

疾患特異的iPS細胞の創薬研究への応用

京都大学iPS細胞研究所

副所長・特定拠点教授 中畑 龍俊

●世界で行われているiPS細胞を使った創薬研究●

私は現在、京都大学iPS細胞研究所 (CiRA) に勤めております。本日は、iPS細胞の様々な応用があるなかから、「疾患特異的iPS細胞の創薬研究への応用」についてお話しさせていただきます。

山中伸弥教授のノーベル賞受賞後、iPS細胞研究は加速度的に進展しています。iPS細胞は、①旺盛な増殖力を持つ、②ほぼ全ての細胞・組織に分化できる多能性を有する、③どんな個人の成熟した体細胞からも樹立できる、という特徴を持っています。iPS細胞からは必要な様々な細胞を体外で作り出せることから、再生医療の格好な材料として期待されています。2014年9月、加齢黄斑変性の患者さんに、iPS細胞から分化させた網膜色素上皮細胞を用いた世界初の再生医療が行われました。今後、様々な疾患に対してiPS細胞を用いた再生医療が展開されていくと思われませんが、この話は本日は割愛いたします。

iPS細胞を使ったもう1つの臨床応用として、患者さんの皮膚や血液からiPS細胞を作り（これは疾患特異的iPS細胞と呼ばれています）、このiPS細胞を患者さんが侵されている臓器の細胞に分化させて、その細胞を使って病気の原因や病態を解明し、そこに働く新しい薬を見つける、いわゆる創薬の研究が世界的には盛んに行われています。

●筋萎縮性側索硬化症では運動ニューロンの形が違うことがわかった●

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) という病気は、筋肉がだんだん痩せ細って、やがて全身の筋肉が動かなくなっていくとされています。正常な筋肉は正常な運動ニューロンがあることによって保持されています。ところがALSの患者さんの場合は、運動ニューロンがだんだん変性して、やがて死滅してしまいます。筋肉が痩せ細っていく原因は筋肉にあるのではなく、運動ニューロンにあるということがわかっています。ただ、運動ニューロンがなぜ変性、死滅してしまうのかということにはわかっていませんし、これを止めるような薬もありません。いまだに有効な治療はないのです。その1つの原因は、患者さんの組織を取って、運動ニューロンがどうなっているかを調べようとしても、動かなくなった筋肉の中にはすでに運動

ニューロンはないので、調べようがないのです。今まで病気に対するいいアプローチがなかったために新しい薬も開発できなかったわけですが、iPS細胞はこれに対して格好の研究手段を与えてくれました。

どういうことかと申しますと、ALSの患者さんからiPS細胞を作り、そこから運動ニューロンに分化させると、欲しいだけいくらでも作れます。一方では、正常な人から樹立したiPS細胞から作った運動ニューロンと患者さんの運動ニューロンのどこが違うのか比較できるようになりました。患者の運動ニューロンは正常な人の運動ニューロンとどこに差があるのか、なぜ壊れやすいのかということを探します。あるいは壊れるのを食い止めるような新しい薬を見つけることができるようになったわけです。

我々の研究所の井上教授は日本人の多くのALSの患者さんからiPS細胞を作って、正常なiPS細胞といろいろな比較を行っております。正常とALSの患者さんのiPS細胞から作った運動ニューロンを比較すると、数のうえでは大きな差はありませんでした。ところが運動ニューロンの形を見てみますと、そこには大きな差があることがわかりました。正常iPS細胞から作った運動ニューロンの場合は、神経突起（ニューライト）が長くきれいに伸びています。一方、ALSの患者さん由来の運動ニューロンは神経突起が短く、変に枝分かれしていて、外からストレスを与えると非常に壊れやすいことがわかりました。見た目にも明らかに違うということがわかります。

そこで、このニューライトをもっと伸ばすような薬はないか、あるいは壊れるのを防ぐような薬はないかということで調べていきますと、カシューナッツの皮に含まれているAnacardic acidsにその効果があるということがわかりました。これがいきなり薬というわけにはいきませんが、こういった手法によってALSに対する新しい治療法を見つけられることを明確に示したということで、彼の論文は高く評価をされています。

小児科領域には似た病気で、脊髄性筋萎縮症（spinal muscular atrophy：SMA）という病気があります。ALSの場合には上位ニューロンと脊髄から出る下位ニューロンの両方が侵されますが、SMAの場合は下位ニューロンだけが侵される病気です。特にSMA I型：ウェルドニツヒ・ホフマン病は、生まれてすぐに人工呼吸器のお世話になるような重症型で、小児科医としては何とかしてあげたい病気の1つです。この病気は、運動ニューロンの生存に関わっているsurvival motor neuron（SMN1）という遺伝子の異常によって起こります。この遺伝子が作り出すSMNタンパクがだんだんと激減してしまうために運動ニューロンが生存できなくなることがわかっています。

このSMNというタンパクを増加させるような物質を見つけることができれば、患者さんを救える可能性が出てきます。そこでSMAの患者さんから皮膚をいただいてiPS細胞を作り、そこから運動神経に分化させます。正常なiPS細胞由来の細胞ではSMNタンパクは核の上にたくさん見られますが、SMA I型の細胞核の上にはまったくないことがわかります。そこにバルプロ酸（抗痙攣剤）を加えると、まだ少ないですがSMNタンパクが増加してきます。このレベルではまだ臨床では使えませんが、もっと上げるような物質がないかどうか、現在スクリーニングが始まっています。

