

平成 24 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	神経難病の iPS モデルの確立と治療薬開発研究	
研究者所属・氏名	研究代表者： 医学部堺病院 神経内科 平野 牧人 共同研究者： 高度先端総合医療センター再生医療部 福田 寛二 高度先端総合医療センター再生医療部 小野寺 勇太	

1. 研究目的・内容

様々な難病患者の人工多能性幹細胞(iPS 細胞)を神経・グリア細胞へ分化させ、蛋白分解機構やシグナル解析を行う。これらを用いて、ヒト細胞を用いた疾患モデルを構築することが、本研究の主眼である。これまで報告されている他疾患の研究から、患者 iPS の神経分化時には、神経突起の進展不良や維持困難が予想される。これに対して、ALS の原因蛋白である ubiquilin2 および最近 ALS の原因として同定された SQSTM1/p62 の発現促進・抑制、ユビキチン-プロテアソームまたはオートファジーの促進・抑制剤などにより神経突起伸展を回復・維持、あるいはその逆が生じるか、さらに細胞内シグナリング解析およびシグナル調整薬による回復効果を検討する。

2. 研究経過及び成果

当該年度において、筋萎縮性側索硬化症(ALS) 3 症例、パーキンソン病 1 症例、バルデー・ビードル病 1 症例、および正常対照の iPS 細胞を確立した。これらには、最近明らかとなった ALS 原因遺伝子 SQSTM1/p62 遺伝子変異を有する患者 iPS 細胞も含まれる。p62 は ubiquilin2 と類似した機能ドメインを有し、不要な蛋白を分解するユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー系の両者に関連する蛋白であり、ALS 病態生理の中心的な役割を果たすと考えられる。本研究によって、患者・対照由来の線維芽細胞における、p62 や ubiquiline2 の細胞内分布は、定常状態では細胞質に点状に散在することが判明したが、ストレス下では、患者細胞でのみ細胞質で凝集することが分かった。このことは、既報告における患者脊髄神経細胞において、p62 陽性凝集体が形成されることに類似している。また、本研究で、iPS 細胞から神経細胞を誘導することに成功したが、神経細胞の突起進展に関しては、患者細胞と対照細胞では、差異が少ないように見える。しかし、今後より定量的な評価を試みる。それらの神経細胞においても p62 や ubiquiline2 は細胞質優位に存在することが判明した。蛋白凝集については、今後の評価が必要である。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

確立した患者・対照の iPS 細胞由来神経細胞を用いて、形態的变化のより定量的な観察を行い、タンパク質分解障害である凝集体形成については免疫染色を用いて陽性細胞の出現頻度、程度を評価する。また、凝集体形成に、線維芽細胞のように酸化ストレスが促進因子となるかを検討する。さらに、ubiquilin2 および SQSTM1/p62 の発現促進・抑制、ユビキチン-プロテアソームまたはオートファジーの促進・抑制剤を用いて、どのような条件・薬剤添加により、凝集が減少・消失するかを観察することにより、関連する細胞内シグナルの同定、治療薬の検索を行う。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
Neurology	雑誌	2013年1月