

# iPS細胞を使った 筋ジストロフィーに対する 治療研究の最前線

@愛知県筋ジストロフィー協会 勉強会

2024.11.16

京都大学iPS細胞研究所

Center for iPS Research and Application (CiRA)

臨床応用研究部門 准教授

櫻井英俊

# 自己紹介

1973年 岐阜県生まれ  
現在50歳

2008年～ 京都大学iPS細胞研究  
センター特定研究員

2010年～ **京都大学iPS細胞研究所**  
櫻井研究室主任研究員として現在に至る

2001年～ 大学院博士課程  
大学院生の間、京都大学および  
神戸理化学研究所・発生再生科  
学総合研究センター（西川伸一  
研究室）に国内留学

1998年 名古屋大学医学部  
卒業 内科医になる

根本治療できない疾患の多  
さに、何とかせねばと思う

新聞記事でマウスES細胞から  
血管が作製されたことを知る

治らない病気を  
治すことを  
研究しろ

本当に治療  
できる技術  
を開発して  
ください

2005年～ 名古屋大学医学部  
にて研究員

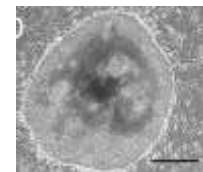
2007年 ヒトiPS細胞が開発される



西川伸一先生



山中伸弥先生



# 本日の内容



ノーベル賞を受賞した「iPS細胞」とはどんな細胞なのか？なぜこれほど期待されているのか？

## 1. iPS細胞の成り立ち

## 2. 実際の応用例

## 3. 筋ジストロフィーの治療法開発

の3部構成で、なるべく分かりやすくお伝えしたいと思います。

# 1. iPS細胞の成り立ち

# iPS細胞とは？



induced Pluripotent Stem cell

人工多能性幹細胞 = 人工万能細胞

(学術書等)

(一般向け)

**多能性** : あらゆる細胞になることができる

**幹細胞** : 同じ能力を持ったまま、いくらでも増える細胞

**「何にでもなれて、いくらでも増える細胞」**

# 最初の万能細胞はES細胞であった

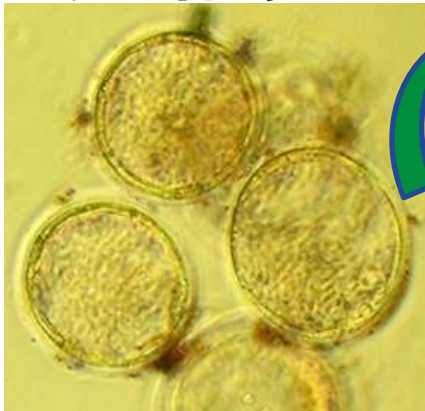
1998年、ヒトES細胞の培養に成功

Embryonic = 受精卵の    Stem = 幹

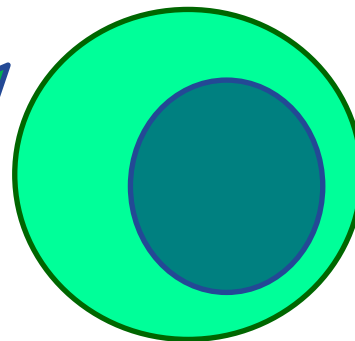
生命の元である受精卵を壊してしまう事への倫理的な問題がある

他人の細胞であるため、移植しても拒絶反応の問題がある

受精卵



ES細胞



何にでもなれる  
いくらでも増える

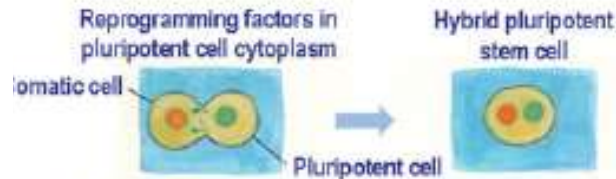
取り出して作る

# しかし、ヒトES細胞には問題点が存在する



受精卵からではなく、大人の体の細胞から、ES細胞と同じような細胞が作れないだろうか？

くっつける



薬剤にひたす



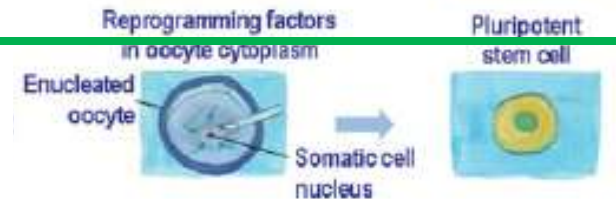
どの遺伝子？

遺伝子を入れる



クローン技術

体の細胞の核を卵子に入れる



羊の乳腺が羊に！

ドリー



Ian Wilmut 先生

# 初期化因子の探索

仮説:

初期化(受精卵の状態に戻す)因子

ES細胞で { 特異的に発現  
重要な働き

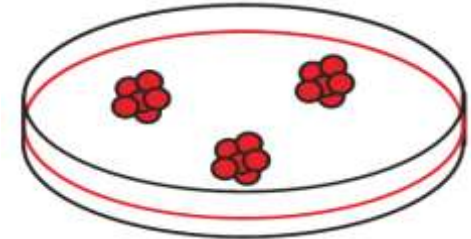


24 候補因子

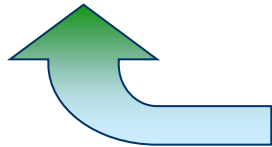


全部入れる

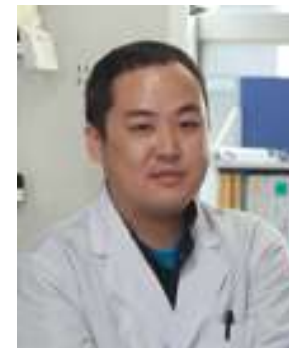
どうやって候補を絞るか？



ES類似万能細胞？



皮膚の細胞を培養

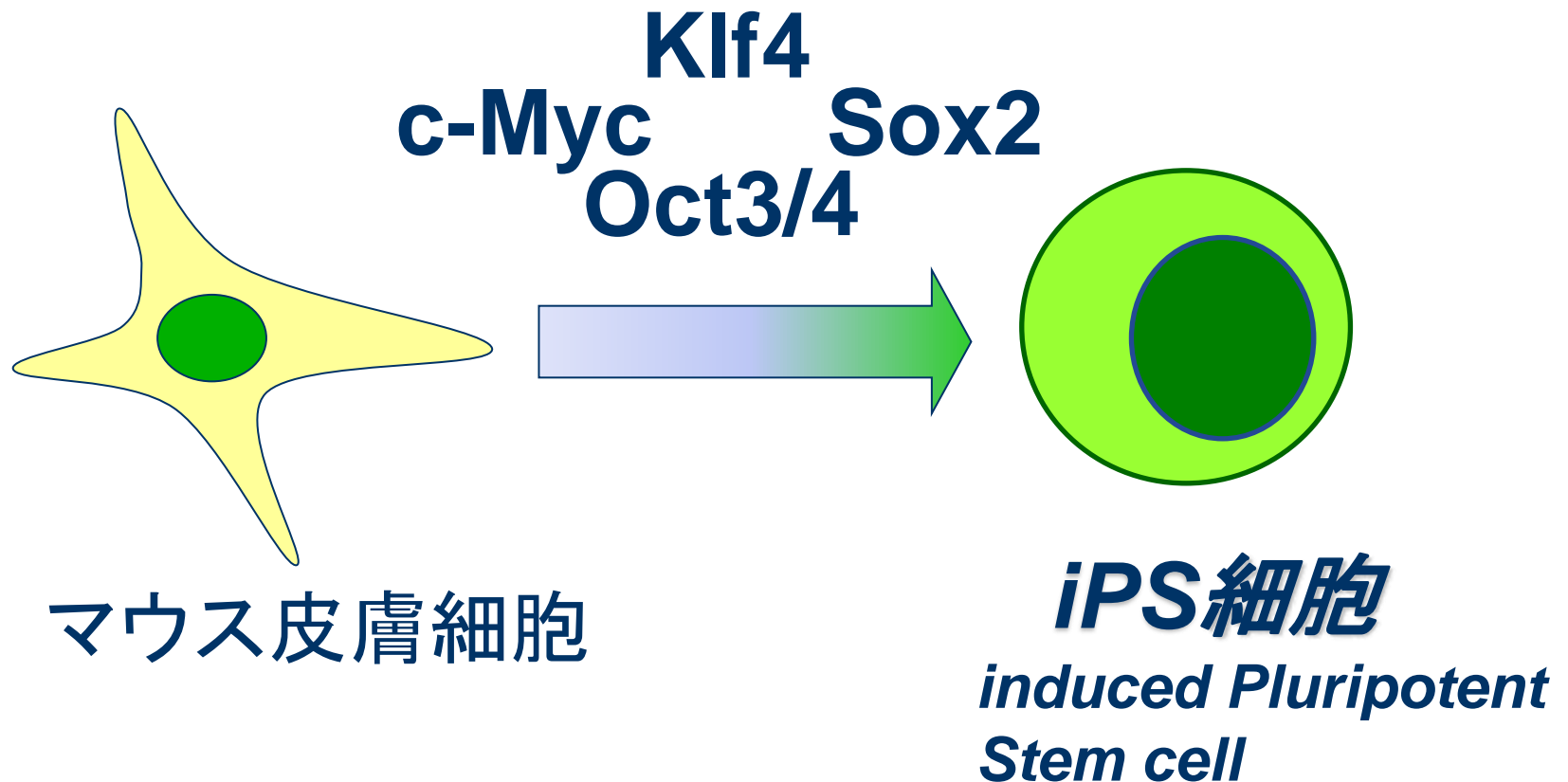


1個ずつ抜いてみよう。

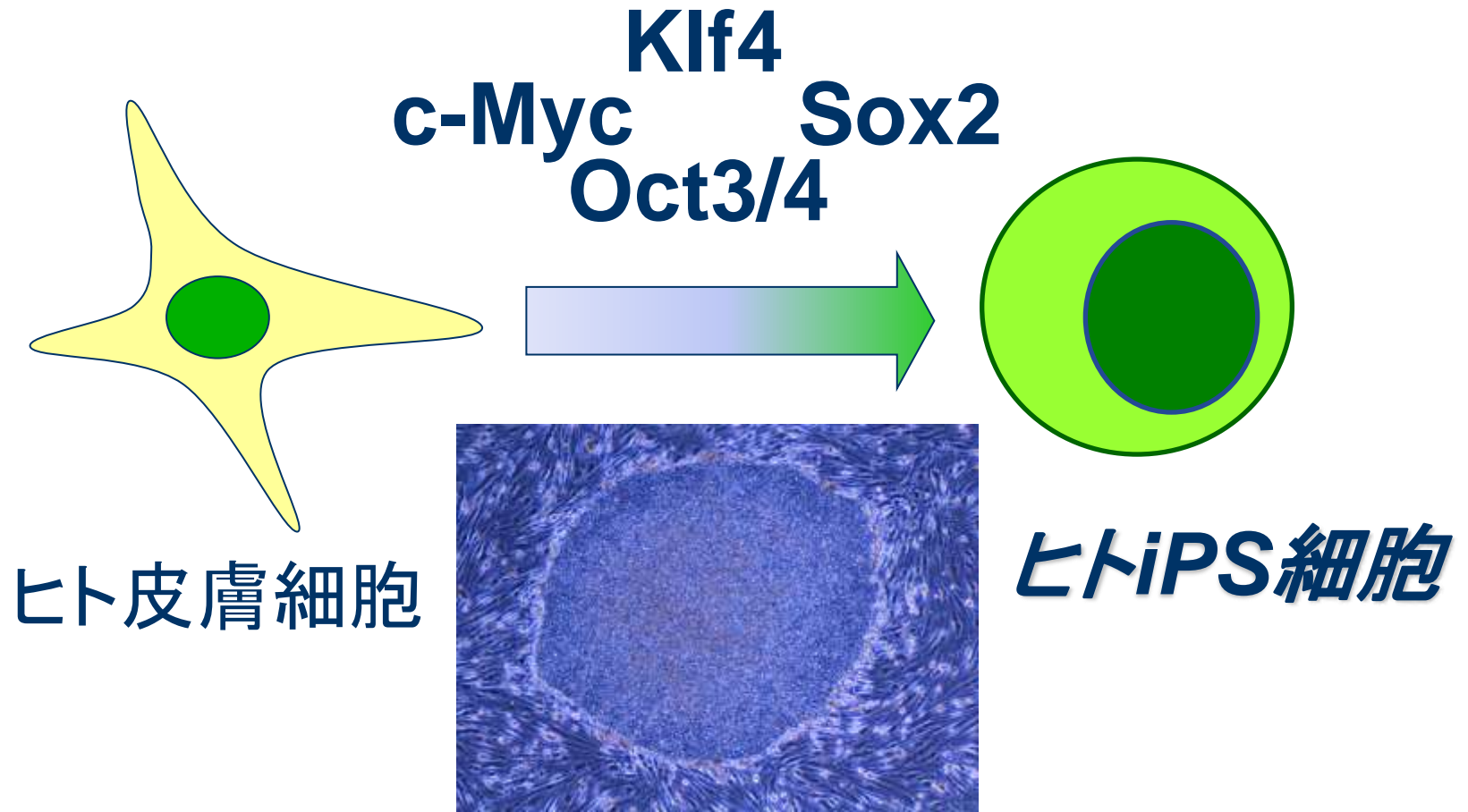
高橋和利博士



# 2006年、マウスiPS細胞誕生

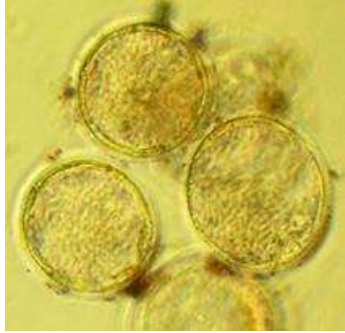


# 2007年、ヒトiPS細胞誕生！



# 2種類の多能性幹細胞

受精卵



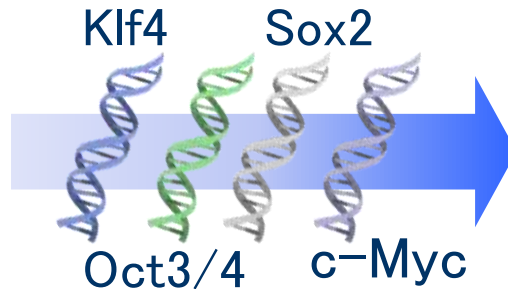
ES細胞



1981: マウス  
1998: ヒト

どの細胞にでもなれる  
いくらでも増える

体の細胞



iPS細胞

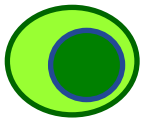
2006: マウス  
2007: ヒト

誰からでも作れる！

# iPS細胞に何ができるのか？

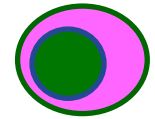
プロ野球選手

iPS細胞 ←

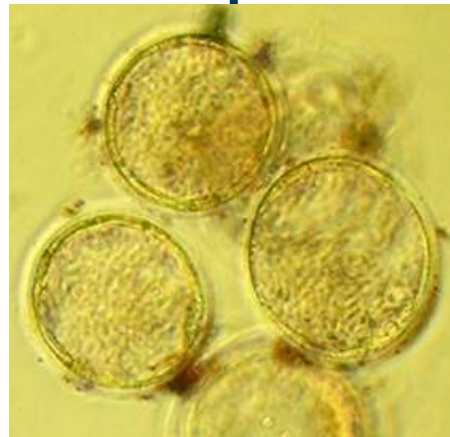
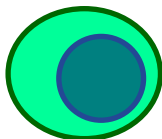


バスケット  
ボール選手

→ iPS細胞



ES細胞 ←



野球上手？

バスケ上手？



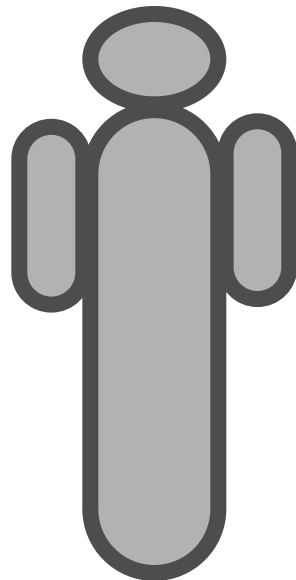
# iPS細胞に何ができるのか？

多くの人(健常者・患者さん)  
から作製が可能

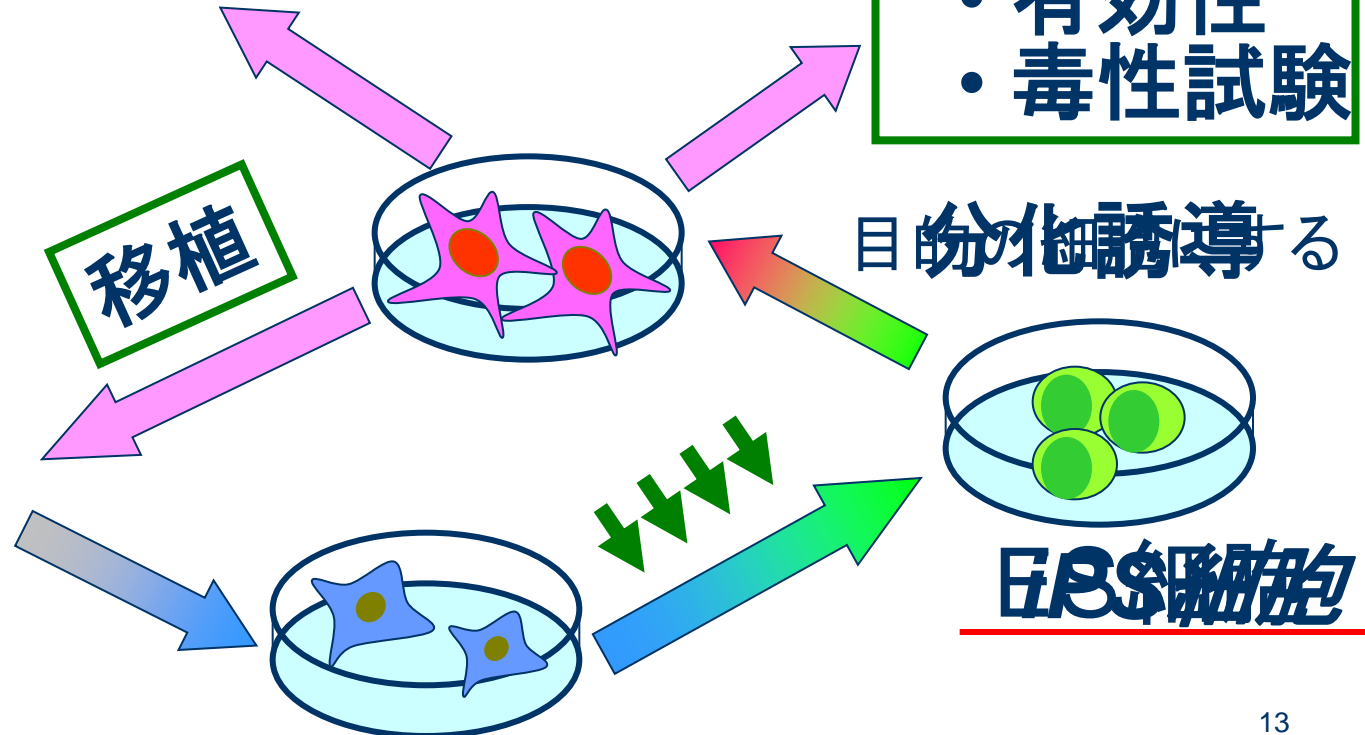
拒絶反応 (-)  
受精卵の使用 (-)

病気の解明(疾患iPS)

