

## 患者由来人工多能性幹細胞を用いた Fabry病の臓器特異的障害機序の解明

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科心筋症病態制御講座 特任助教  
吉満 誠



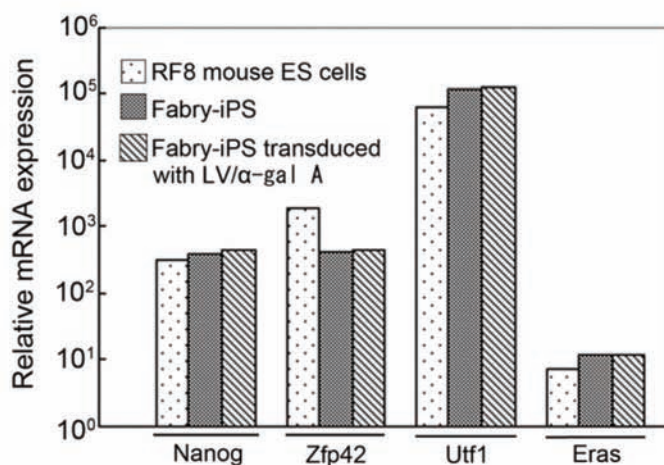
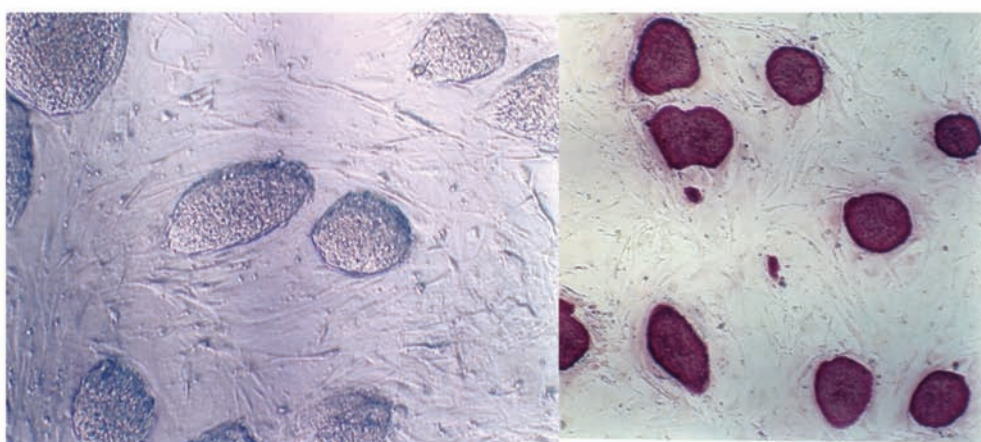
### 【研究の目的・意義】

本研究はFabry患者由来iPS細胞を用い、心筋細胞、神経細胞を含めた様々な組織細胞への分化誘導を試みることで、これまで技術的・倫理的に困難であった組織細胞別  $\alpha$ -gal A遺伝子の発現、酵素活性、基質の蓄積を詳細に検討し、その臓器特異的障害の病態解明を目指すものである。

### 【研究経成果】

#### ＜FabryマウスでのiPS細胞樹立・遺伝子治療法の検討＞

Fabry病マウスモデルより樹立した線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いてリプログラム因子であるOct3/4, Sox2, Klf4を導入し、iPS細胞を樹立した（図a）。その細胞におけるES細胞特異的遺伝子の発現（図c）や免疫不全マウスを用いた奇形腫の形成も確認した。さらに心筋細胞や造血細胞への分化誘導にも成功し、Fabry病マウスモデルを用いた安全な遺伝子治療法の開発を目指している。



