

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
「遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患の診断・治療・研究システム構築」
分担研究報告書

神経再生医療推進 HP アップデート

研究分担者 近藤 洋一 大阪医科薬科大学 教授

要旨

大阪医科薬科大学にて髄鞘再生に関する多面的な基礎研究を行った。
また、中枢神経系の髄鞘（または神経）再生を目指す最新の基礎研究および臨床研究を PubMed 等を利用して検索しホームページに紹介した。

研究内容

髄鞘再生に関する基礎研究

1. 疾患特異的 iPS 細胞を用いたアレキサンダー病発症機序の解明
アレキサンダー病 (AxD) 患者由来の iPS 細胞 2 株（乳幼児期発症 1 株 [A195-7] と学童時期発症 1 株 [A266]）と本研究室で作製したこれらの株の GFAP 遺伝子変異部位を正常に戻した株（それぞれ A195-7*、A266*）を用いて、AxD の症状の出る脳や脊髄を分化誘導し、脳や脊髄運動領域に発現している因子を確認した。これらの細胞をさらに長期間培養し、グリア前駆細胞で発現している PDGFRa が誘導されていることを確認した。さらに培養を続けると、脊髄領域の細胞に関しては、未熟なオリゴデンドロサイトに発現している O4 で解析したところ、A195-7*や A266*で発現が上昇していることを確認した。脳領域に関しては、今回の培養期間（150 日付近）でのグリア前駆細胞への誘導効率は A195-7 と A195-7*では特に大きな差はなかったが、A266 と A266*

の PDGFRa の発現を比較すると A266 で発現が低い傾向があった。ただ、実験のロット差が大きかったため、再現を取る必要がある。また、誘導した細胞の性質を生体内で調べるために、90 日から 120 日ほど誘導したグリア前駆細胞を生後 1 日目の免疫不全マウスやオリゴデンドロサイト特異的に発現するミエリン塩基性タンパク質を欠損している Shiverer マウスの脳内に移植して、ヒトのグリア細胞を持つキメラマウスを作製した。免疫不全マウスは主にアストロサイトを解析するために、Shiverer マウスは主にオリゴデンドロサイトを解析するために実験に使用した。移植した細胞がマウスの脳内に定着し、アストロサイトやオリゴデンドロサイトに分化しているかを確認するために、移植後、71 日目のマウスの脳内をヒト特異的に認識する抗体を用いて調べた。その結果、移植した細胞がマウスの脳内に分布し、アストロサイトやオリゴデンドロサイトに分化が進んでいることを確認した。

以上より、A266 株に関しては、in vitro の解析で GFAP 変異による異常が観察された。今後は再現性を取るとともに、遺伝子発現の違いやマウスの脳内で移植細胞をさらに分化させたときの性質の違いを解析する予定である。

2. クラッペ病モデルマウスを用いた in vivo 遺伝子編集の試み

クラッペ病(グロボイド細胞白質ジストロフィー)のモデルである twitcher マウスはライソゾーム酵素のひとつガラクトセレブロシダーゼ (GALC) の遺伝子にナンセンスミューテーションを持つ。そのため髄鞘の構成要素であるガラクトセレブロシドを代謝できず、全身の神経系に広範で急速進行性の脱髄を生じる。この研究は遺伝子編集技術を利用した in vivo での遺伝子変異修復の可能性を示すことを目的とする。これまでに twitcher マウス由来の TwS1 シュワン細胞株に対し CRISPR/Cas9 システムを用いて in vitro で遺伝子変異を修復でき、GALC 活性が復活することを確認したので、2023 年度は、in vivo での治療応用を検討した。GALC 遺伝子を修復する CRISPR/Cas9 システムを AAV9 ベクターに載せて twitcher マウスの脳内および静脈内に投与したところ、マウスの寿命延長を確認できた。今後、n 数を増やししながら、in vivo での遺伝子修復の効率、GALC 活性回復の程度、神経症状の改善等を定量的に解析していく。

HP アップデート

先天性大脳白質形成不全症をはじめとする中枢神経系の白質疾患に対する再生医療研究について、最新の論文を紹介し、社会

および専門家、特に当該疾患の患者さんとその家族に対しての情報発信と啓発を行うことを目的とした。

2023 年度の 5 月、7 月、9 月、11 月、1 月、および 3 月初旬に、PubMed を用いて、直近 2 か月分の神経再生医療に関する英文論文を検索した。先天性大脳白質形成不全症には限定せず、広く脱髄疾患や髄鞘形成不全症を対象とするため、“myelin repair” , “remyelination” , “stem cells” , “transplantation” 等のキーワードを適宜組み合わせて絞り込んだ。その後、内容を検討し、高い関心を呼びそうな論文を選んで要約し、コメントを交えて、「先天性大脳白質形成不全症:PMD と類縁疾患に関するネットワーク」のホームページ上 (<https://plaza.umin.ac.jp/~pmd/research.html>) に紹介した。2023 年度分として計 6 編の論文を紹介した。