創薬  
・有効性  
・毒性試験



患者さん



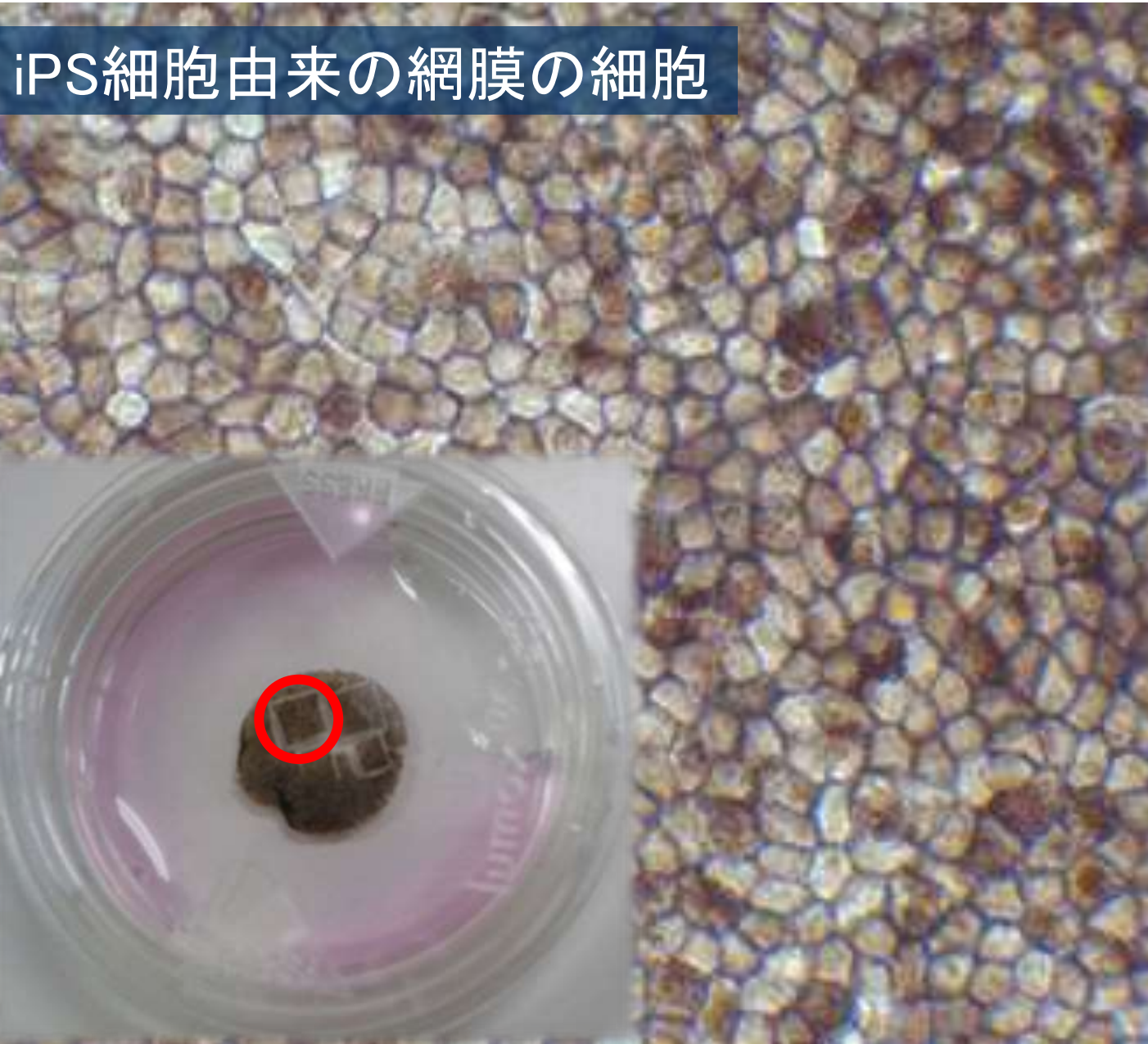
# 2010年4月、京都大学iPS細胞研究所(CiRA) 設立！



## 2. 実際の応用例

# 世界初の応用 ～加齢黄斑変性～

iPS細胞由来の網膜の細胞



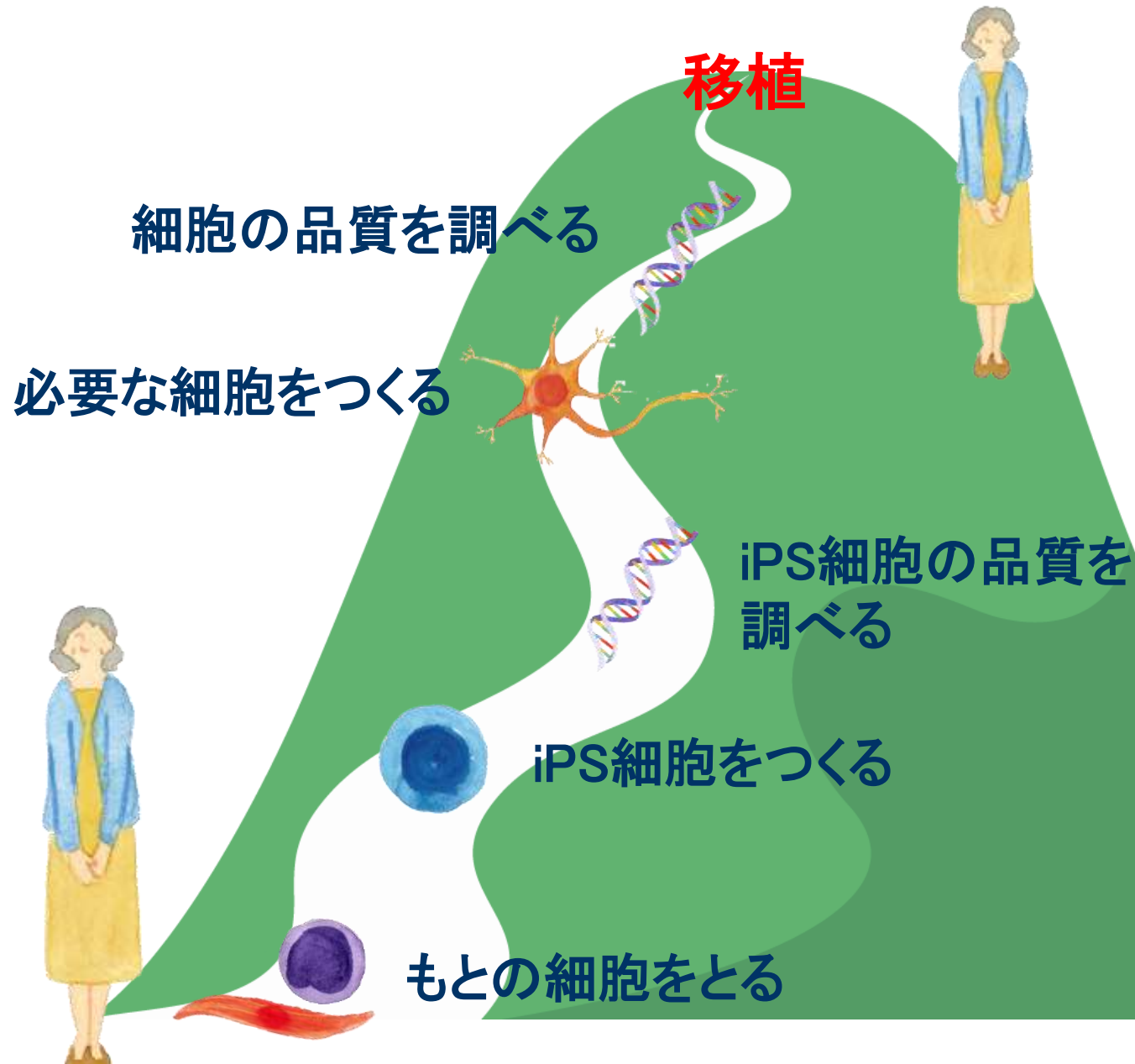
細胞治療が  
安全に  
実施できること  
を示しました



高橋政代博士  
(理化学研究所)



# iPS細胞が使われるまでの長旅

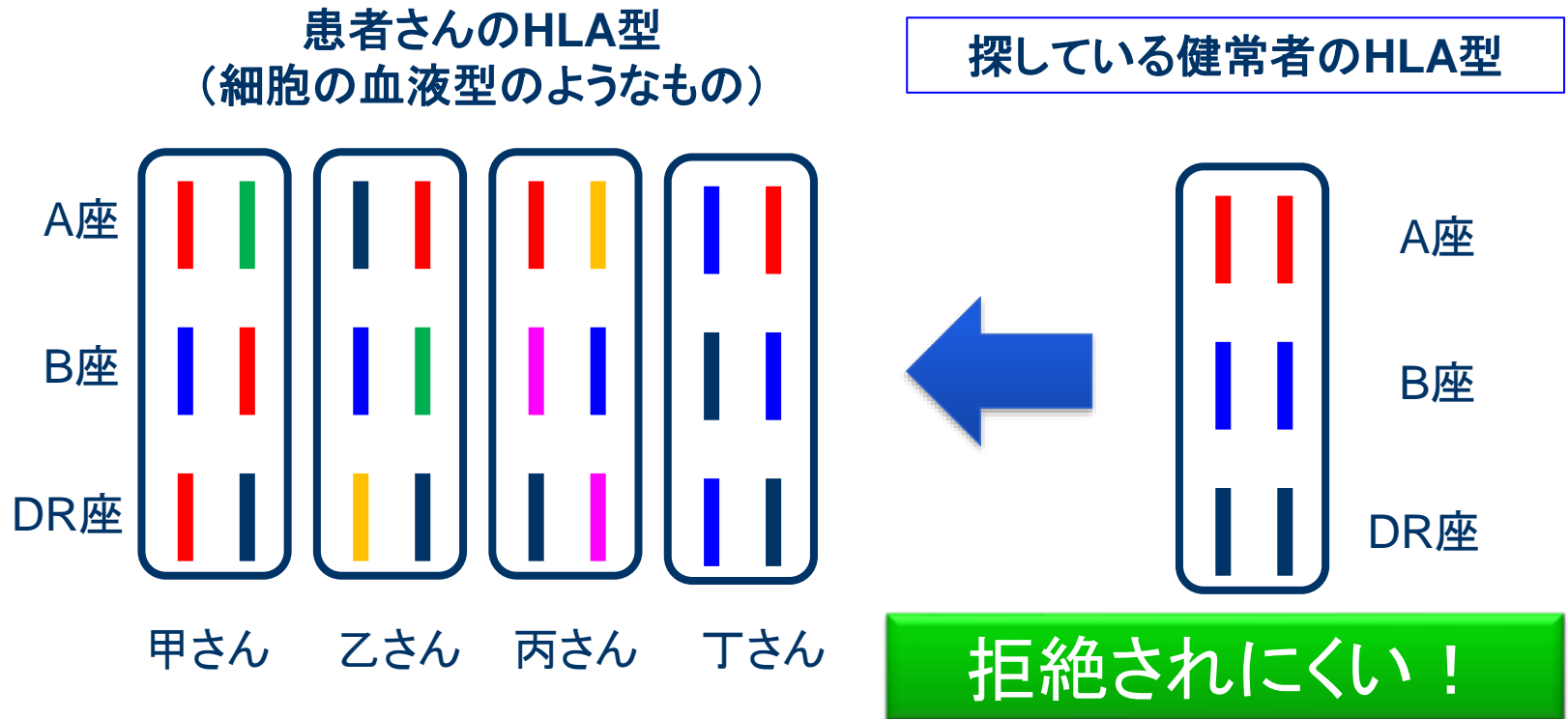


# iPS細胞を予め作って、備蓄する

## 特殊な細胞の型を持つ方から血液を採取



# 健常な方のiPS細胞ストックの設立へ



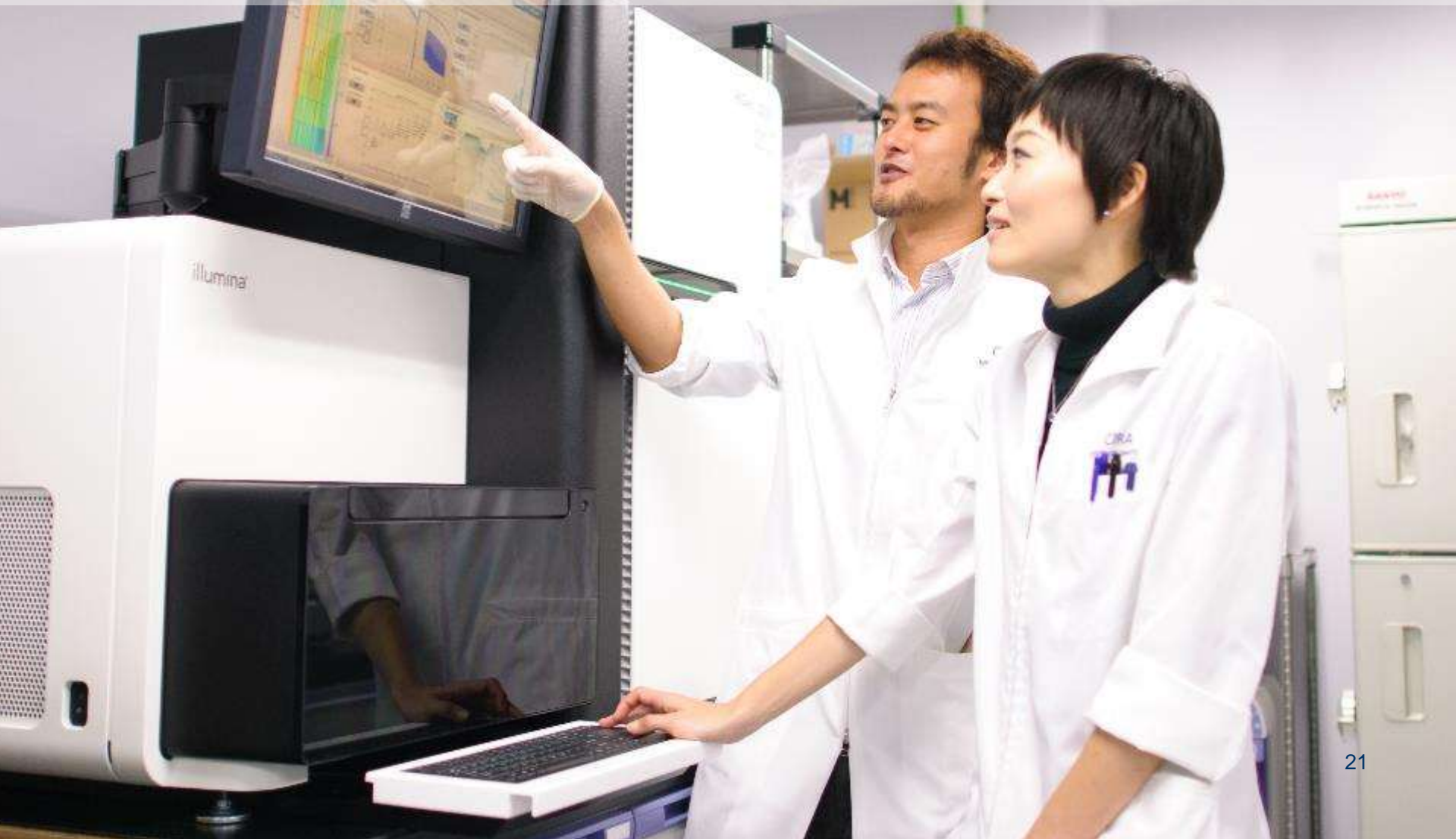
•HLA型3座ホモ75株で我が国の80%をカバー

患者さんあたりのコストが低い  
利点: 急性期疾患に適応可能(脊髄損傷など)  
徹底的な品質評価可能

# iPS細胞を予め作って、備蓄する 医療用のiPS細胞を作る



# iPS細胞を予め作って、備蓄する 品質を評価する



# iPS細胞を予め作って、備蓄する

## 冷凍保存



# 他家移植による臨床研究



2016年6月6日 4機関協定記者会見

CiRA  
理化学研究所  
神戸中央市民病院  
大阪大学附属病院

## 他人のiPS初移植

理研など 網膜の病気の患者に

理化学研究所などのチームは28日、失明の恐れがある網膜の病気の患者に、他人のiPS細胞を網膜の細胞に変えて移植する手術を実施した。iPS細胞を使った世界初の手術（2014年）は患者本人からのiPS細胞を使った。他人のiPS細胞を臨床で利用したという報告は世界で初めて。▼7面＝医療利用へ

試金石  
他人のiPS細胞を使えば、患者本人のものに比べて準備にかかる費用や時間が大幅に減らせ、多くの人を受けられる医療に近づく。治療が難しい多くの病気で他人のiPS細胞を使った臨床の計画が各大学などで進められており、今回が順調に進めば、治療の可能性が広がる。

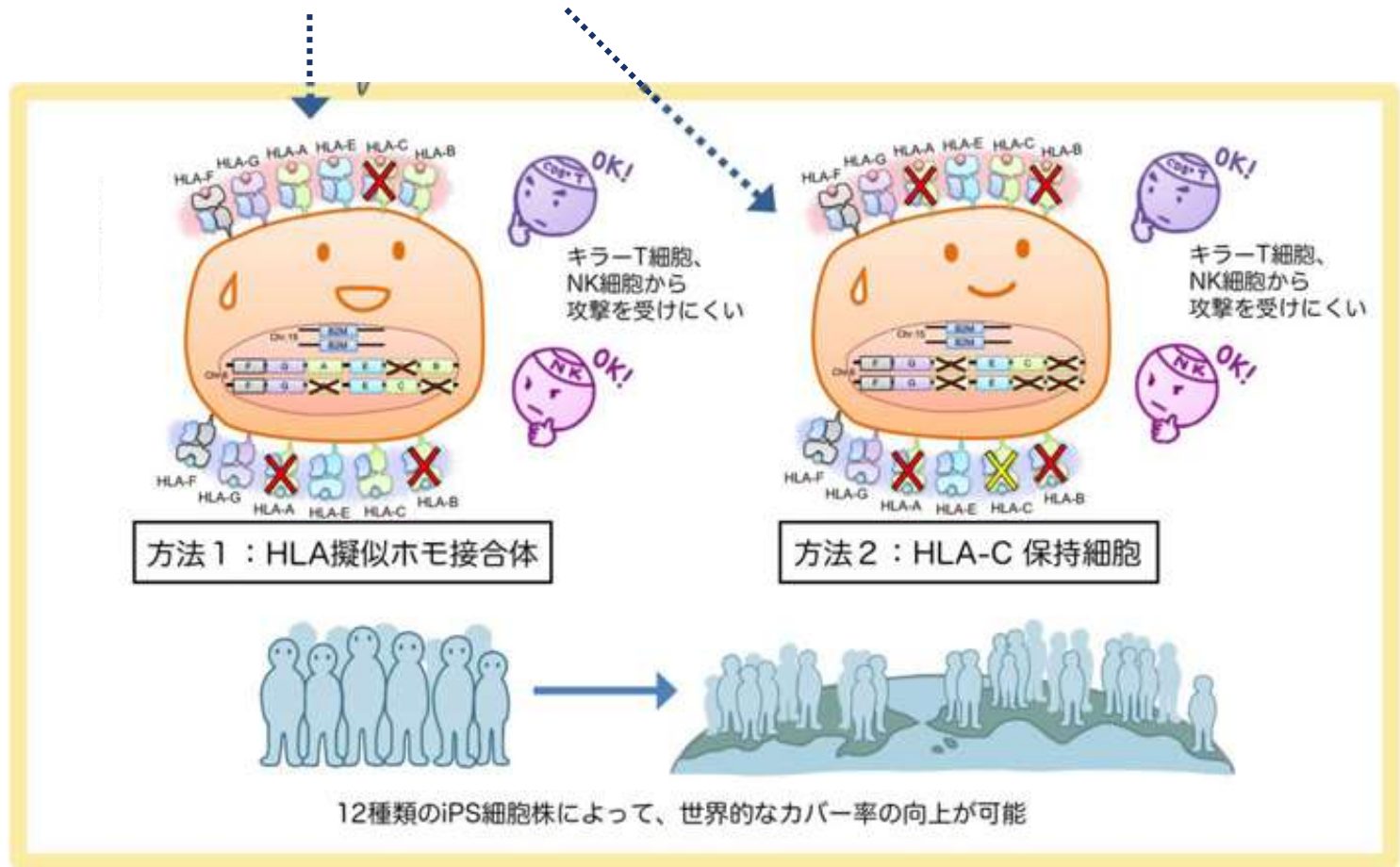
理研の高橋政代（プロジェクトリーダー）を中心に研究を進め、手術は神戸市立医療センター中央市民病院（神戸市中央区）で実施。同病院の栗本康夫眼科部長が執刀した。京大iPS細胞研究所（CiRA）、山中伸弥所長が備蓄する「iPS細胞ストック」の細胞を、網膜の細胞に変化させ、目の難病「加齢黄斑変性」の