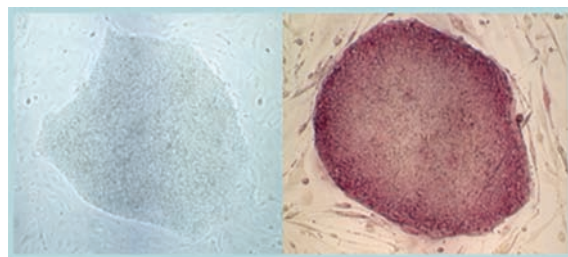
a. Fabryマウス由来iPS

b. アルカリフォスファターゼ染色

c. FabryマウスiPS細胞での幹細胞特異的遺伝子（Nanog, zfp42, utf1, eras）発現の確認

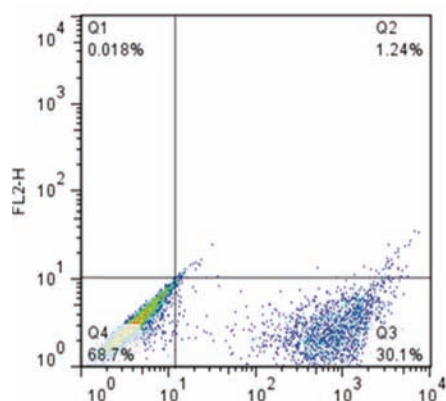
### <Fabry病iPS細胞樹立>

まず正常ヒト皮膚線維芽細胞よりiPS細胞を樹立することを試みた。右図のようにヒトES細胞様で、アルカリフォスファターゼ染色陽性となる細胞を樹立することができた。



当講座では、比較的稀な疾患とされる心Fabryを含むFabry病患者の酵素補充療法を含めた診療を日常的に行っている。課題名“ファブリー病及び心ファブリー患者由来細胞からのiPS細胞の樹立、iPS細胞を用いたファブリー病の病態解明・細胞／遺伝子治療法の確立”で鹿児島大学臨床倫理審査申請を行い、承認を得た。また遺伝子組み換え技術を用いるため第二種使用等拡散防止措置機関承認を得た。上記倫理委員会承認後、これまで高齢者心Fabry病患者1名より同意を得た後、皮膚生検を行い、皮膚線維芽細胞を樹立できた。

Fabry iPS細胞の樹立にあたり、ヒトOct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4 cDNAをレトロウイルスベクターを用いて導入した。遺伝子導入効率確認のために用いたGFP発現を確認した。



左に示すようにGFP発現効率は30%程度と、正常ヒト皮膚線維芽細胞での発現効率（～80%）と比較し著しく低下していた。心Fabry病発症患者は高齢であることが多く、皮膚線維芽細胞増殖能も低下していることが多い。本症例でも増殖能の低下が遺伝子導入効率の低下を招いていると考えられる。

本細胞を用いて心Fabry iPS細胞の樹立を試みたが、樹立できなかった。

近年iPSの樹立にあたり、樹立効率を改善するさまざまな試薬が試みられている。PD0325901, CHIR99021, Thiazovivin, SB431542を組み合わせる試みは樹立できなかった。さらにはレンチウイルスベクターを用いてp53の発現をノックダウンすることで樹立効率の改善を試みたが、樹立することができなかった。

### 【本研究の意義／今後の展望】

本研究はFabry病及び心Fabry病疾患特異的iPS細胞樹立を目指した初めての試みであった。本研究はFabry病における臓器特異的障害の発症機序の解明を目指した研究であった。心臓のみに障害を起こす心Fabry病患者由来iPS細胞を用い、心筋への分化誘導を促すことで、典型的Fabry病との違いについて検討予定であった。正常皮膚線維芽細胞からはiPS細胞を樹立することができたが、心Fabry病患者由来線維芽細胞からの樹立は、さまざまな条件で検討したが、できていない。Fanconi貧血のような先天性疾病疾患ではiPS細胞樹立が極めて困難なことが知られているが、Fabry病では明らかでない。今後引き続き他の心Fabry病、ないしは典型的Fabry病患者由来の線維芽細胞からのiPS細胞樹立を試みる。さらにはiPS細胞樹立に必要な因子の検討も併せて行っていきたい。