daley GQ, Abel L, Casanova JL, Studer L, Notarangelo LD. Impaired intrinsic

immunity to HSV-1 in human iPSC-derived TLR3-deficient CNS cells. *Nature* 491:769-73, 2012.

3) Eiraku M, Watanabe K, Matsuo-Takasaki M, Kawada M, Yonemura S, Matsumura M, Wataya T, Nishiyama A, Muguruma K, Sasai Y. Self-organized formation of polarized cortical tissues from ESCs and its active manipulation by extrinsic signals. *Cell Stem Cell* 3:519-532, 2008.

**F. 健康危険情報**

なし

**G. 研究発表**

**1. 論文発表**

なし

**2. 学会発表**

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**

なし

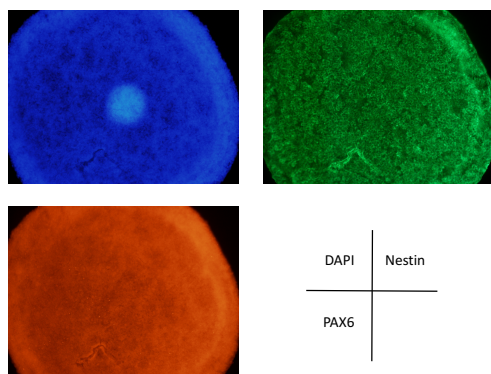
**2. 実用新案登録**

なし

**3. その他**

なし

**図1 樹立されたSSPE患者由来神経幹細胞 (day 12)**



**図2 樹立されたSSPE患者由来神経幹細胞 (day 17)**