2017/3/29  
朝日新聞

2017年3月28日  
手術実施！

# さらに拒絶反応の少ない“ユニバーサルiPS細胞”作製への取り組み

## ゲノム編集

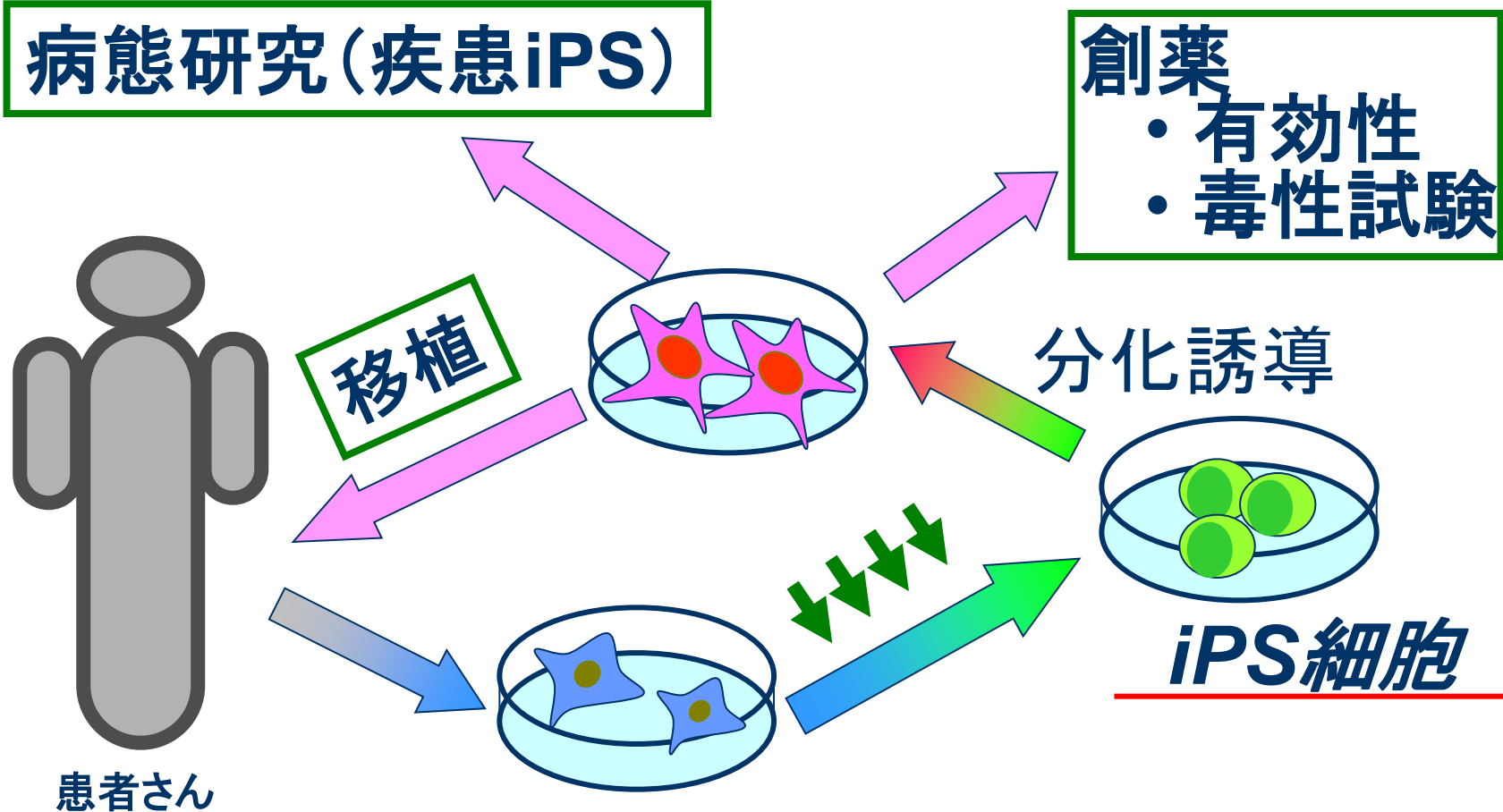




# 3. 筋肉難病の治療法開発に向けて

## A) 再生医療の取り組み

# iPS細胞に何ができるのか？



# デュシェンヌ型筋ジストロフィー



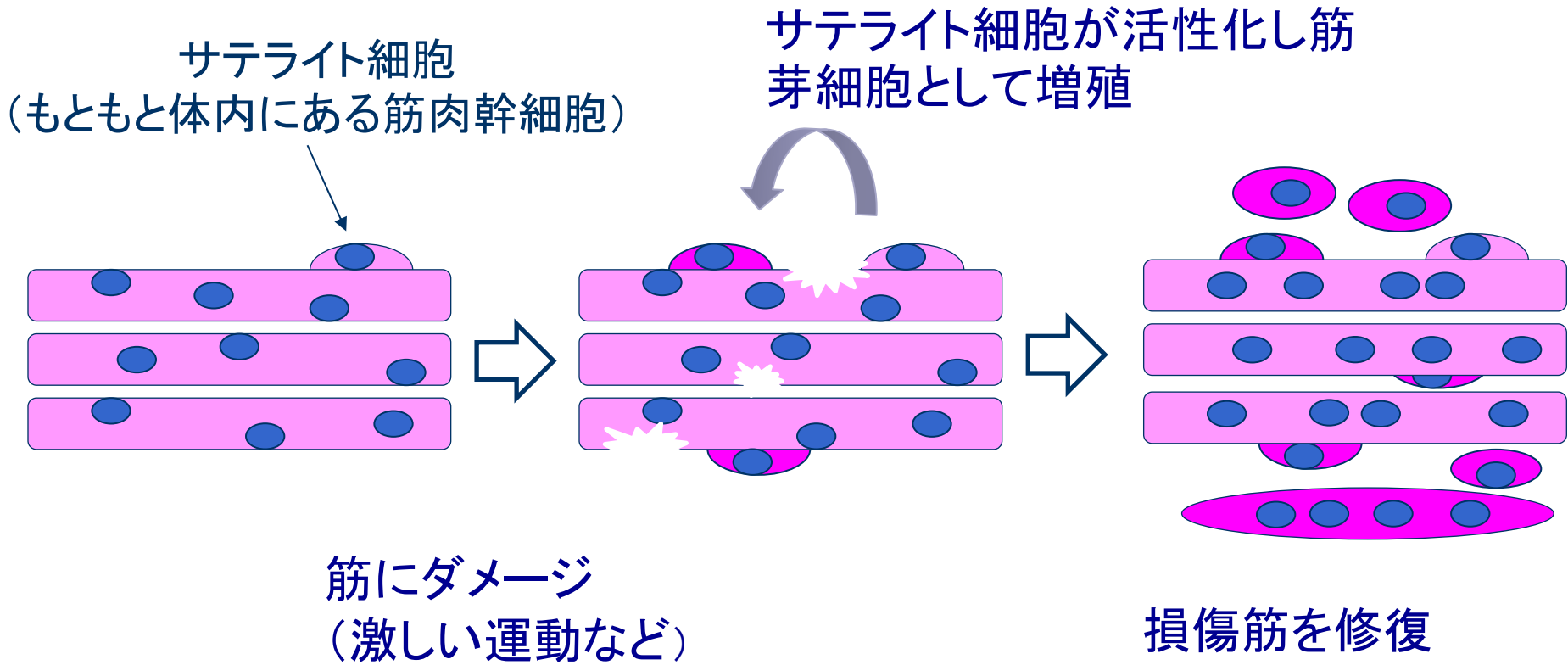
小児発症の筋ジストロフィーとしては最も患者数が多い。

男児3,500人に1人の割合で起こる。

X染色体のジストロフィン遺伝子の異常により生じる。

3歳くらいから筋力が低下し、10代で車椅子、20代くらいで人工呼吸器管理になる。

# サテライト細胞が骨格筋再生を担う

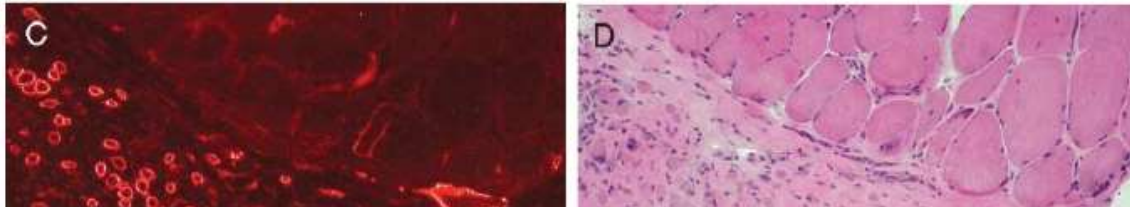


サテライト細胞 = 細胞移植治療のカギ

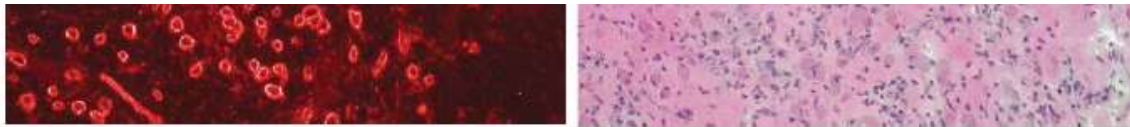
# 父親からのサテライト細胞移植の試み

赤:ジストロフィン

J. Neuropathol. Exp. Neurol. 2006



iPS細胞からサテライト細胞を作り出せないか？



筋線維が再生し、ジストロフィンを発現



全体には広がっていない・サテライト細胞になっていない



採取・培養した時点で  
筋芽細胞となり、幹細胞としての能力を失う

# iPS細胞からサテライト細胞のような筋肉幹細胞を作り出せないか？

iPS細胞

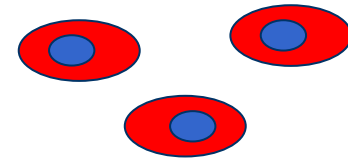


この時点では、  
何にでもなれる



分化誘導

筋肉幹細胞

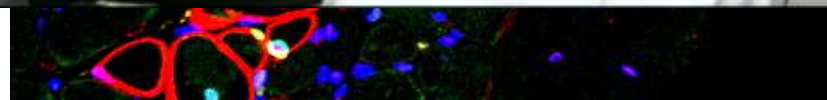


筋肉だけになる

移植しても、神経や肝臓  
など、ほかの臓器になっ  
てしまうので困る。

筋肉の再生医療に  
使える！

# 以前の患者会でヒトiPS細胞から筋肉幹細胞を作り出すことに成功したとお話ししました



赤:ジストロフィン  
緑:ヒトの細胞

H27.3.17 NHK  
「おはよう日本」より  
31

Zhao et al. *Stem Cell reports*, 2020

iPS細胞から筋肉幹細胞はできましたが、  
臨床応用にはまだ課題があります

1. 筋肉幹細胞を選り分ける方法

2. 生物由来原材料を使わずに作る方法

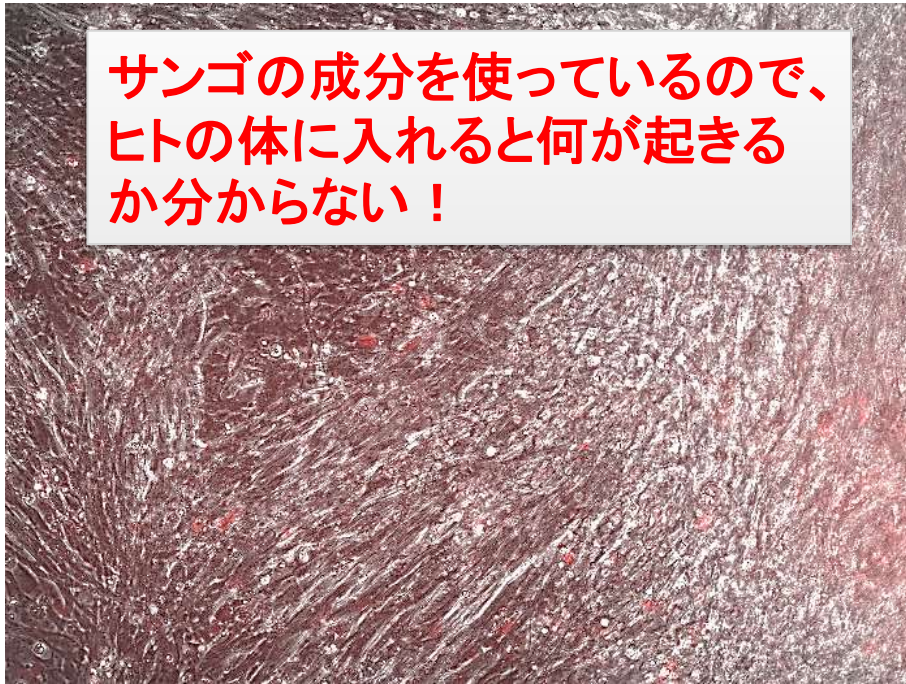
3. 運動機能の改善を判定する方法

4. どうやって臨床研究を進めるか



# 最初の報告では、Myf5陽性細胞が赤く光るように遺伝子に細工をして筋肉幹細胞を選別していました

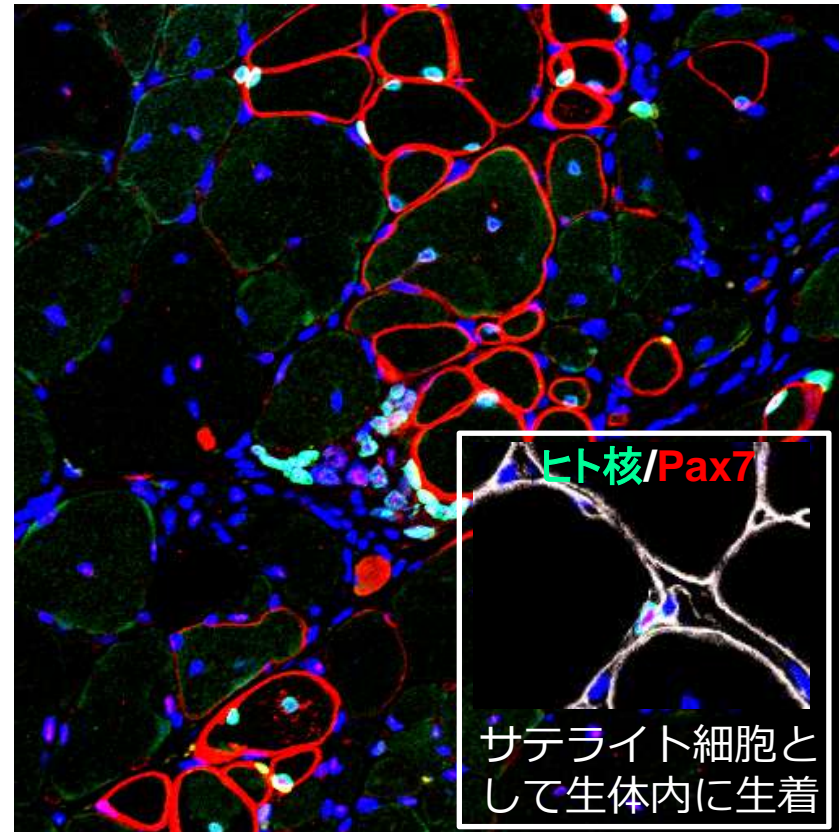
Day84 (分化12週目)



赤く光っているのがMyf5陽性細胞

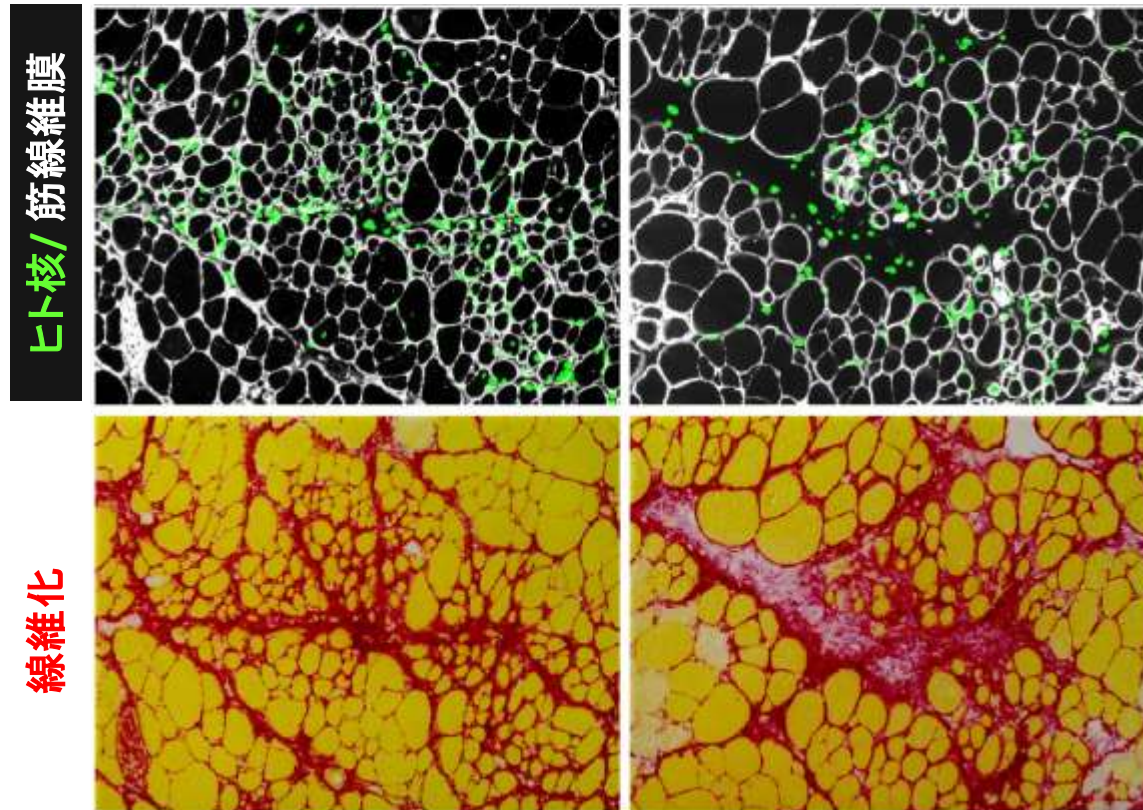
光っている細胞だけ分離して、DMDモデルマウスに移植

Myf5陽性細胞を移植して4週後



赤:ジストロフィン  
緑:ヒトの細胞

# しかしこの方法で選り分けた細胞では、 線維化を引き起こすことがあります



この副作用を乗り越えるため、全く新しい  
細胞を選り分ける方法を開発しています

# iPS細胞から筋肉幹細胞はできましたが、臨床応用にはまだ課題があります

1. 筋肉幹細胞を選り分ける方法

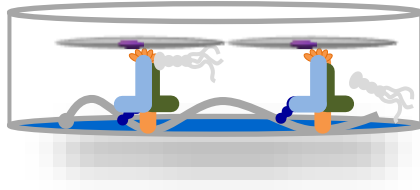
2. 生物由来原材料を使わずに作る方法

3. 運動機能の改善を判定する方法

4. どうやって臨床研究を進めるか

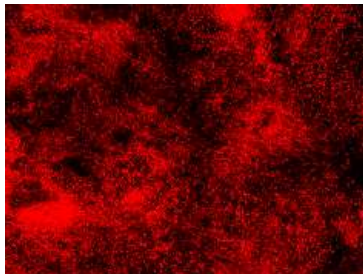
# 阪大・関口先生らは、人工合成できる次世代型ラミニンを開発し、それを活用する方法を確立しました

これまで使っていたのはマトリゲルというマウスのガン細胞からとってきたコーティング剤

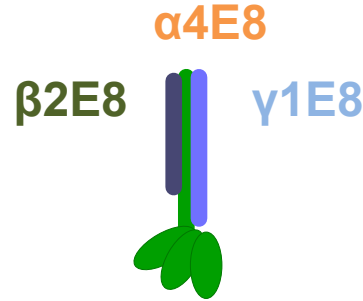


マトリゲル

筋肉の出来具合  
(赤色)



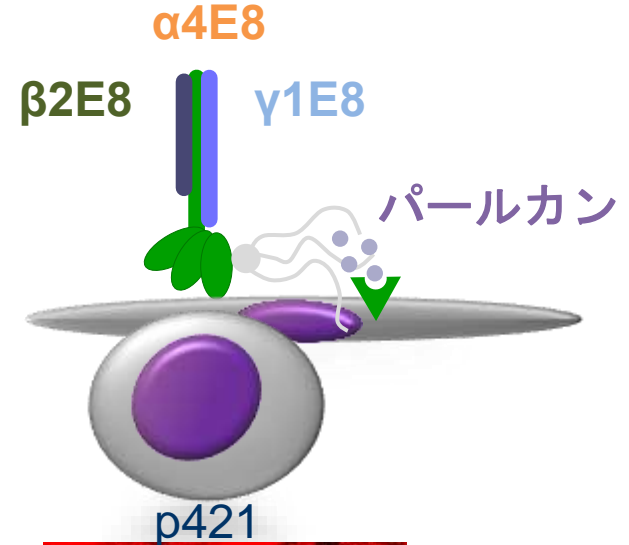
ラミニン421E8  
(421)



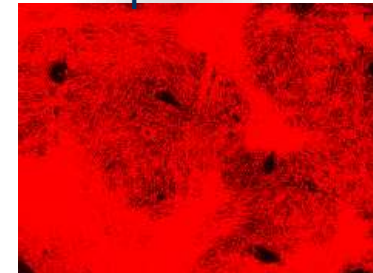
421



ラミニン421E8-パールカン  
(p421)



p421

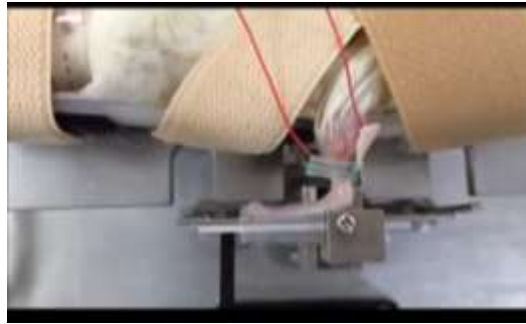


# iPS細胞から筋肉幹細胞はできましたが、臨床応用にはまだ課題があります

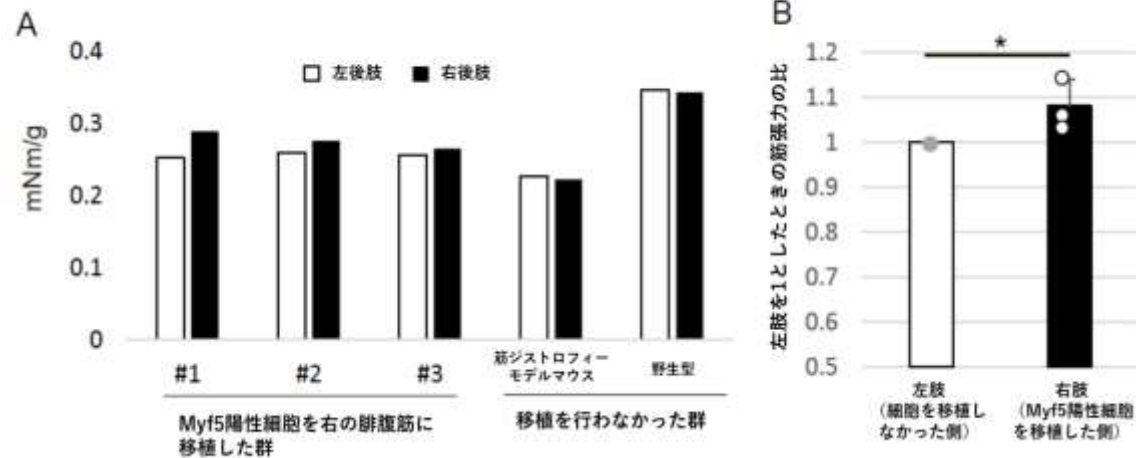
1. 筋肉幹細胞を選り分ける方法
2. 生物由来原材料を使わずに作る方法
3. 運動機能の改善を判定する方法
4. どうやって臨床研究を進めるか

