

井上 治久

京都大学 iPS 細胞研究所
准教授

iPS 細胞を駆使した神経変性疾患病因機構の解明と個別化予防医療開発

§ 1. 研究実施体制

(1) 「井上」グループ

① 研究代表者: 井上 治久 (京都大学、准教授)

② 研究項目

- ・各疾患 iPS 細胞樹立、iPS 細胞評価
- ・疾患特異的 iPS 細胞を用いた神経変性疾患病的微小環境 (ニッチ) の再現・解析

(2) 「岩田」グループ

① 主たる共同研究者: 岩田 修永 (長崎大学、教授)

② 研究項目

- ・家族性および孤発性アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) 患者 iPS 細胞由来神経系細胞を用いた病態解析と治療薬スクリーニングのためのプラットフォームの開発
- ・新規病態制御分子の同定と機能解析および AD モデル動物に対する疾患の予防・治療実験

(3) 「戸田」グループ

① 主たる共同研究者: 戸田 達史 (神戸大学、教授)

② 研究項目

- ・疾患特異的 iPS 細胞由来細胞を用いた分子生物学的解析
- ・認知機能に関する網羅的遺伝子発現解析

(4) 「須原」グループ

① 主たる共同研究者: 須原 哲也 ((独)放射線医学総合研究所、グループリーダー)

② 研究項目

- ・モデルマウスにおける細胞移植による神経機能障害などの病態改善についての検討
- ・脳内イメージングに適したレポーター遺伝子の開発、及びその有用性評価

§ 2. 研究実施の概要

「井上」グループ

家族性および孤発性筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) iPS 細胞由来神経細胞で、RNA 結合タンパク質である Tar DNA-binding protein 43 kDa (TDP-43) の異常から細胞死に至る経路の解析をすすめ、家族性および孤発性 ALS に共通する病態分子基盤を同定した。

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) の解析については、細胞内・外の amyloid β ($A\beta$) 測定を含むアッセイ基盤を確立した。

「岩田」グループ

家族性および孤発性 AD iPS 細胞由来神経細胞で細胞内 $A\beta$ オリゴマーの蓄積がオートファジー/ライソソームシステムの破綻に起因する可能性を考え解析を進めたところ、現在までに複数のオートファジー関連分子の発現レベルが大きく変動し、この変動が $A\beta$ 産生阻害剤の添加により解除されることを明らかにした。

iPS 細胞由来神経細胞を簡便に純化する技術の開発を進めた。

「戸田」グループ

ヒト iPS 細胞由来神経細胞の分化成熟過程において AD 関連分子 $A\beta$ の $A\beta 42/A\beta 40$ 比が経時的に低下することを見出してきたが、同様に経時的に発現が変化する遺伝子をマイクロアレイにより同定し、 $A\beta 42/A\beta 40$ 比を制御している遺伝子の候補を培養細胞系にて特定した。培養細胞系において、ALS 原因遺伝子 TDP-43 の発現誘導により発現が変化する遺伝子、遺伝子群と、スプライシングが変化する遺伝子をマイクロアレイにより同定した。TDP-43 遺伝子変異を持つ ALS 患者 iPS 細胞由来運動神経細胞について、健常群と比べ発現が変化する遺伝子、遺伝子群と、スプライシングが変化する遺伝子をマイクロアレイにより同定した。

「須原」グループ

AD をはじめとする認知症の治療を目的として、iPS 細胞由来の神経前駆細胞をマウスの脳内に移植し、前駆細胞が神経細胞に分化する様子を生きた状態で非侵襲的に画像化する技術の開発に取り組んでいる。また、分化した神経細胞の活動を薬剤で選択的に制御し、神経活動の変化を画像化する試みも行なっている。前年度までの研究では、iPS 細胞が神経に分化した時に人工分子を発現するように遺伝子を組み込むことで、この分子に特異的に結合するポジロン断層撮影 (PET) 薬剤を用いて、神経に分化した iPS 細胞由来の移植細胞を画像化することに成功した。平成 25 年度は、この人工分子に対するアゴニスト薬剤を薬効量で投与することにより、神経細胞に分化した移植細胞の活性を変えられることを、機能的 MRI により検証した。これに加えて、人工分子の遺伝子を組み込んだ iPS 細胞由来の培養神経細胞でも、アゴニスト薬剤添加で神経活動が顕著に変わることを確認した。

