

2015 年度「IBC グラント」成果報告書（抄録）

慶應義塾大学医学部生理学教室 岡野栄之

研究課題名：家族性 ALS-iPS 細胞を用いたハイコンテンツスクリーニングによる ALS 治療薬創出

<抄録>

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、運動ニューロン特異的に変性がみられる神経変性疾患であるが、一部の家族性 ALS を除き原因遺伝子は明確ではなくその病態発症・進行メカニズムも大部分明らかになっていない。それゆえに ALS に対する有効な病態モデルならびに治療的措置は今なお存在しておらず、また、ALS 患者の病変部位が脳・脊髄であることから生きたまま細胞を取り出すことが難しく患者検体を用いた解析すら困難である。

iPS 細胞技術はこのような問題を解決する革新的技術として大いに注目されている。疾患特異的 iPS 細胞の実現は、特に神経系においては、患者の成体内で起きていた現象を生体外で再現する唯一の手段であると言っても過言では無く、特定の神経サブタイプの作り分けも可能であることから、既存の培養細胞や病態モデルマウスよりも正確な病態モデルの作出を可能とする。そこで本研究では、ALS 患者由来の iPS 細胞を用いて病変が確認される運動ニューロンへと分化誘導させることで、患者病態をより色濃く反映した ALS 病態モデルを培養皿の中で作出する。さらには、構築した病態モデルを用いて検出した ALS 表現型を指標として既存薬スクリーニングを実施することで、迅速かつ高効率な ALS 治療薬開発を実現化することを本研究の目的とする。

これまでの研究から我々は、*FUS* 遺伝子に変異を有する家族性 ALS 患者より樹立した iPS (*FUS*-ALS-iPS) 細胞を用いて運動ニューロン特異的な病態モデルを構築し、見出した複数の表現型を指標として 1232 種の既存薬スクリーニング（一次スクリーニング）を実施、95 種の ALS 治療薬候補を選別している。本年度は、一次スクリーニングで選別した 95 種の ALS 治療薬候補を、*TARDBP* (*TDP-43*) 遺伝子に変異を有する家族性 ALS-iPS (*TDP43*-ALS-iPS) 細胞を用いて構築した ALS 病態モデルに適用させ、より広範な症例に適用可能な ALS 治療薬候補を選別（二次スクリーニング）することを第一の課題とした。二次スクリーニングの結果、*FUS* 型、*TDP43* 型いずれにも良好な反応性を示す ALS 治療薬候補を 9 種選別することに成功した。この 9 種の既存薬を一次・二次スクリーニングで用いた各評価項目の病態改善率を基に順位付けし、インタビューフォーム等の医薬品情報を照合した結果、最終的に 1 つの既存薬を選別した。ALS への適応拡大を目的とした当該薬剤の臨床試験を行うべく、本年 5 月に PMDA 事前面談を実施している。

また、一方で、全世界における ALS 患者の約 90% は孤発性症例であることから、iPS 細胞技術を駆使した孤発性 ALS モデル構築にも着手している。原因遺伝子が明確ではなく複

数の要因が疾患発症に関与すると考えられる孤発性症例を用いた解析において、何らかの結論を導くには多症例解析ならびに統計学的解析を用いた孤発性症例間の細分類が必須である。そこで本研究では、65症例の孤発性ALS患者由来の不死化リンパ芽球様細胞株(LCL)を用いてiPS細胞樹立、運動ニューロン分化を行い、順次病態解析を実施している。解析の結果、神経細胞死等の表現型の表出時期が症例により異なることが明らかとなっている。また、先行して複数の表現型を検出した孤発性症例(3症例)においては、家族性ALSモデルを用いた既存薬スクリーニングで最終的に選別した1剤の薬効評価を実施しており、良好な反応性が確認されている。

今後、解析を実施する孤発性症例数を増やし症例間の細分類を実施すること、選別した薬剤の薬効評価をより多くの孤発性症例で実施すること、さらには、選別薬剤のALSに対する薬効メカニズムからALS病態発症・進行メカニズムを明らかにすることを本研究の最終的な到達点とする。

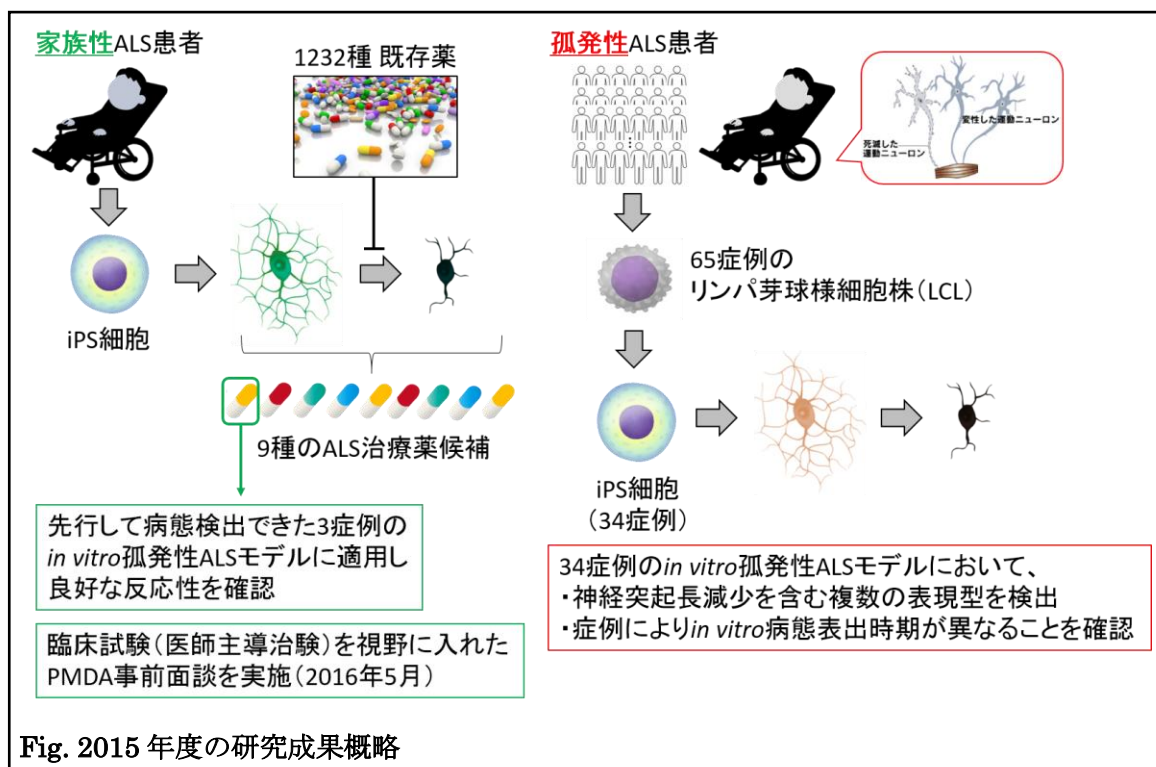


Fig. 2015年度の研究成果概略