# 運動機能改善の評価法は大きな課題でした

電気刺激装置による筋収縮トルク測定



移植後6週間での最大筋収縮能の評価⇒ごくわずかしか改善が見られない



①ジストロフィン補充がDMD筋の運動機能に及ぼす効果を正確に評価できていない

②移植後の長期的な治療経過が解析できていない

# 最大筋収縮力を長期間測定しましたが、移植による改善効果は認めませんでした

3群間比較研究：

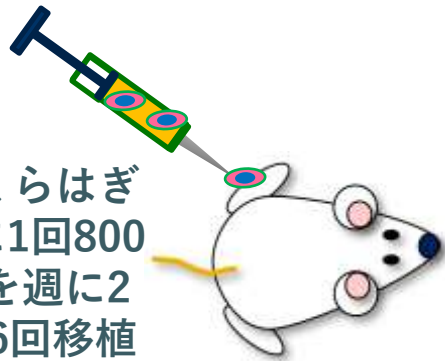
野生型マウス (WT群)

未処置のDMDマウス (DMD群)

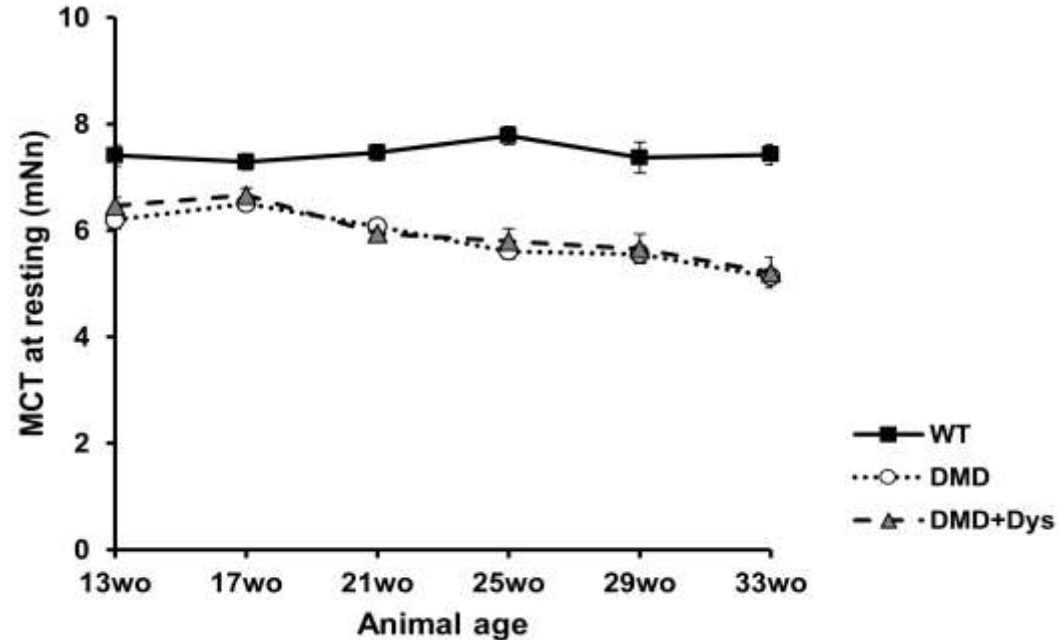
ジストロフィンを補充したDMDマウス (DMD+Dys群)

実験間の細胞の性質を一定にするため、実験間で誘導効率にばらつきが出るiPS細胞由来骨格筋幹細胞ではなく、ヒトの筋芽細胞を不死化させたHu5/KD3という細胞株を使用

腓腹筋（ふくらはぎの筋肉）内に1回800万個の細胞を週に2回ずつ計5~6回移植



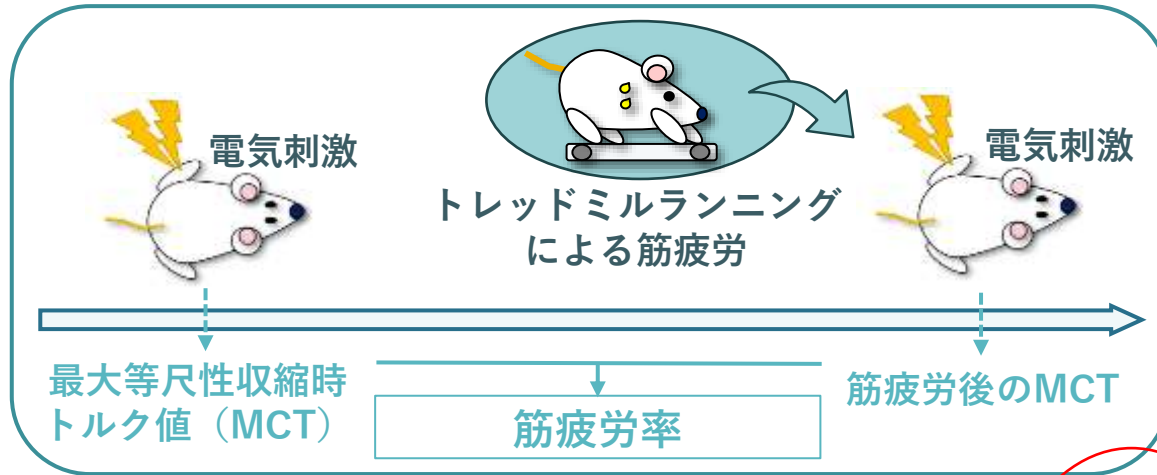
8週後より4週間おきに、麻酔下で電気刺激による最大筋収縮力 (MCT) を測定



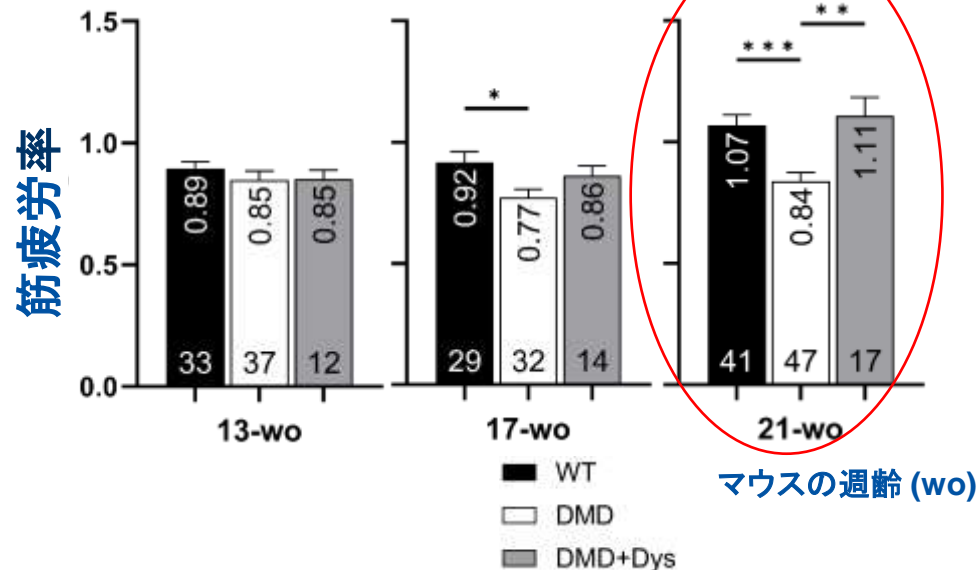
免疫不全DMDモデルマウス (5週齢)

# 運動後に筋力が低下する「筋疲労率」の方が改善効果をよく表していました

## 運動機能評価の新規確立

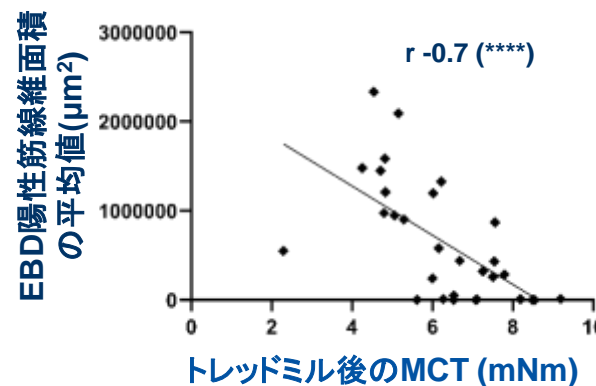
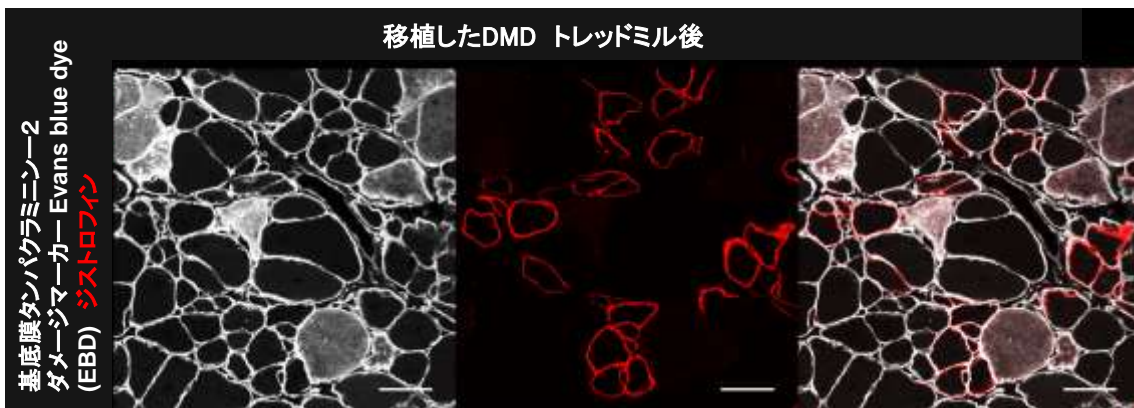
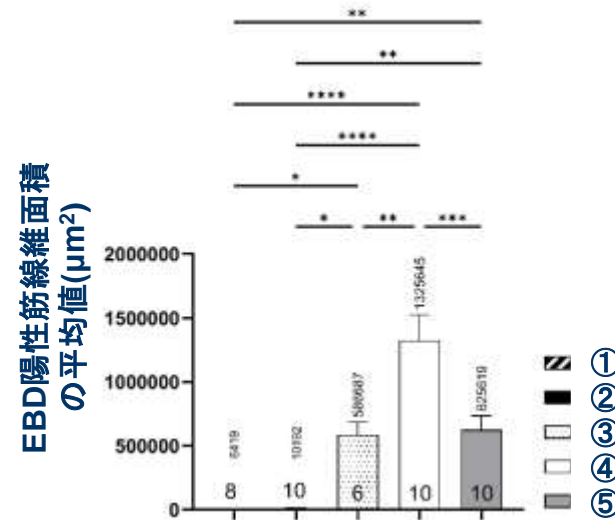
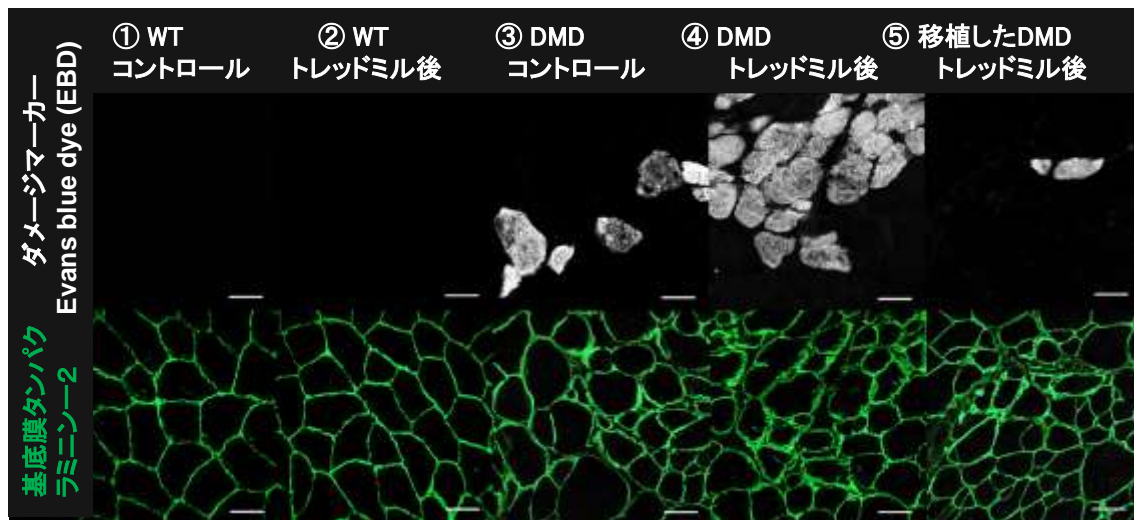


1分間に9メートルの早さ  
で15分間ランニング





# ジストロフィンが補充された筋線維は運動によるダメージを受けなくなります



# 筋肉には遅筋と速筋と呼ばれるタイプがあり、機能が違います

赤身＝遅筋



持久力に優れて、ずっと動き続けることができる

I型筋線維

白身＝速筋



DMDではこちらの速筋から障害される

瞬発力に優れて、素早く力強く動くことができる

II型筋線維

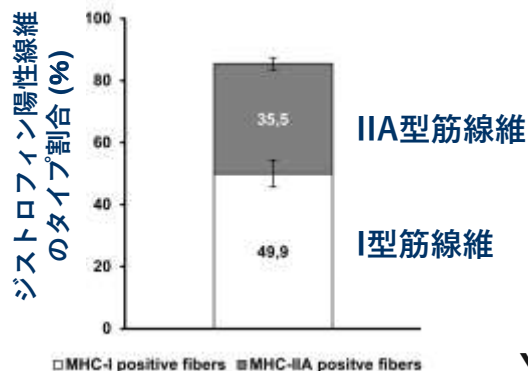
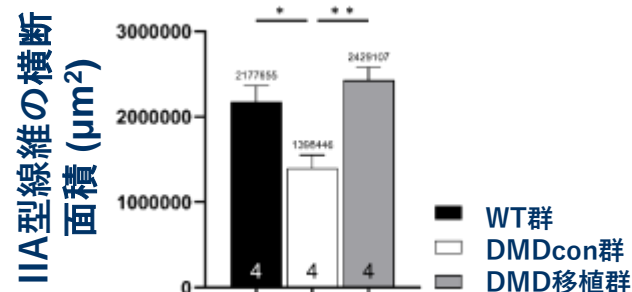
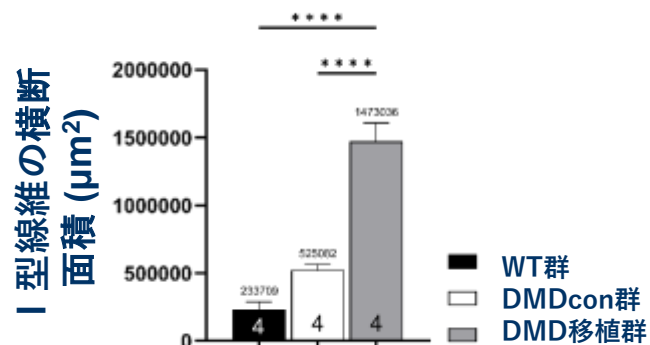
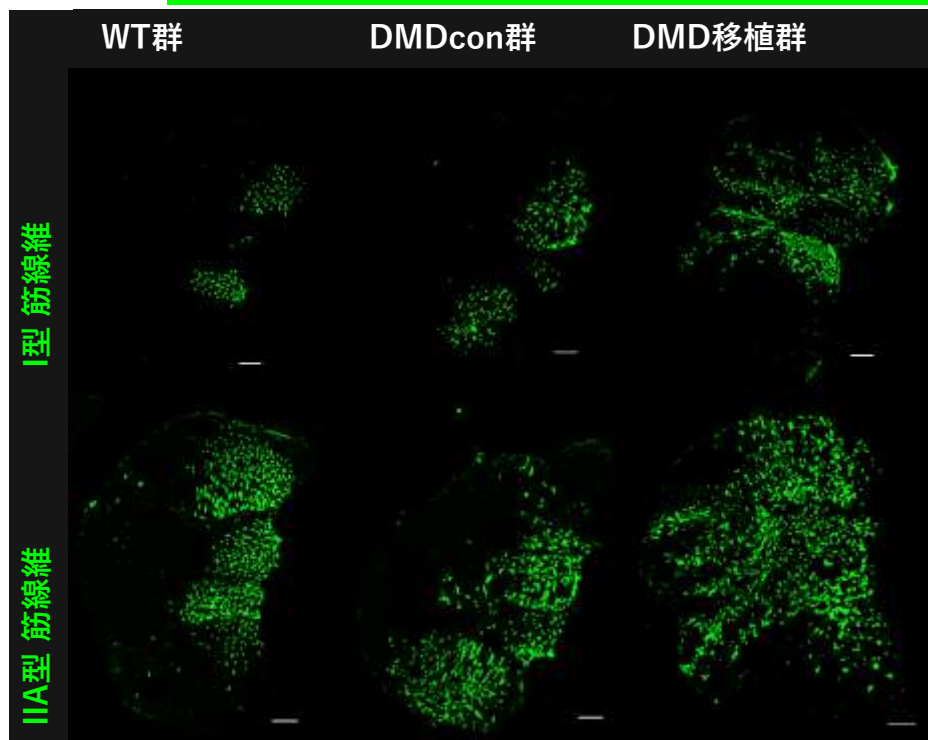
IIA型筋線維

IIX型筋線維

IIB型筋線維

# DMD筋にジストロフィンが補充されると、持久性筋線維が優先的に再生されることを発見しました

タイプI線維＝遅筋線維、タイプIIA線維＝速筋線維の中でも持久性の高い線維



85.4%  
持久性筋繊維

この変化によって持久力が向上している！  
さらに壊れにくくなっている可能性もあり！

# iPS細胞から筋肉幹細胞はできましたが、臨床応用にはまだ課題があります

1. 筋肉幹細胞を選り分ける方法
2. 生物由来原材料を使わずに作る方法
3. 運動機能の改善を判定する方法
4. どうやって臨床研究を進めるか

# DMD患者さんにとって、手の機能、指の機能は極めて重要だと考えます

筋肉幹細胞は筋肉に直接注射しないと生着しません



八雲病院のリハ室でのホッケー (2016年10月)

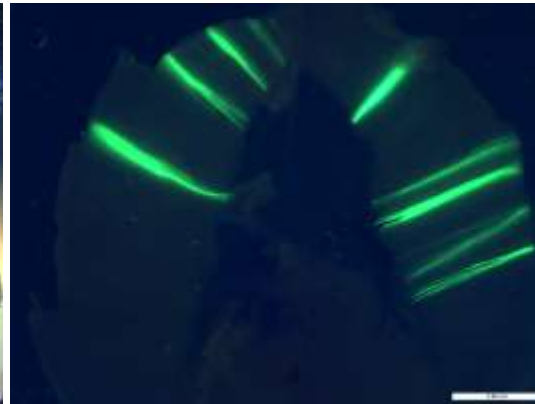
1. 最初の臨床研究は、大量の細胞を移植することはできないので、指の機能の改善を狙います。
2. それがうまくいけば、次に腕から手にかけての機能改善を狙います。
3. 最もうまくいったとして、横隔膜や肋間筋に移植し、呼吸機能の保持を狙います。

# マウスのサテライト細胞をDMDモデルマウスの横隔膜に移植することは可能であることも証明しています

移植3週後に解析

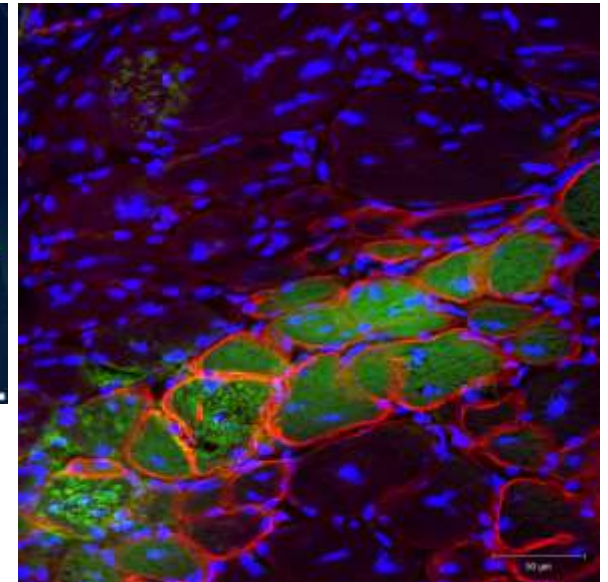


明視野



緑の蛍光(移植された細胞が広がっている様子)

