

次世代シーケンス技術と iPS 細胞技術を活用した心不全の個別化医療の確立

小室一成

東京大学大学院医学系研究科 循環器内科学

【研究の背景】

心筋症は、ゲノム異常が原因で心筋細胞に起こる異常のために発症することが推測されているが、その病態については不明な点が多く、病態に根ざした治療薬の開発は進んでいない。心筋症に対する革新的な治療薬を開発するためには、心筋症患者のゲノムおよび心筋細胞の異常を解明することが必要である。一方、本邦において心筋症患者のゲノム異常を戦略的に解析した研究は無く、ゲノム異常がヒト心筋細胞に与える影響を解明することはこれまで技術的に不可能であった。

【目 的】

本邦における心筋症患者のゲノムおよび心筋細胞の異常を戦略的に把握することである。そのために本研究では、ゲノム解析を通じて本邦の心筋症患者で認められるゲノム異常を明らかにし、心筋症 iPS 由来心筋細胞解析を通じて、心筋症患者の心筋細胞で認められる異常を明らかにし、ゲノム異常が細胞異常を引き起すメカニズムを明らかにする。

【方法】

収集した症例の中から明らかな二次性心筋症を除外し、既知心筋症原因遺伝子のスクリーニングを実施する。遺伝子変異が明らかになっている症例については、iPS 由来心筋細胞を用いて心筋症患者の遺伝子変異が心筋細胞の異常を引き起すメカニズムを解明する。

【結果】

収集した症例の中から明らかな二次性心筋症を除外し、23 症例から採取したゲノムに関して既知心筋症原因遺伝子のスクリーニングを実施した。健常ボランティア 2 名、健常血縁者 1 名、肥大型心筋症患者 5 名、拡張型心筋症患者 6 名から樹立した iPS 細胞の合計 22 クローンを、全く同一のプロトコル・スケジュールで 3 回以上分化誘導～解析を行った。肥大型心筋症患者から樹立した iPS 細胞を分化誘導した心筋細胞特異的の形態をハイコンテンツ解析機器で解析したところ、疾患特異的に出現するパラメータがいくつか存在することが明らかになった。

【考察】

全国に多くの心筋症患者が存在するが、戦略的なゲノム解析は実施されておらず、ゲノム変異が明らかとなっても、適切な治療法の選択に影響を与えるようなエビデンスが存在しなかった。その要因の一つとして心筋症には変異の報告のある対象遺伝子が多く、臨床医が解析対象遺伝子を容易に選択できなかったことが挙げられる。本研究で実施している既知遺伝子に対するターゲットリシーケンスは、1 回の実験で複数患者から採取したゲノムについて同時に 95 遺伝子の変異解析を行うことが可能であり、解析対象遺伝子の選択に悩まされることが少なくなる。対象遺伝子を任意に変更することも可能であり、柔軟性も高い。ターゲットリシーケンス手法を確立し、解析を容易に実施可能なパイプラインを構築することで、一般の臨

床医によるゲノム解析に対するハードルを下げる可以考虑。我々が独自に開発した培養液および低分子化合物を用いた心筋細胞への分化誘導系は、組成が明らかな成分のみを利用しているため、再現性高く iPS 細胞を分化誘導することが可能であり、また三次元培養を利用しているため、将来的に化合物スクリーニングに利用するために十分量の心筋細胞をえることができる点で優れている。我々が開発した心筋細胞への分化誘導系を利用することで、多くの iPS 細胞クローンを心筋細胞へと分化誘導できたが、クローン毎に心筋細胞への分化効率は異なっており、病態解明に利用するクローンを吟味するとともに、化合物濃度や 3D 培養条件を微調整することでより効率よく心筋細胞を誘導し、研究に利用することが有用であると考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

心筋症のゲノム解析パイプラインを構築し、既知変異遺伝子のターゲットリシーケンス法を確立した。また、心筋症患者から樹立した iPS 細胞を解析することで疾患特異的に出現する表現型を同定し、疾患表現型を指標としたスクリーニング系を構築した。ゲノムに関しては対象症例を拡大して引き続き解析することで、日本の心筋症におけるゲノム変異情報を蓄積し、さらなる疾患概念の構築、早期診断、良い治療法の開発へと繋げていく必要がある。iPS 細胞に関しては引き続き対象症例を蓄積するとともに、製薬企業と共同での創薬研究を推進していくことが重要である。今後ゲノム解析から得られた情報と iPS 細胞から得られた情報、さらに臨床現場から得られた情報を統合することで、心筋症患者の治療に現実的に貢献できる研究を進めていくことが可能である。