●CINCA症候群の創薬研究が多くの疾患の治療へつながる可能性がある●

私はもともと小児科医で、特に血液や免疫疾患を得意として診療してきましたので、我々の教室ではいろいろな血液免疫疾患の患者さんからiPS細胞を作って研究を行っております。教室の丹羽君はiPS細胞から中胚葉を作り、そこから血液と血管共通の母細胞を経て血液を作り出す非常にきれいな系を開発しました。ここで作られる赤血球、好中球、単球、樹状細胞、マクロファージ等の細胞の機能を調べてみますと、我々の体から取った細胞と同じような正常の機能を持っていることが確認されました。このようにiPS細胞から正常な機能を持った血液、免疫担当細胞を作り出せるようになりましたので、実際の病気の解析に移りました。

最初にお話しするのは、CINCA症候群という珍しい病気です。生まれてすぐから熱が続く、体中に蕁麻疹様の発疹がでます。関節が非常に腫れますが、それは関節の軟骨あるいは骨の過形成が起こるためです。また、無菌性髄膜炎が起こって絶えず頭が痛い。難聴になり、場合によっては視力を失ってしまう例もあります。身長も伸びないなど、難病のなかでも最たる難病ではないかと思えます。この病気の原因は、CIAS1と呼ばれる遺伝子の機能獲得性変異で起こることがすでにわかっています。この遺伝子は単球に発現していて、遺伝子変異のため炎症に関係するIL-1 β を過剰に産生してしまうのではないかと想定されています。ただその詳細は明らかでなく、軟骨病変に本当にIL-1 β が関係しているかもわかっていない病気です。

私の教室の齋藤准教授は、CINCA症候群患者の約半数は体細胞モザイクで発症することを世界で最初に発見しました。すなわち、患者さんの体では正常細胞と遺伝子異常を持った細胞がモザイク状態になっており、異常細胞の頻度が10%以下と低いため、従来の遺伝子解析では異常が見つからなかったのだと報告しました。今回、体細胞モザイクの患者さんからiPS細胞を作ることにしました。この場合は1人の患者さんから正常なiPS細胞と遺伝子異常を持ったiPS細胞の両方が作られるわけです。両者の違いは、CIAS1遺伝子の異常を持っているかないかで、それ以外の遺伝的バックグラウンドは全く同じですので、この遺伝子の機能を解析するには最適なコントロールになると考えられます。患者さんの遺伝子異常を持たない正常なiPS細胞から分化させたマクロファージと、ミュータントのiPS細胞から分化させたマクロファージの機能を比較してみますと、正常のマクロファージの場合はLPSとATPの2つの刺激があってはじめてIL-1 β という炎症を惹起するサイトカインが産生されることがわかりました。ところがミュータントの場合は、LPSの刺激だけで、ATPの刺激が全く無くても、大量のIL-1 β が作られてしまうということがわかりました。

正常マクロファージは、LPSの刺激によりIL-1 β の前駆体であるpro-IL-1 β が作られます。さらにCIAS1がATPによって活性化されると、それまでばらばらだったCIAS1、ASC、カスパーゼ1の3つの分子が集合してインフラマソームが作られます。そうすると初めてカスパーゼ1は働くことができるようになりpro-IL-1 β を切り出して成熟したIL-1 β を作り、それが細胞の外に放出され、生理活性物質として働いて初めて炎症が起こる。この刺激が無

くなれば、炎症は収束する。このようになっていいると考えられます。

一方、ミュータントのマクロファージの場合はLPSの刺激によってpro-IL-1 β ができる、ここまでは同じです。ところが、CIAS1は機能獲得性の変異によってすでに活性化されていますので、セカンドシグナルが全く無くともインフラマソームが形成されており、いきなりIL-1 β を切り出してしまうということになります。LPSの刺激はいろいろな形で我々の体には入ってきますので、この刺激だけでIL-1 β が作られてしまうということになると、絶えず炎症が起こることになります。

現在、我々はインフラマソームそのものをブロックする新しい薬の開発（創薬）を進めています。CINCA症候群は極めてまれな疾患ですが、最近このインフラマソームがアルツハイマー、糖尿病、痛風、動脈硬化など様々な疾患に関係していることが明らかにされています。我々がCINCA症候群の病態解析を通じて見つけようとしているインフラマソームを制御する薬は、こういった多くの疾患に対する新しい治療法につながるかもしれないと期待されているわけです。

創薬スクリーニングは、iPS細胞を用いて実現可能な研究として、大きな期待がかけられています。しかし、ラージスケールの化合物スクリーニングは、①特定の分化細胞を大量に純化し、②疾患に関連した表現型をこれらの細胞で再現し、さらに③これをハイスループットスクリーニング（HSS）の解析系に最適化する必要があるため、現実的にはなかなか進展が見られませんでした。最近、いくつかの疾患について画期的な報告がなされ、我々もCINCA症候群など数疾患でハイスループットスクリーニングの系を構築し、検討中であります。

京都大学iPS細胞研究所（CiRA）では2030年までの達成目標として4つを設定し、その1つとして「iPS細胞による個別化医薬の実現と難病の創薬」を掲げています。この目標に向かって、今後も進んでいきたいと考えています。