核 移植細胞 ジストロフィン



# 筋ジストロフィーへの iPS細胞を用いた細胞移植治療戦略

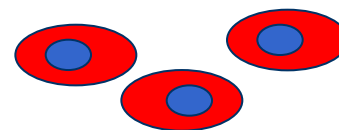
健常者由来  
iPS細胞



ユニバーサル  
iPS細胞

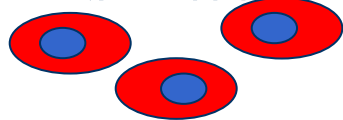


筋肉幹細胞



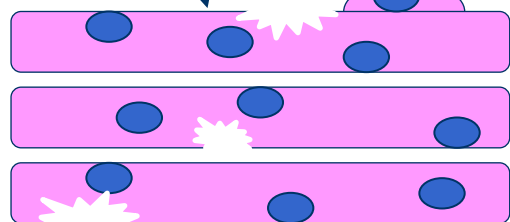
ジストロフィン以外の原因遺伝子であっても、理論上はほとんどの筋ジストロフィー、ミオパチーに応用が可能

iPS細胞由来  
筋肉幹細胞

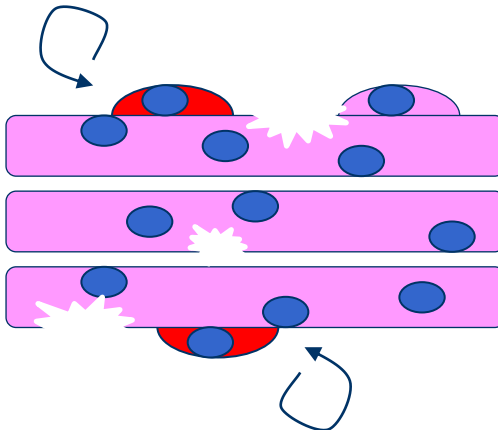


移植

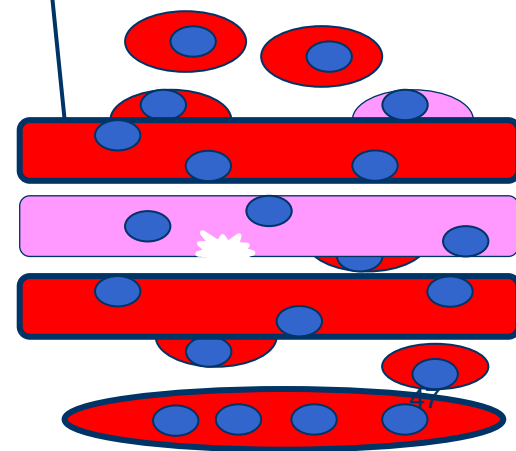
患者さんの  
サテライト  
細胞



筋ジストロフィー骨格筋



ジストロフィン

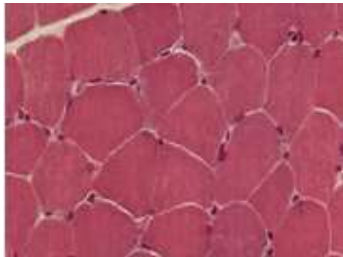


# ウルリッヒ型先天性筋ジストロフィー (UCMD)

- **COL6** 遺伝子の変異が原因
- **6型コラーゲン (COL6) が欠損している**
- 6型コラーゲンは、筋幹細胞の再生に関与していることが報告されている。

Urciuolo et al. Nature communications, 2013

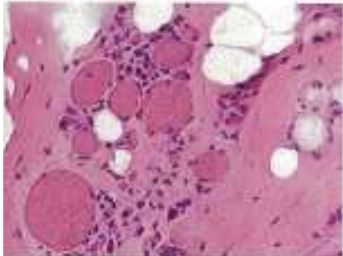
健常者の  
筋肉



・筋線維が同じような太さで均一に並んでいる。

・筋線維の隙間は非常に少ない。

UCMD患者  
の筋肉

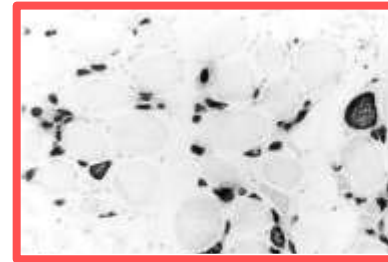


・筋線維の太さがバラバラで小さいものが非常に多い。

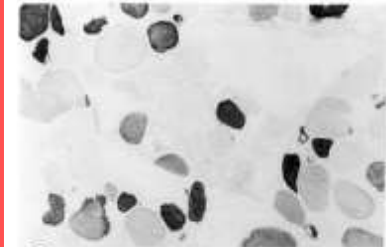
・筋線維の隙間が広がっていて線維化や脂肪化と呼ばれる状態である。

Higuchi BRAIN and NERVE, 2011

embryonic MHC (eMHC) = 再生筋線維マーカー



UCMD



DMD

UCMD患者の筋生検サンプルでは、**再生筋線維(eMHC +) は極小径のもの**のみに限られている。  
=UCMD患者の骨格筋では、筋線維が再生不全状態にある

Higuchi et al. Neuromuscular Disorders (2003)

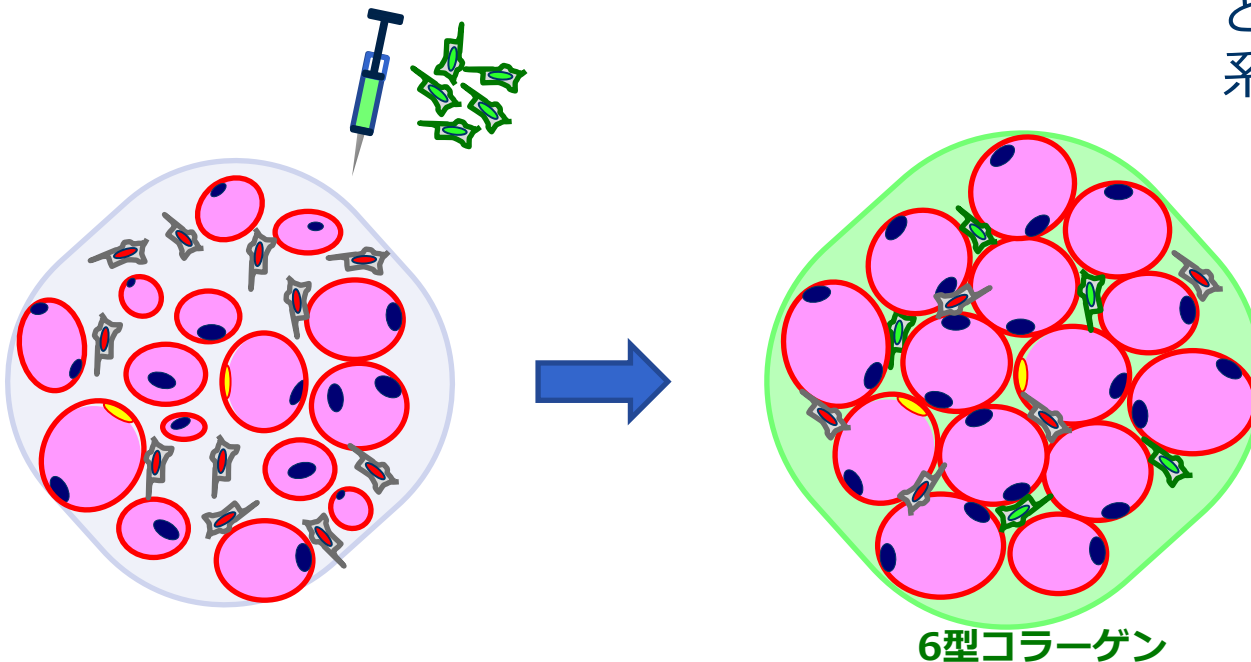


# 治療戦略: 6型コラーゲン(COL6)を発現している間葉系細胞を移植したら治療できる?

6型コラーゲンを発現している間葉系細胞を集めて筋肉内に移植する

6型コラーゲンが分泌されて筋線維が太くなるのではないかと? = 治療効果?

どうやって移植用の間葉系細胞を準備するのか?



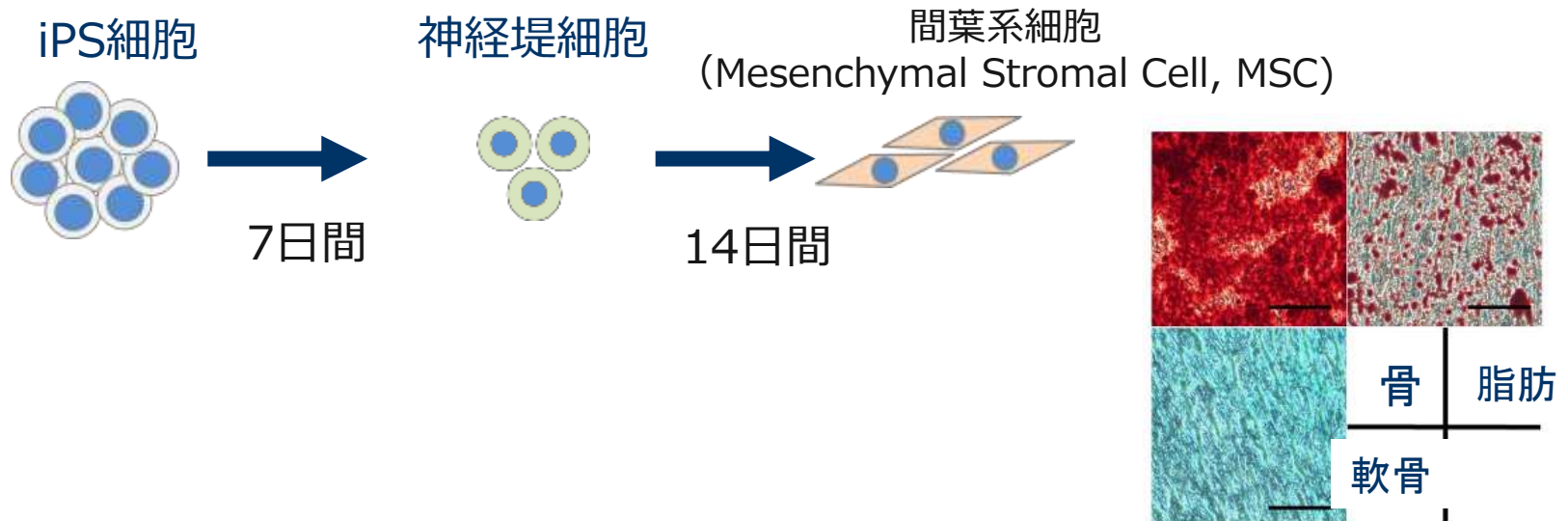
・生体の筋肉内にある間葉系細胞は、培養して増やそうとしても増殖が止まってしまう、移植に十分な細胞数を得ることが難しい。

・患者さんの間葉系細胞はやっぱりCOL6を出せない、患者由来の間葉系細胞を使わないのであれば、拒絶反応で生着しないのではないかと?

**iPS細胞から作ろう!**

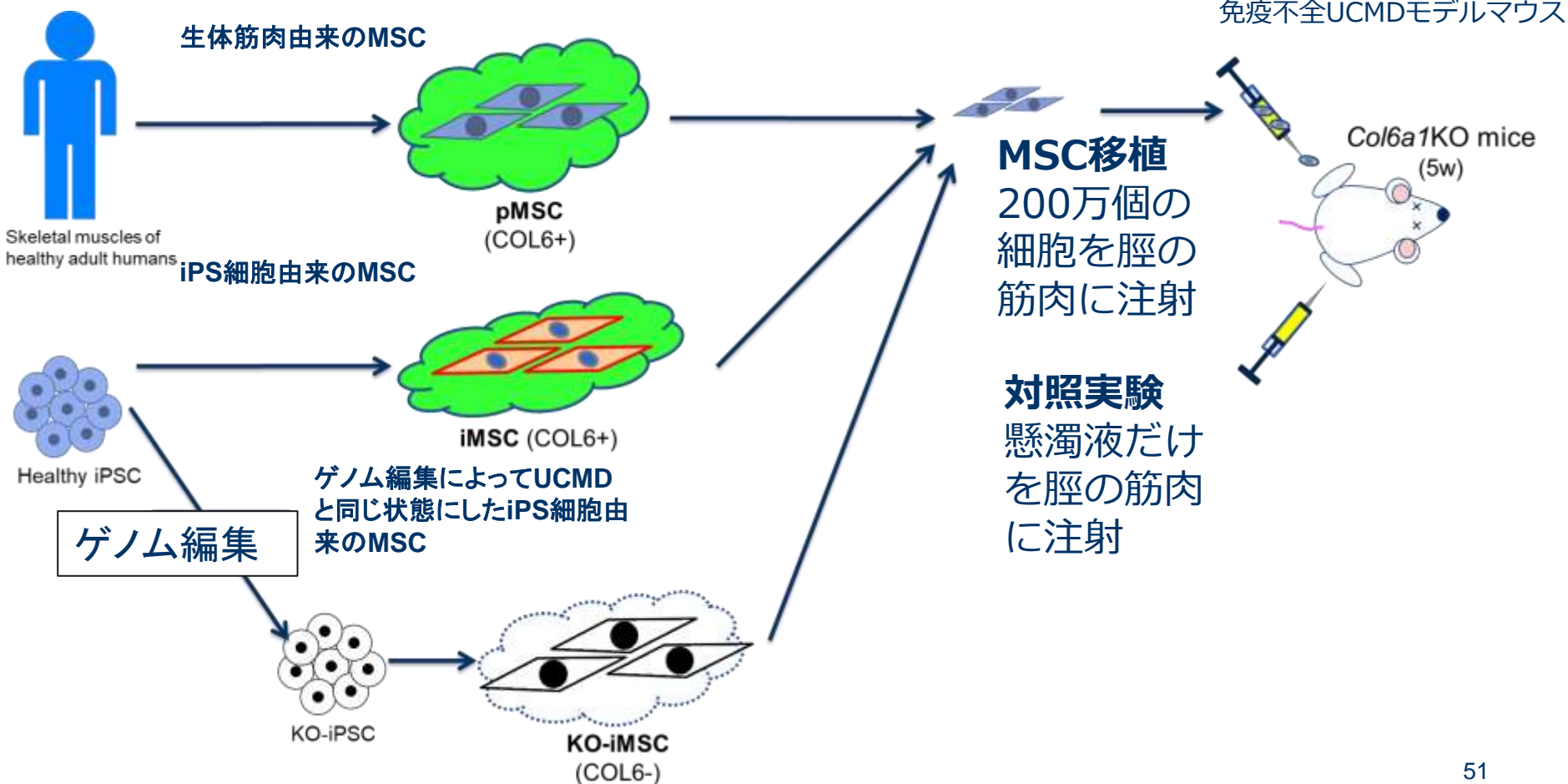
# CiRA・池谷先生らは、iPS細胞から間葉系細胞 (MSC) を作り出すことに成功！

CiRA 池谷先生らの報告

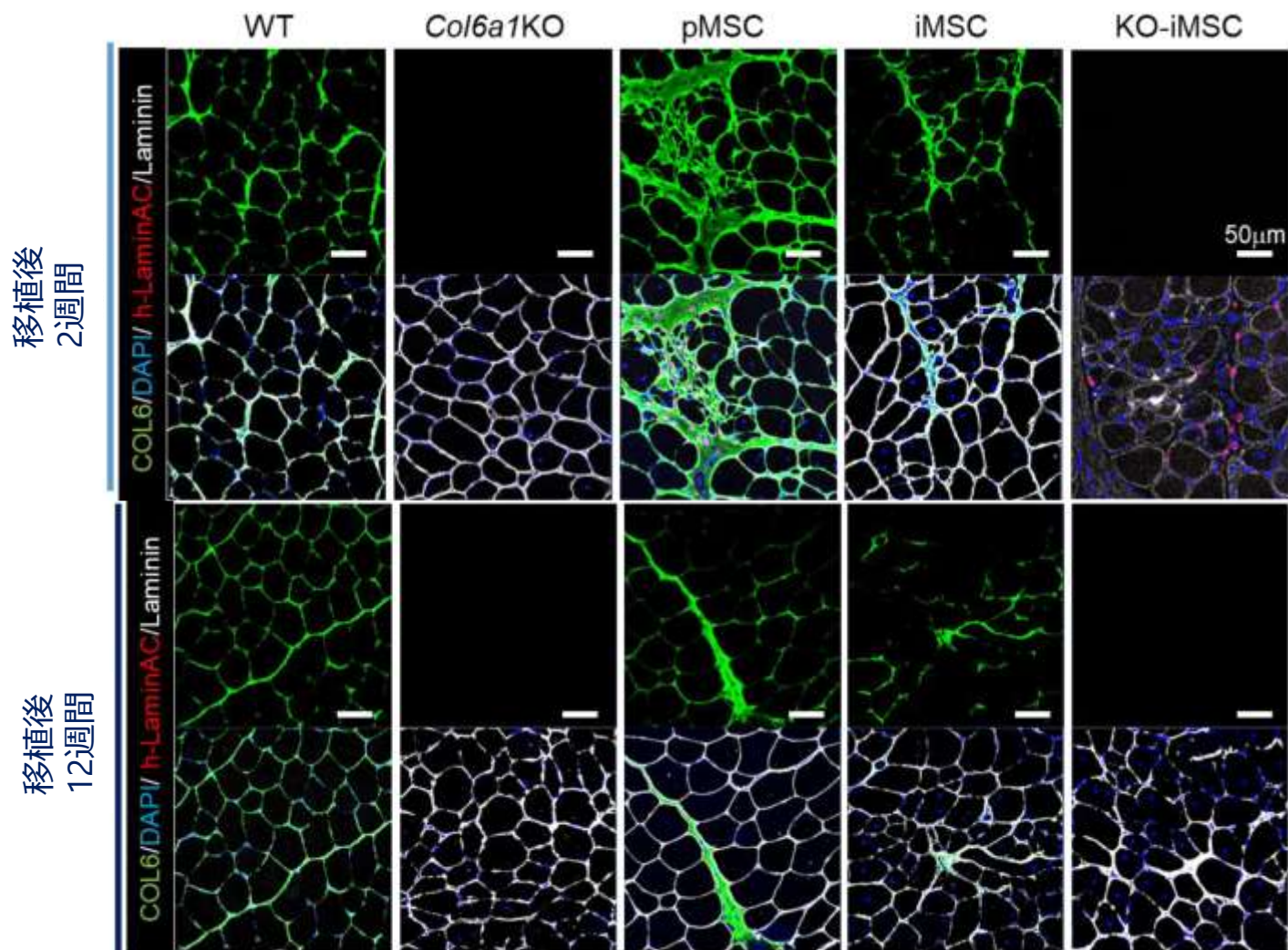


# 健常者に由来するiPS細胞から作成されたMSC (iMSC) の移植によりCOL6を補充すると、UCMDの病態を改善できるのか？

方法：UCMDモデルマウスに対する移植実験



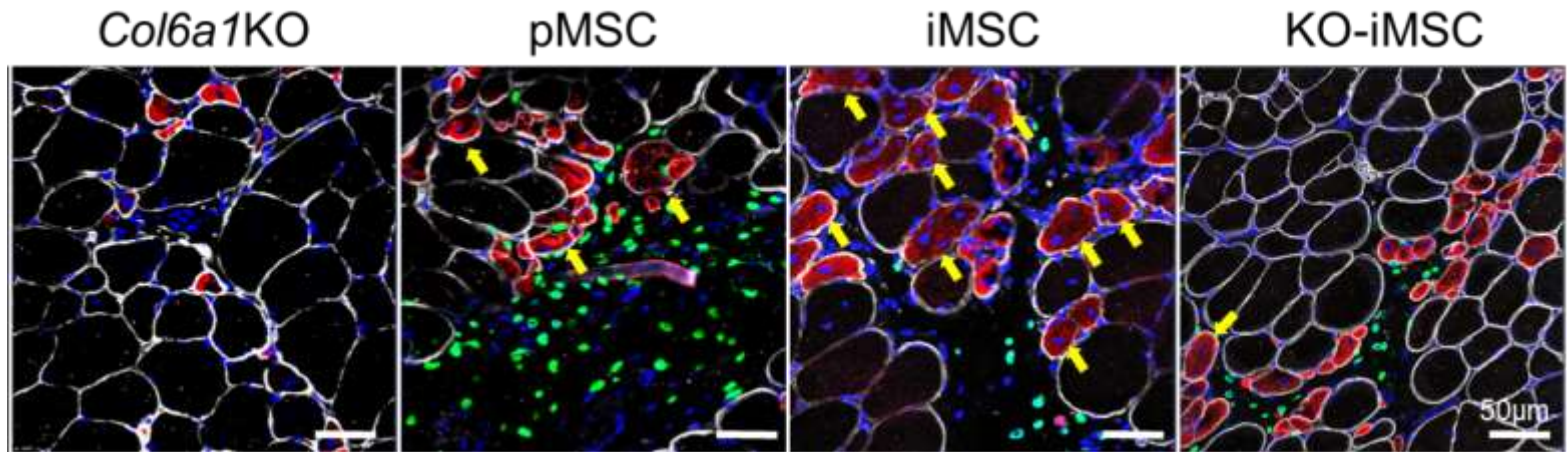
# pMSC, iMSCはUCMDモデルマウスの骨格筋に生着し COL6を分泌し、12週間以上維持される。



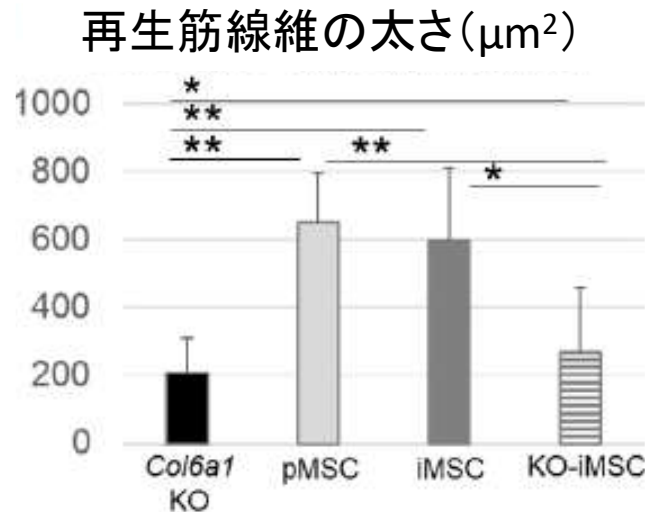
移植された筋肉の組織標本に対する免疫蛍光染色像：  
COL6(緑)、ヒト核(赤)、  
筋膜(白)