iPS 細胞由来の神経前駆細胞を脳内に移植した際、認知症中核病理にいかなる影響を及ぼす

かを、生体脳でモニタリングする必要がある。そこで各種認知症で中核病変を形成するタウタンパクの凝集体を PET で画像化するための薬剤開発に取り組み、タウ病変モデルマウスならびに AD 患者、非 AD 型認知症患者でタウ蓄積を可視化することに世界に先駆けて成功した。この研究成果は平成 25 年 9 月に学術誌「Neuron」で発表され、国内外で多くの反響を呼んだ。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1. 浅井 将, 城谷 圭朗, 近藤 孝之, 井上 治久, 岩田 修永, “孤発性および家族性アルツハイマー病患者由来 iPS 細胞を用いたアルツハイマー病の病態解析”, *日本薬理学雑誌* **143**: 23-26, 2014
2. Kondo T, Asai M, Tsukita K, Kutoku Y, Ohsawa Y, Sunada Y, Imamura K, Egawa N, Yahata N, Okita K, Takahashi K, Asaka I, Aoi T, Watanabe A, Watanabe K, Kadoya C, Nakano R, Watanabe D, Maruyama K, Hori O, Hibino S, Choshi T, Nakahata T, Hioki H, Kaneko T, Naitoh M, Yoshikawa K, Yamawaki S, Suzuki S, Hata R, Ueno S, Seki T, Kobayashi K, Toda T, Murakami K, Irie K, Klein WL, Mori H, Asada T, Takahashi R, Iwata N, Yamanaka S, and Inoue H., “Modeling Alzheimer’s Disease with iPSCs Reveals Stress Phenotypes Associated with Intracellular A β and Differential Drug Responsiveness”, *Cell Stem Cell*. **12**: 487-496, 2013 (doi:10.1016/j.stem.2013.01.009)
3. Egawa N, Kitaoka S, Tsukita K, Naitoh M, Takahashi K, Yamamoto T, Adachi F, Kondo T, Okita K, Asaka I, Aoi T, Watanabe A, Yamada Y, Morizane A, Takahashi J, Ayaki T, Ito H, Yoshikawa K, Yamawaki S, Suzuki S, Watanabe D, Hioki H, Kaneko T, Makioka K, Okamoto K, Takuma H, Tamaoka A, Hasegawa K, Nonaka T, Hasegawa M, Kawata A, Yoshida M, Nakahata T, Takahashi R, Marchetto MC, Gage FH, Yamanaka S, and Inoue H., “Response to Comment on “Drug Screening for ALS Using Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells”, *Sci Transl Med*. **5**: 188lr2, 2013.(doi:10.1126/scitranslmed.3005697)
4. Fumuro T, Matsuhashi M, Mitsueda T, Inouchi M, Hitomi T, Nakagawa T, Matsumoto R, Kawamata J, Inoue H, Mima T, Takahashi R, Ikeda A., “Bereitschaftspotential augmentation by neuro-feedback training in Parkinson's disease”, *Clin Neurophysiol*. **124**: 1398-1405, 2013. (doi:10.1016/j.clinph.2013.01.026)
5. Inoue H, Nagata N, Kurokawa H, and Yamanaka S., “iPS cells: A game changer for future medicine”, *EMBO J*. **33**: 409-17, 2014. (doi:10.1002/emboj.201387098)
6. Hirata N, Nakagawa M., Fujibayashi Y, Yamauchi K, Murata A, Minami I, Tomioka M, Kondo T, Kuo T-F, Endo H, Inoue H, Sato S, Ando S, Kawazoe Y, Aiba K, Nagata K, Kawase E, Chang Y-T, Suemori, H, Eto K, Nakauchi H, Yamanaka S, Nakatsuji N,

- Ueda K, and Uesugi M., “A Chemical Probe that Labels Human Pluripotent Stem Cells”, *Cell Rep.* **6**: 1165-1174, 2014. (doi:10.1016/j.celrep.2014.02.006)
7. Ueda T, Seki T, Katanazaka K, Sekiguchi K, Kobayashi K, Kanda F, and Toda T., “A novel mutation in the C2 domain of protein kinase C gamma associated with spinocerebellar ataxia type 14”, *J Neurol.* **260**: 1664-1666, 2013. (doi:10.1007/s00415-013-6916-0)
8. Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, Fukuda Y, Ichikawa Y, Date H, Ahsan B, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Iwata A, Goto J, Yamamoto Y, Komata M, Shirahige K, Hara K, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Takashima H, Kuwano R, Watanabe H, Ito M, Sobue G, Soma H, Yabe I, Sasaki H, Aoki M, Ishikawa K, Mizusawa H, Kanai K, Hattori T, Kuwabara S, Arai K, Koyano S, Kuroiwa Y, Hasegawa K, Yuasa T, Yasui K, Nakashima K, Ito H, Izumi Y, Kaji R, Kato T, Kusunoki S, Osaki Y, Horiuchi M, Kondo T, Murayama S, Hattori N, Yamamoto M, Murata M, Satake W, Toda T, Dürr A, Brice A, Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S, Shults CW, Tanner CM, Kukull WA, Lee VM, Masliah E, Low PA, Sandroni P, Trojanowski JQ, Ozelius L, Foroud T, and Tsuji S., “Mutations in COQ2 in familial and sporadic multiple-system atrophy”, *N Engl J Med.* **369**: 233-244, 2013. (doi:10.1056/NEJMoa1212115)
9. D-1 Maruyama M, Shimada H, Suhara T, shinotoh H, Ji B, Maeda J, Zhang MR, Trojanowski JQ, Lee VMY, Ono M, Masamoto K, Takano H, Sahara N, Iwata N, Okamura N, Furumoto S, Kudo Y, Chang Q, Saido TC, Takashima A, Lewis J, Jang MK, Aoki I, Ito H, and Higuchi M., “Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls”, *Neuron.* **79**: 1094-1108, 2013. (doi:10.1016/j.neuron.2013.07.037)

(3-2) 知財出願

- ①特許出願件数 (国内2件)
②CREST 研究期間累積件数 (国内3件)