# iMSC、pMSC移植によりCOL6が補充されたとき、UCMD筋の再生が促進されて太くなった

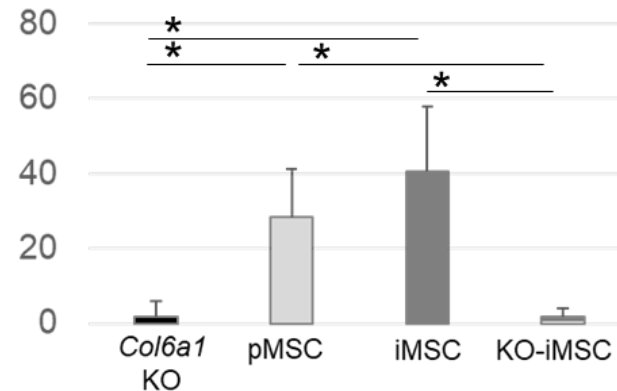
H-Lamin A/C / eMHC /  
Laminin a2 / DAPI



赤 = 再生筋線維  
緑 = ヒト核

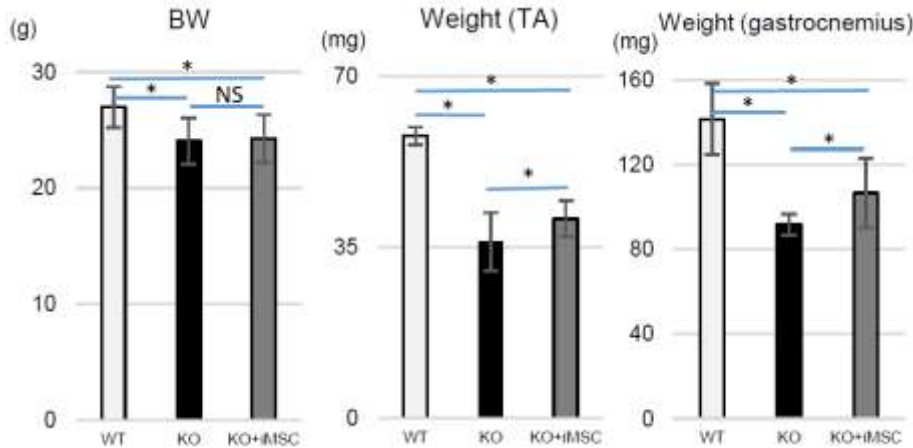


核が3つ以上になっている再生筋線維の割合 (%)

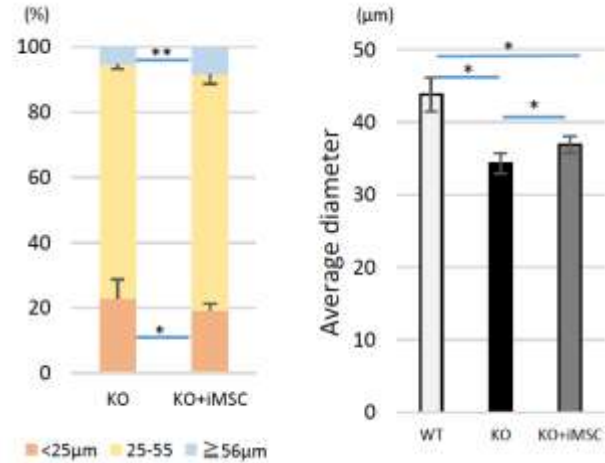


# iMSCの腹腔内投与によって全身に移植すると、 後肢の筋肉は太くなり、線維化も抑制できる

8週後の体重と筋重量の評価



8週後の大腿四頭筋の  
筋線維径

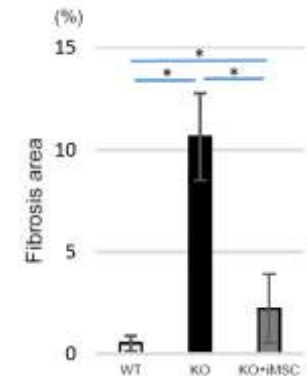
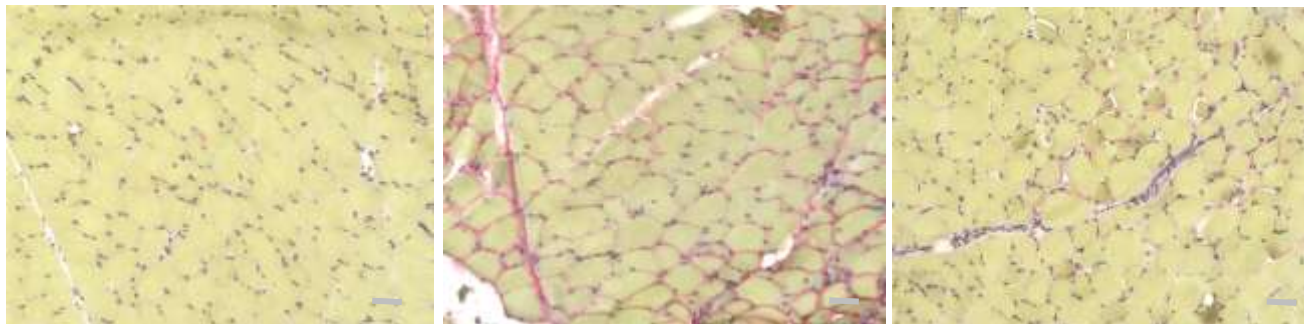


8週後の線維化の様子をシリウスレッド染色で解析

WT

KO

KO+iMSC

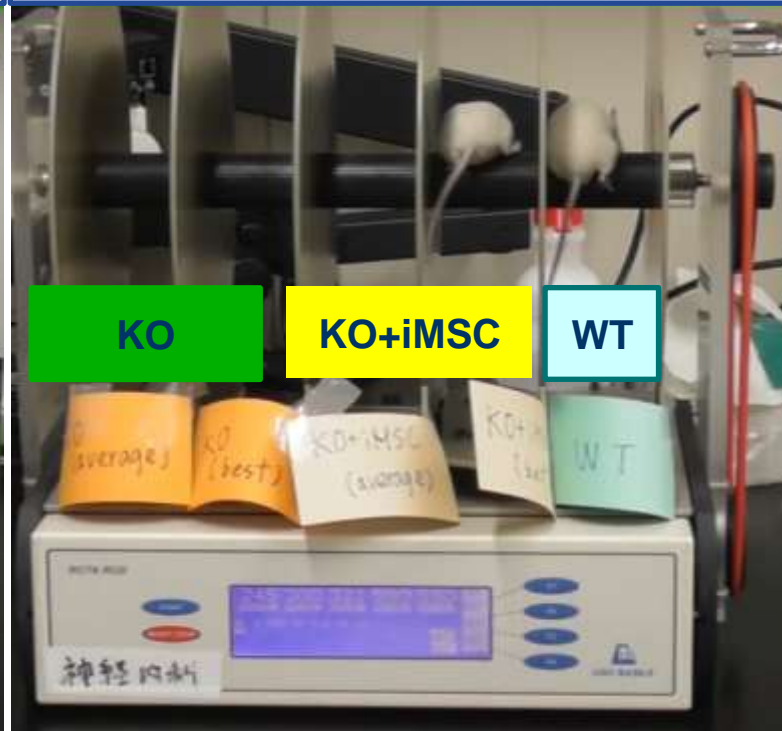


# ロタロッドテストとよばれる持久力テストの様子

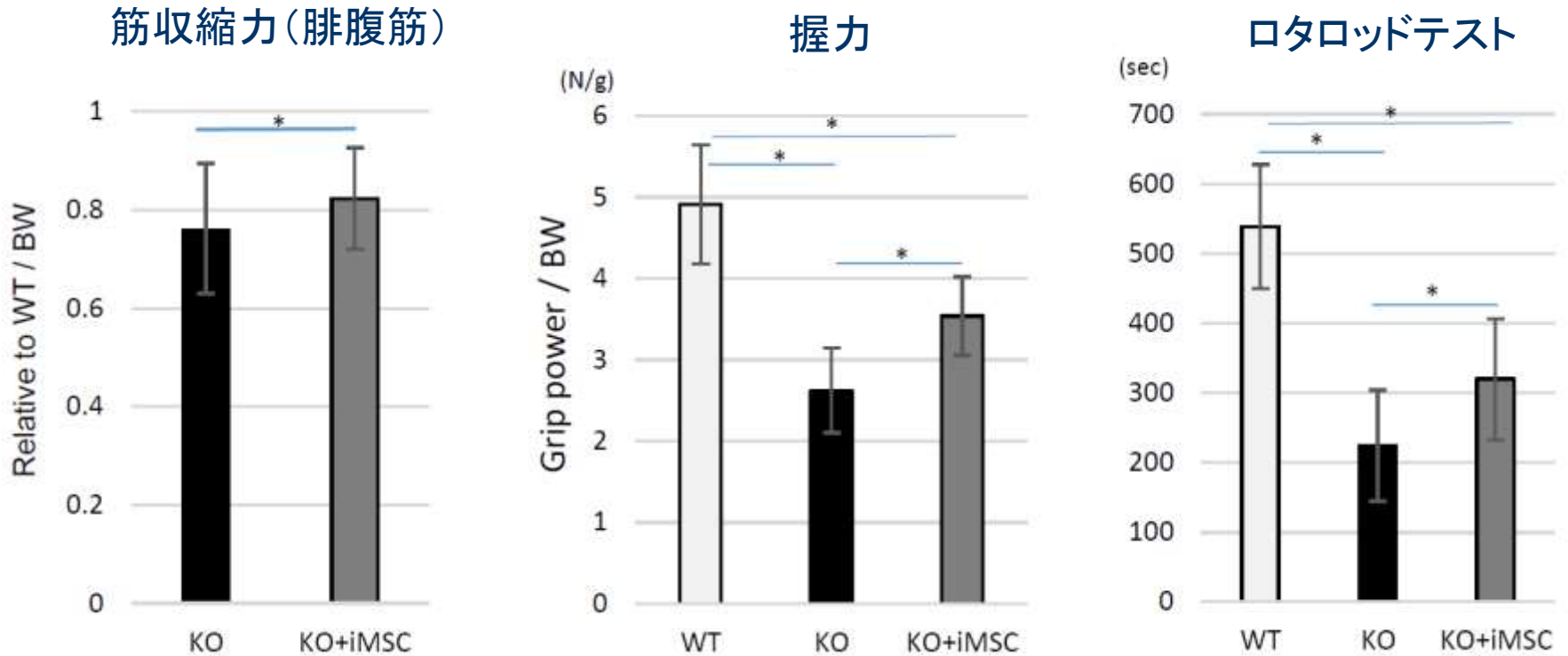
145~160秒後 (22~24rpm)



590秒~終了時 (40rpm)



# iMSCの全身性投与により、筋収縮力や持久力の改善が認められた





# 間葉系間質細胞(MSC)は体の中のいろいろな部位に存在します

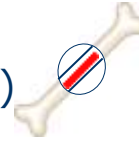
## 候補MSC

脂肪組織由来MSC:  
**Ad-MSC(COL6+)**



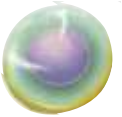
- ・臨床試験実施
- ・採取方法：  
BM-MSCと比較して低侵襲

骨髄由来MSC：  
**BM-MSC(COL6+)**



- ・臨床試験実施
- ・採取方法:高侵襲

HLA編集iPS細胞由来  
ゼノフリー培養MSC：  
**XF-iMSC(COL6+)**



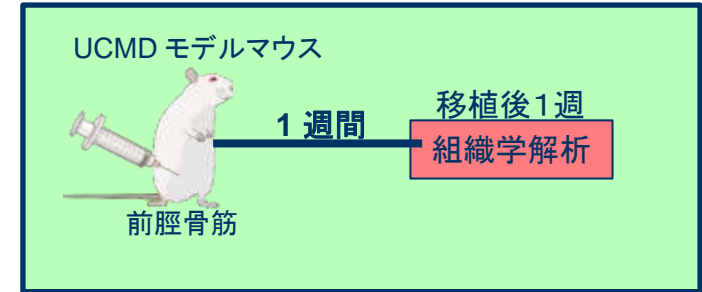
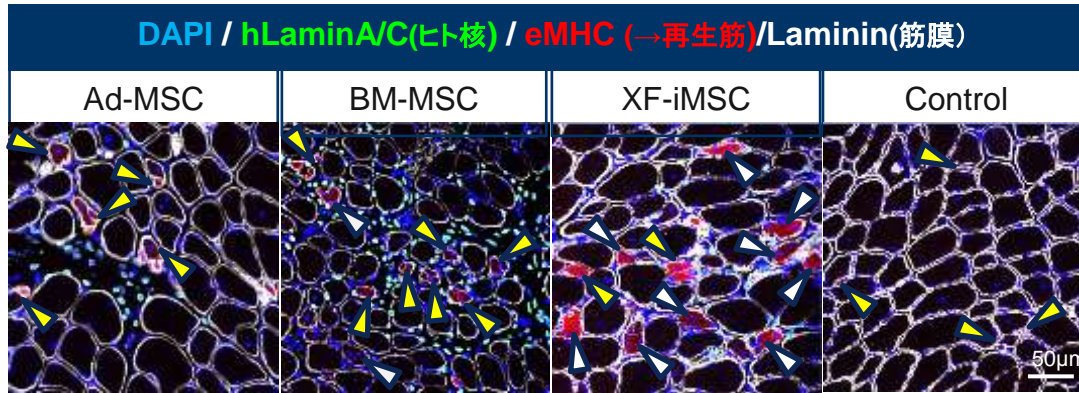
- ・UCMDモデルマウスにおいて治療  
効果実証
- ・採取方法:非常に低侵襲

どの細胞もCOL6を発現しています

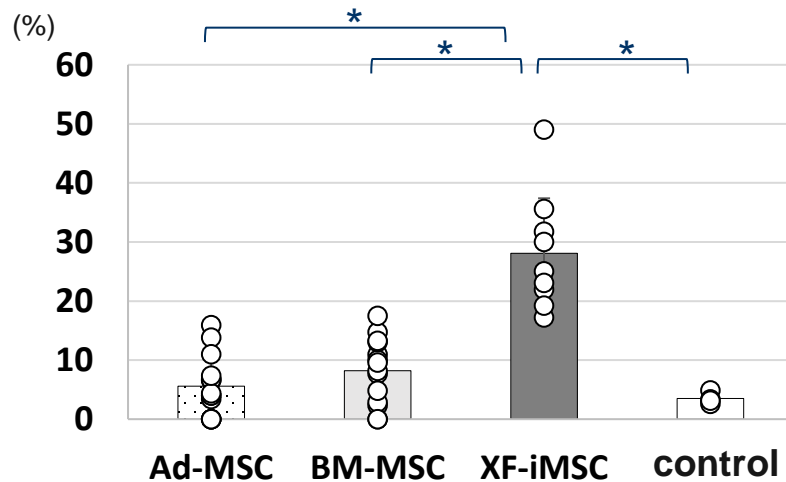
どの細胞でも治療できるのか？

# iPS細胞由来MSC (iMSC) が最も筋線維の再生を促進しました

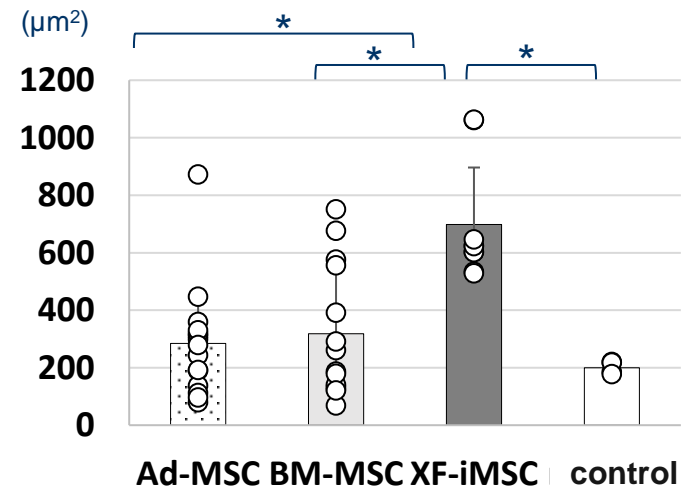
移植された筋肉の組織標本に対する免疫蛍光染色像



核が2つ以上になっている再生筋線維の割合 (%)



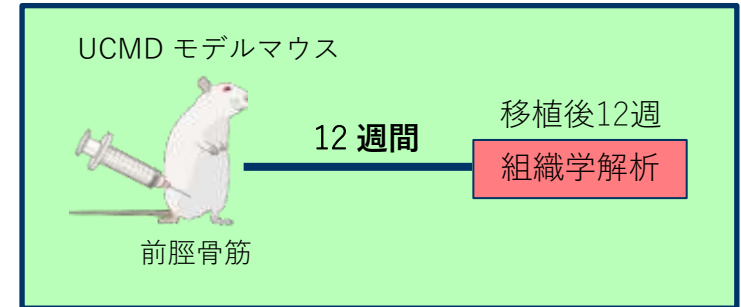
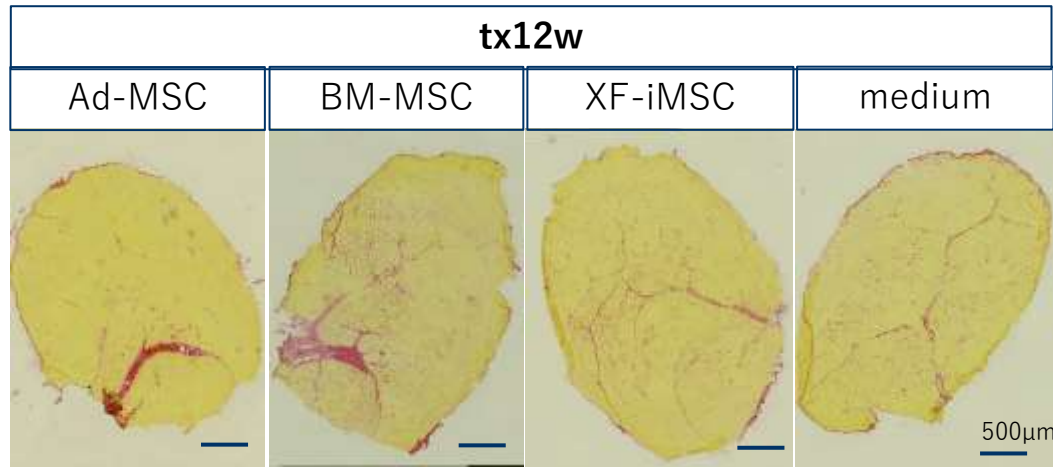
再生筋線維の太さ ( $\mu\text{m}^2$ )



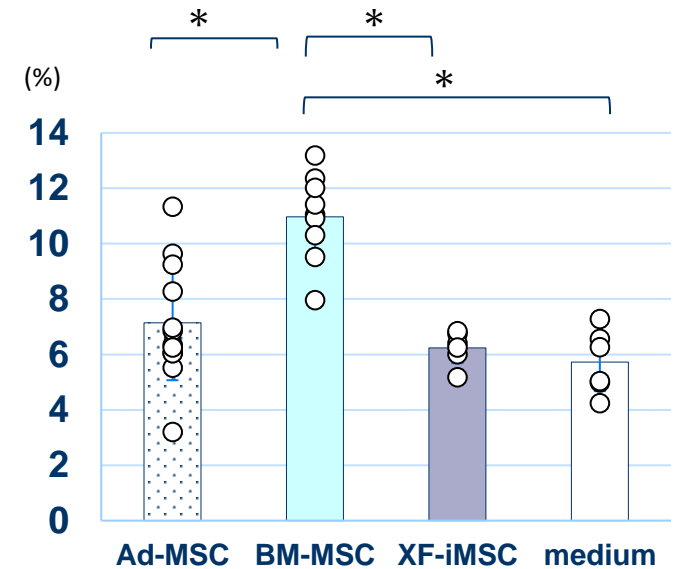
\*:  $p < 0.05$

# 長期間の観察で、骨髄MSCは間質の拡大を伴う 顕著な線維化を引き起こした

移植された筋肉の組織標本に対するシリウスレッド染色像



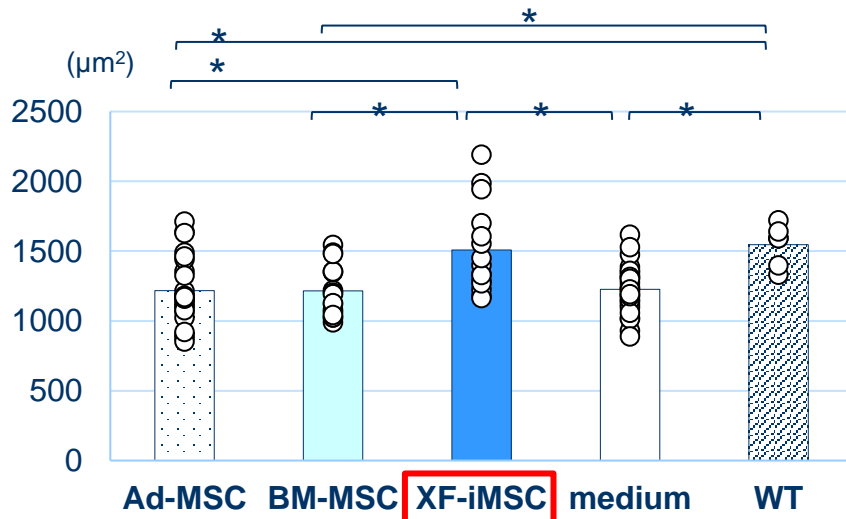
線維化部位の面積



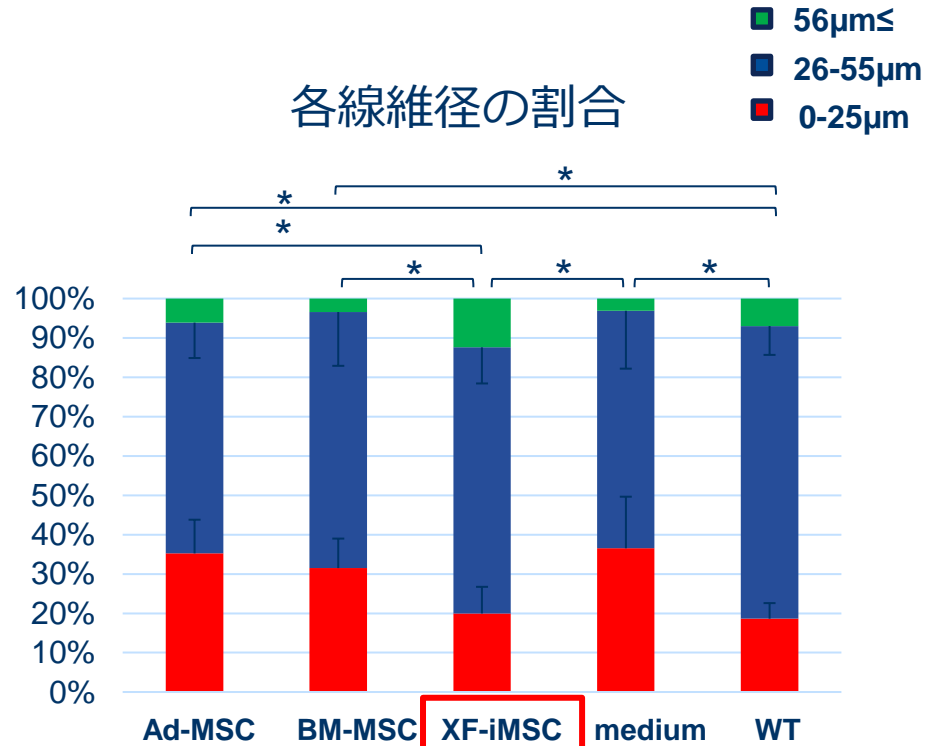
\*:  $p < 0.05$

# 長期間の観察で、iPS由来MSC(XF-iMSC)が最も筋線維の成熟を促し筋線維径を大きくした

筋線維の平均横断面積



各線維径の割合



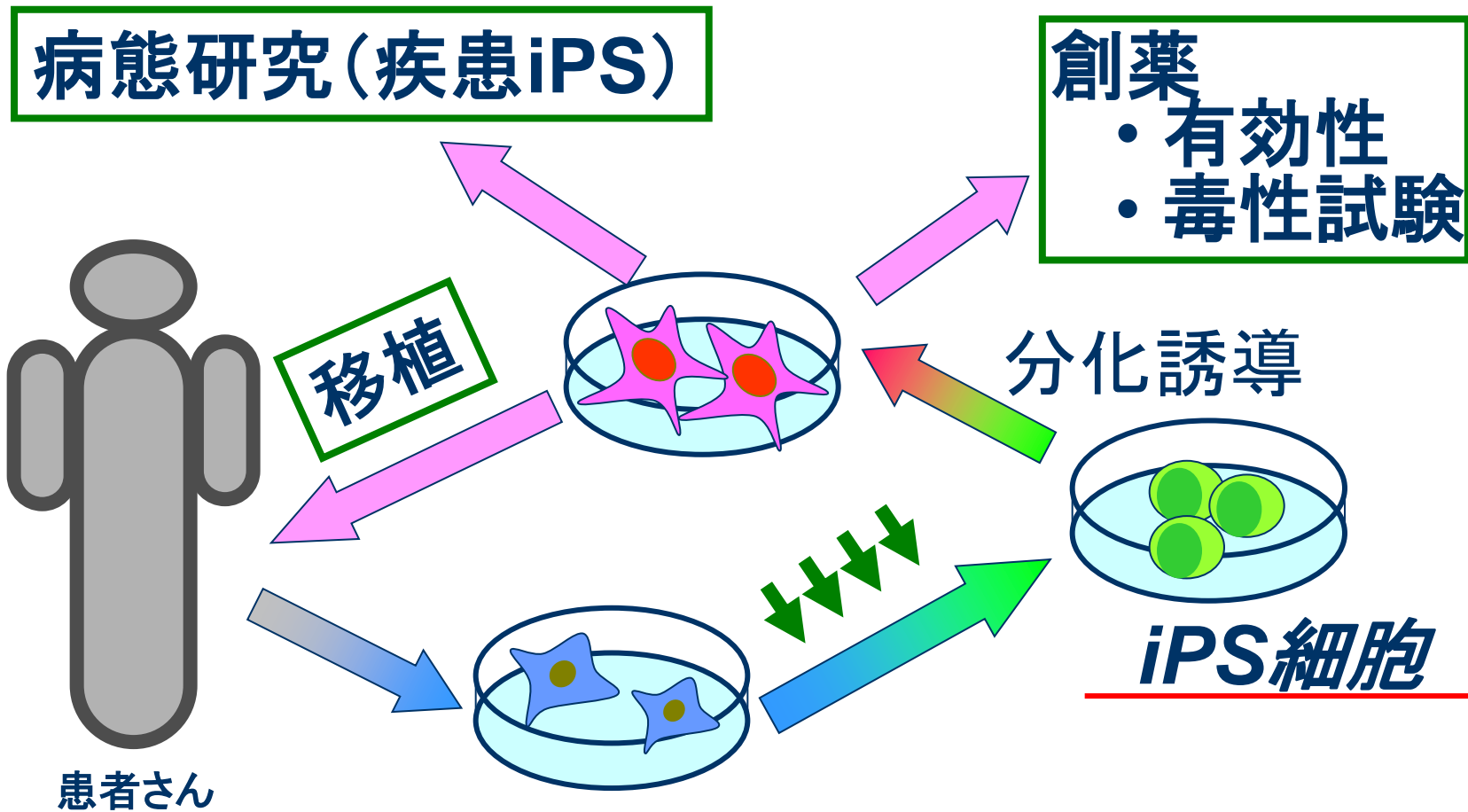
\*: p<0.05

我々はこのXF-iMSCを用いて、細胞治療法を開発していきます

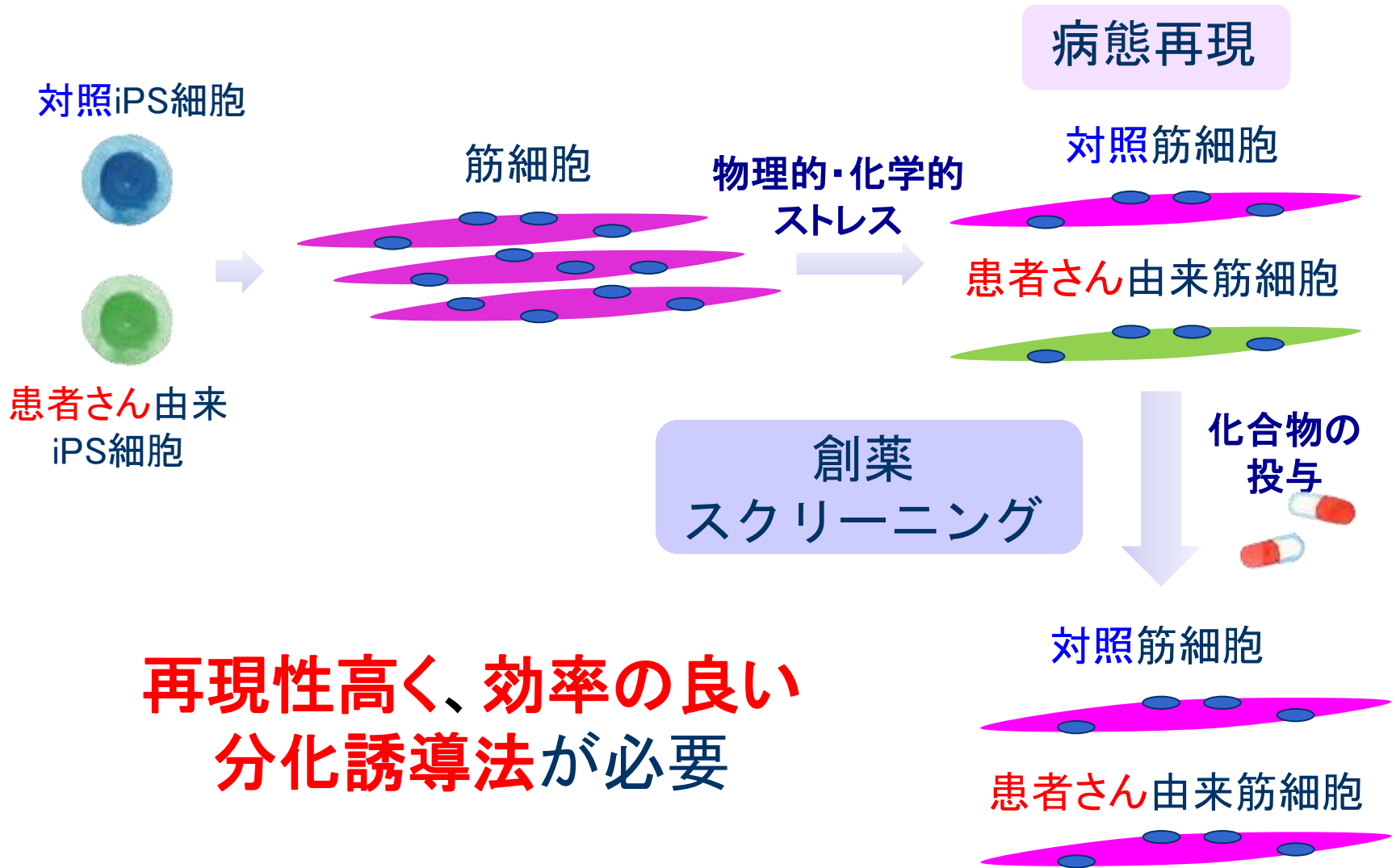
# 3. 筋肉難病の治療法開発に向けて

## B) 創薬研究の取り組み

# iPS細胞に何ができるのか？



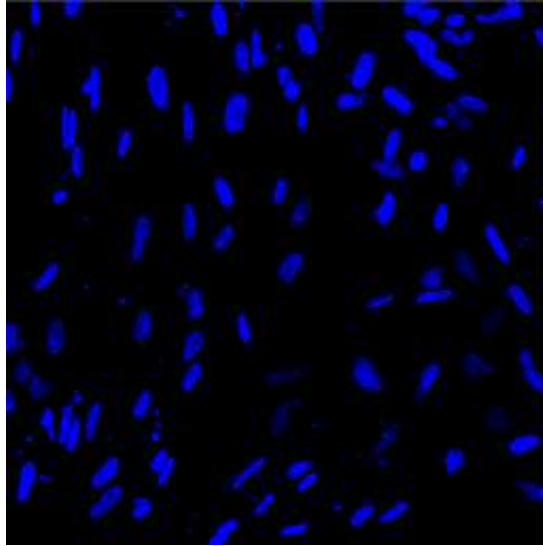
# iPS細胞技術を活用した筋疾患の創薬研究



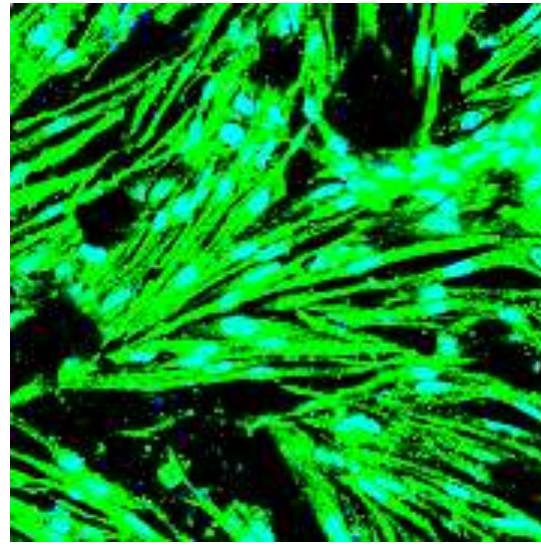
再現性高く、効率の良い  
分化誘導法が必要

# 高効率で骨格筋分化誘導に成功

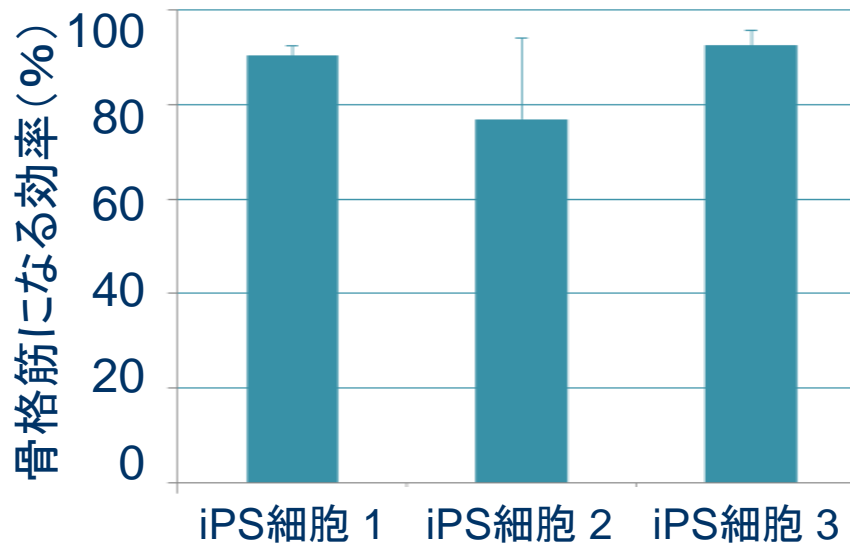
誘導前



誘導後

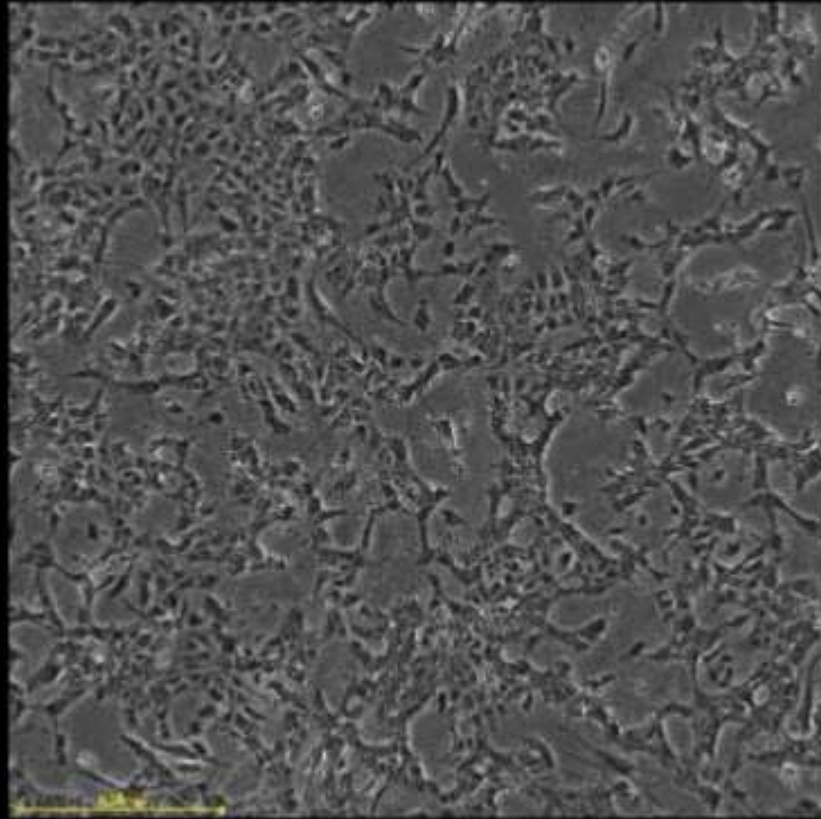


黄緑: 筋線維  
青: 細胞の核





# 分化誘導1～8日目の細胞形態変化



比較的均一に筋細胞へと変化

# 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(FSHD)

FSHD = Facio-scapulo-humeral Muscular Dystrophy

Face

Back

Upper arm

顔面 肩甲 上腕 型 筋ジストロフィー

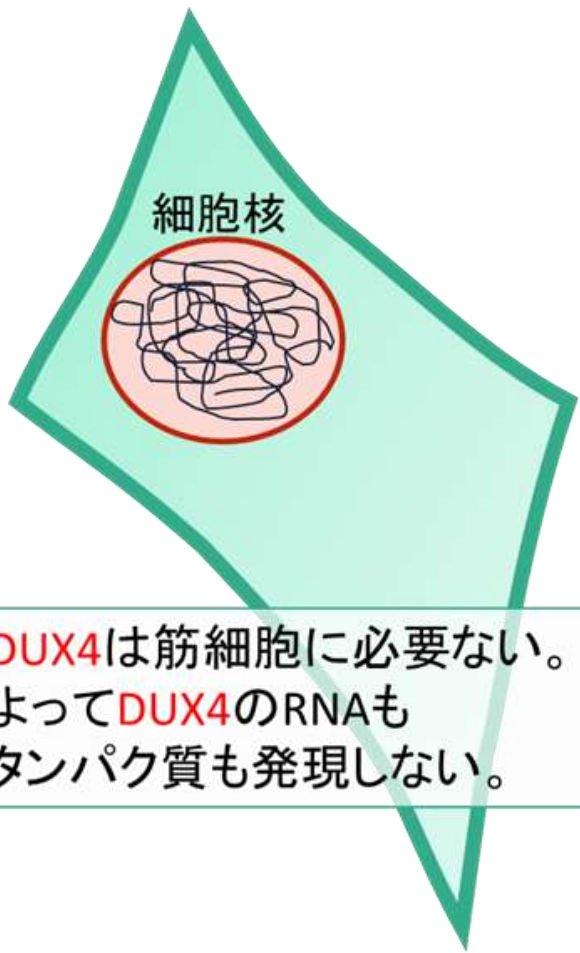
(↑初期に侵されやすい部位に由来する)

- 遺伝性・進行性の筋萎縮・筋力低下
- 比較的遅い発症 (平均して 10 ~ 20 歳時)
- 左右非対称な筋萎縮 →
- 患者間での症状進行に大きなばらつき  
(中には車椅子や人工呼吸器を使用する患者もいる)  
→ 環境要因の関与が示唆される
- FSHD1型とFSHD2型がある。  
(遺伝学的な定義に基づく。臨床的にはほぼ同じ。)



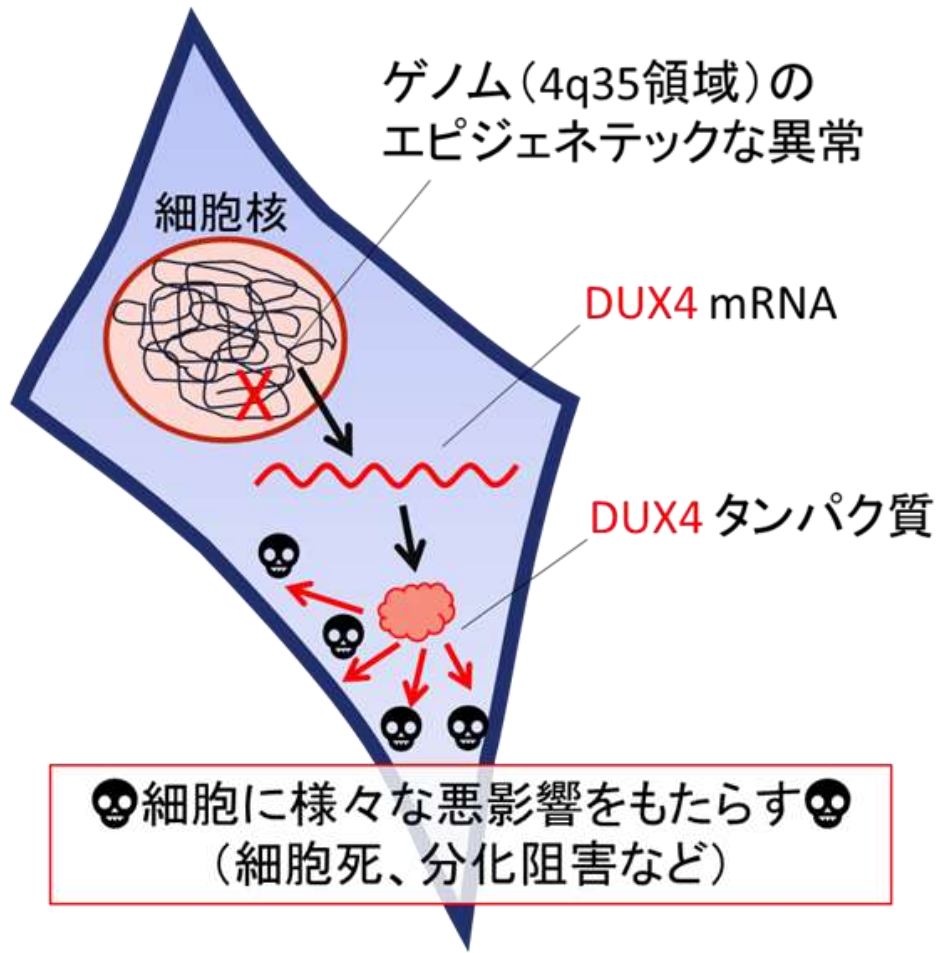
# DUX4 がFSHDの原因と考えられています

健常者の筋細胞

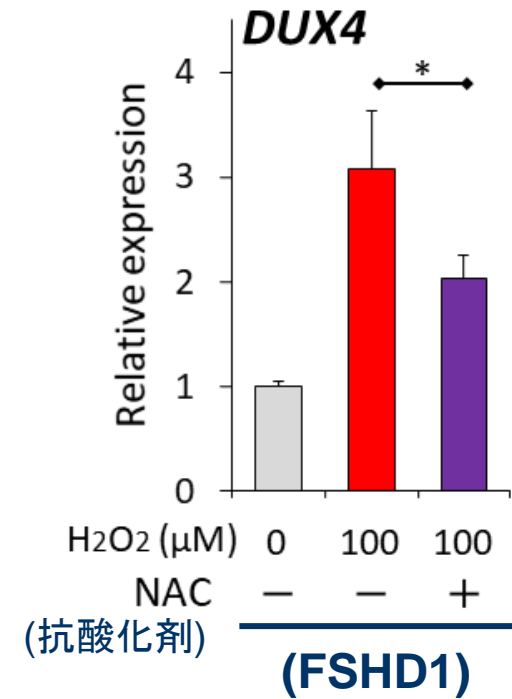
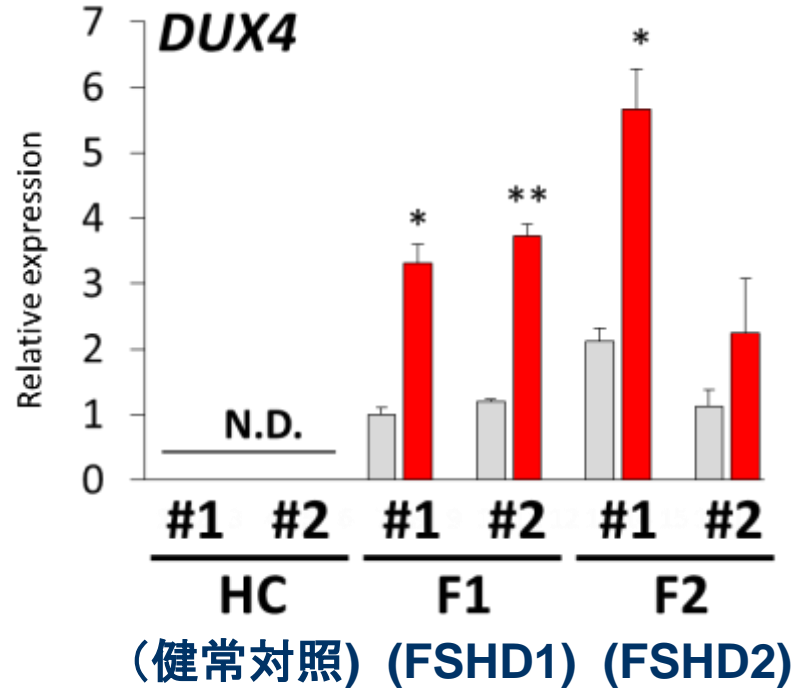
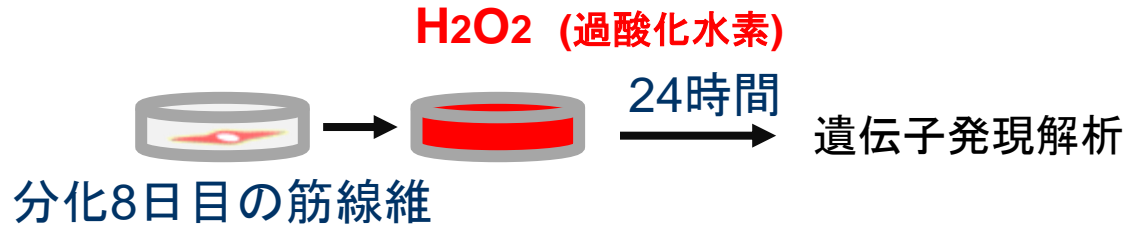


DUX4: double homeobox 4 protein

FSHD患者の筋細胞

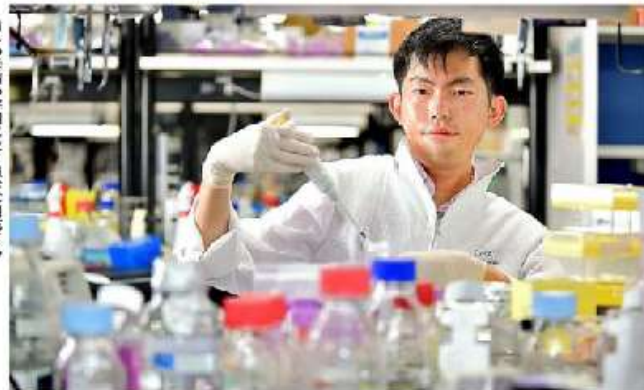


# 酸化ストレスを与えると、FSHD筋細胞ではDUX4の発現が増大してしまいます



Student t-test. p-value \* < 0.05, \*\* < 0.01,  
 N.D.: not detected

# 発見した本田研究員は自身がFSHD患者です



自身の難病の解明に取り組み続ける本田さん  
東京都中央区 滝野橋三丁目

## 自分の難病 挑む研究者

京大から昨夏、筋肉が衰える難病「顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー」に関する論文が発表された。iPS細胞を使って実験を繰り返した論文の筆者は、この難病の患者だった。「病気を甘んじて受け入れるだけにはなりたくない」と、研究の道を選んだ。

### 京大iPS研症状ヒントに論文

異変に気付いたのは東京にいた小学6年のときだ。京大でiPS細胞研究で博士号を取る本田さん(30)は当時、自分が病気を患ったことに驚いた。腕を伸ばした際に肩が、痛に振っていた。中学生になると、利き手の右腕の筋肉が落ちて腕を上げることも難しくなり、小学生で始めたバイオリンが弾けなくなっていた。周囲から「動き方が変」と、からかわれた。

病名にたどり着いたのは、中学2年の冬。現在の国立精神・神経医療研究センター(東京都)で診察を受けた。「ゆっくりと症状が出ます。改善策はありますか」と医師から問われた。昨年8月に書いた論文は、自身の症状ヒントとなった。顔面肩甲上腕型は左右非対称に筋力が衰える傾向がある。本田さんは最初、筋肉が衰えたのは右腕だ。iPS細胞で調べると、激しい運動で生じるような細胞に欠ける可能性があるが、原因の一つである可能性がわかった。「より使う腕のほうがダメージが多い

のかもしれない」と。最新の研究ができる」と心算の一万、症状は悪くなっている。京大に来た頃は、手裏のを使ってなんとか階段は上り下りできたが、今はわずかな段階も越えられない。ただ、気持ちだけは前向きだ。病気をどう理解しているか。大学時代の同級生と結婚して7年半。「病名だから出さないと意識を向けない。どうやって考えようか」と悩んでいた。山手所長からは「頑張って」と励ましの言葉をもらった。患者として特別扱いはされないよう、この研究者であることを心がけている。いつか病気の解明につながる改善を出す。そう決めている。

### 患者登録制度 今年度にも

病気を研究する厚生労働省研究機構の代表、大阪刀根山医療センターの松村剛医師は「顔面肩甲上腕型は、心臓や呼吸にすぐに命を直結するような問題がないと考えられていたため、定期的な受診に結びつかない患者が多い」と話す。個人差もあるが、思春期ごろに肩まわりの筋肉から衰え始める。80〜40歳で車いすを利用することが多い。患者数は10万人あたり3〜5人と推定されるが、実数はわかっていない。治療法の開発に向け、今年度中に患者の登録制度を始めたいという。患者登録は、目の動きが悪くなり、のみ込む方が衰える「眼瞼倒型」でも進める。研究班は28日、病気の理解を深めるための公開講座を東京都で開く。ネットでライブ中継もする。詳しくは研究班のサイト (<https://mdest.jp/>) へ。

なぜDUX4が筋肉で発現してしまうのかを解明し、治療法に繋げる研究を進めています

2019年7月8日 朝日新聞掲載

# CiRAと武田薬品工業との共同研究プロジェクト (T-CiRA)



武田薬品の湘南研究所の中に、CiRAの分室があり研究開発している



武田薬品 湘南研究所 (神奈川県)



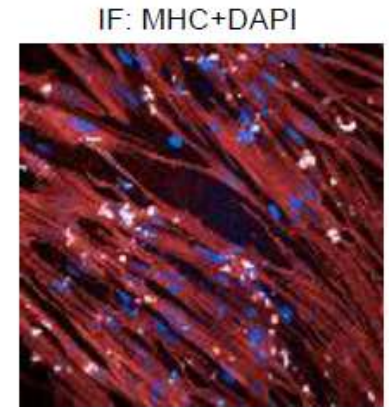
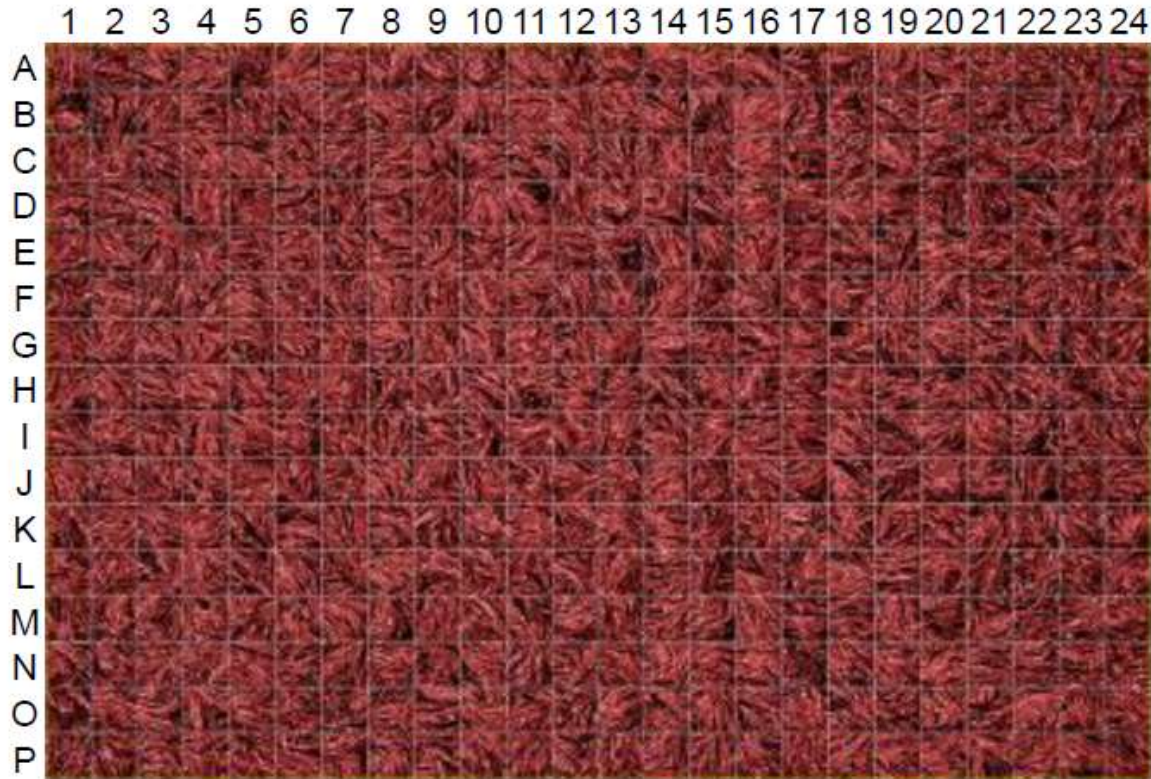
この共同研究に込められた思いを表現するためにロゴをデザインしました。  
赤・青・黄の3色のロゴカラーは、CiRAの創り出した「世界で初のCrispr/Cas9遺伝子編集技術」に由来する4つの遺伝子をイメージすると同時に、共同研究を「創薬」そして「創薬」の架け橋として表現しています。  
10の青色はCiRAの「ノーベル賞」の10の受賞者と同じく、CiRAのメンバーを象徴しています。

また、エンブレムの中には、湘南研究所のロゴにも馴染み深い「湘南」の文字を隠しています。周囲を囲む色は、さらに「湘南」のイメージを表現しています。T-CiRAは、これら2つの要素を組み合わせ、創薬研究の加速に貢献して、新薬創出の架け橋を築くことを目指します。

<https://www.takeda.co.jp/t-cira/>

武田薬品の持つ創薬技術や化合物ライブラリを利用できる

# 筋分化誘導法とロボットシステムの融合により、 384wellプレートでの均一な筋分化誘導に成功

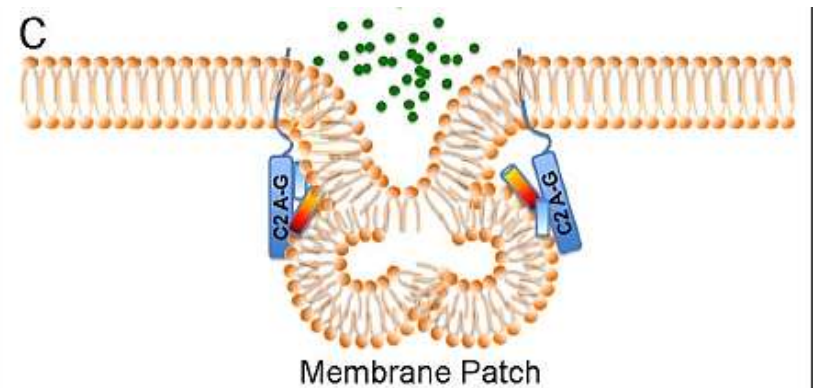
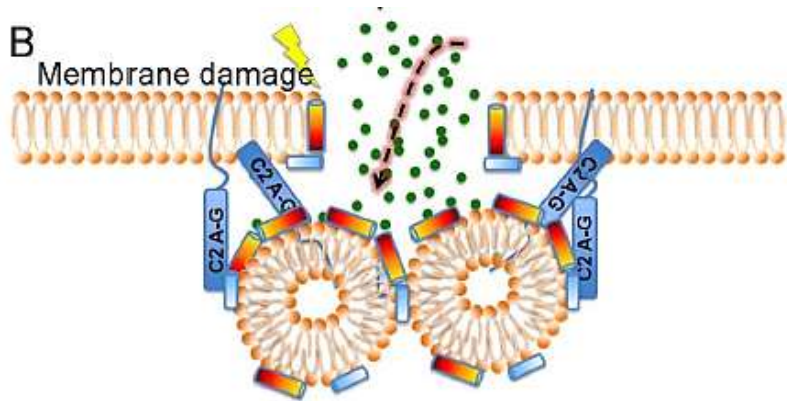
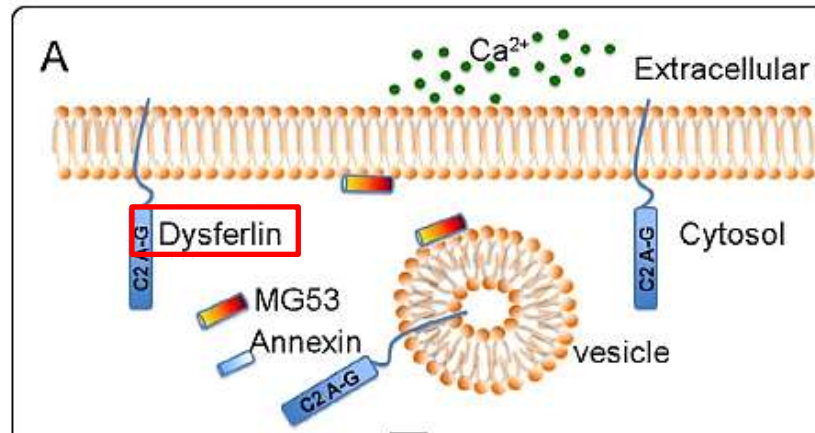


平均 筋肉細胞誘導効率 91.1%  
ばらつき 1.86%

# Dysferlinopathy



常染色体劣性遺伝形式をとる。遠位型の三好型と近位型のLGMD2Bに分類されるが、近年は同一の疾患という概念が報告されている。日本で確定診断例は約200人程度。10～20代で歩きにくさを自覚、つま先立ちができない。発症から約10年で車イスが必要になる場合が多い。Dysferlin遺伝子の異常によって起こる。



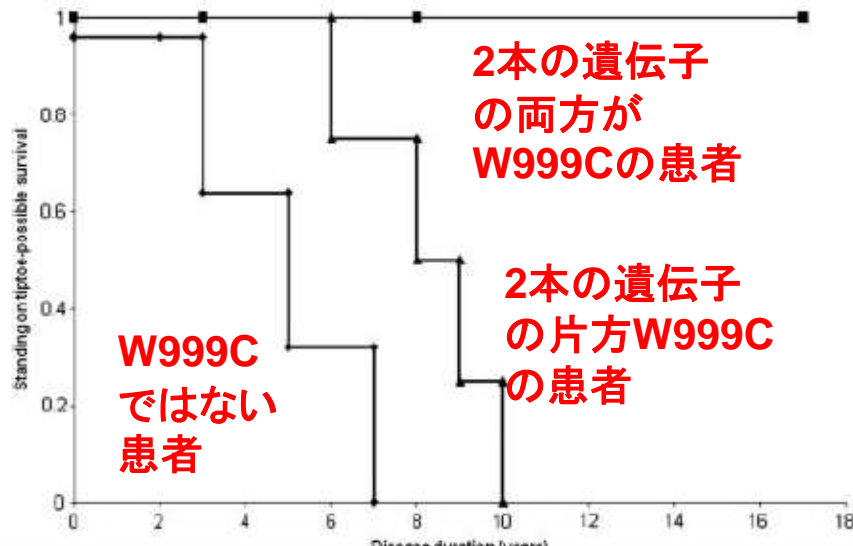


# Dysferlinopathy患者の中でも、W999Cミスセンス変異を持つ患者は発症が遅い

Table 3 Clinical and laboratory features associated with genotypes G3370T and G3510A

Feature	All patients with mutations	Patients with G3370T mutation	Patients without G3370T mutation	Patients with G3510A mutation	Patients without G3510A mutation
No. of patients	28	5 <b>W999C</b>	23	2	26
Age at onset, y	21.8 ± 7.4	32.2 ± 4.8*	19.5 ± 5.7	13.3 ± 0.4†	22.4 ± 7.2
CK (IU/L)	5,829 ± 4,273	5,267 ± 2,008	5,951 ± 4,646	16,155 ± 4,568†	5,034 ± 3,114

つま先立ちができる患者の割合と、発病期間のグラフ

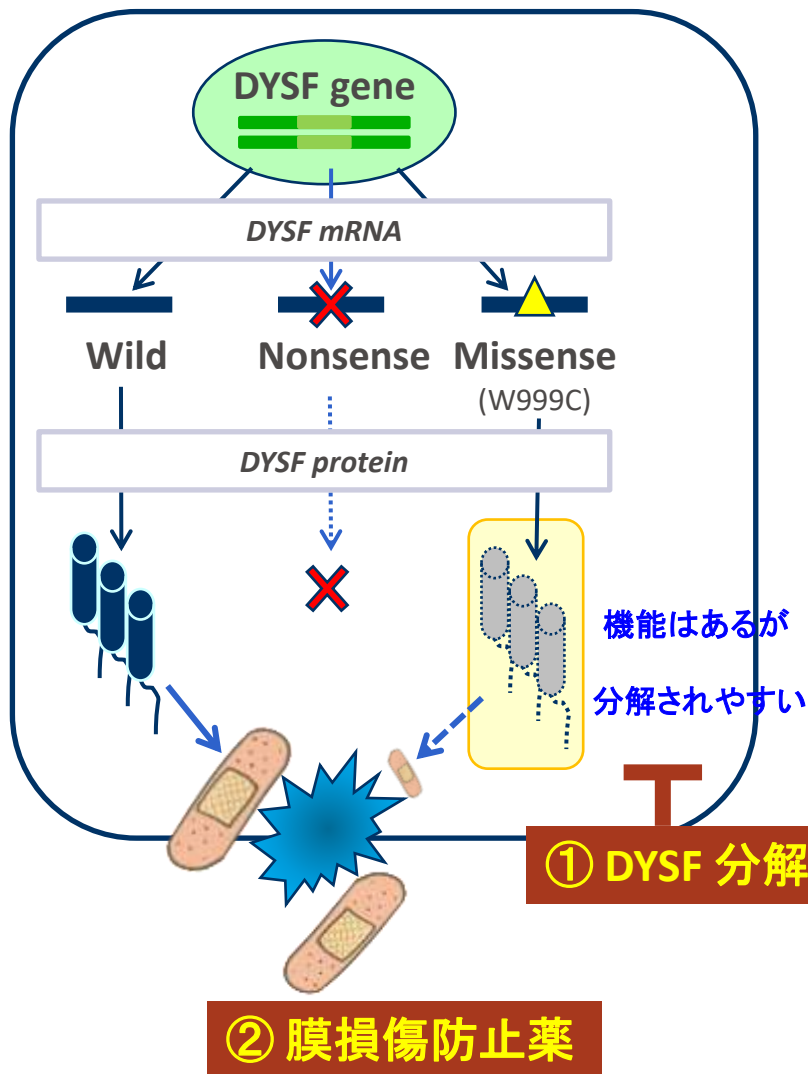


Takahashi et al. Neurology, 2003

W999C変異をもつDysferlinタンパク質は、ある程度の機能を持っているが、分解されて量が減ってしまうためには証する可能性が高い

triangles) and those without the c.2997G>T mutations (line with diamonds).

# T-CiRA櫻井プロジェクトでの Dysferlinopathyに対する薬剤開発戦略



## ① DYSF 分解抑制剤

- 変異をもつDYSFタンパク質の分解を抑えて量を増やす
- W999C変異をもつ患者が対象(日本では1/4)

## ② 膜損傷防止薬

- DYSFタンパクが働かなくても膜損傷を防止する
- 全てのDysferlinopathy患者が対象になる

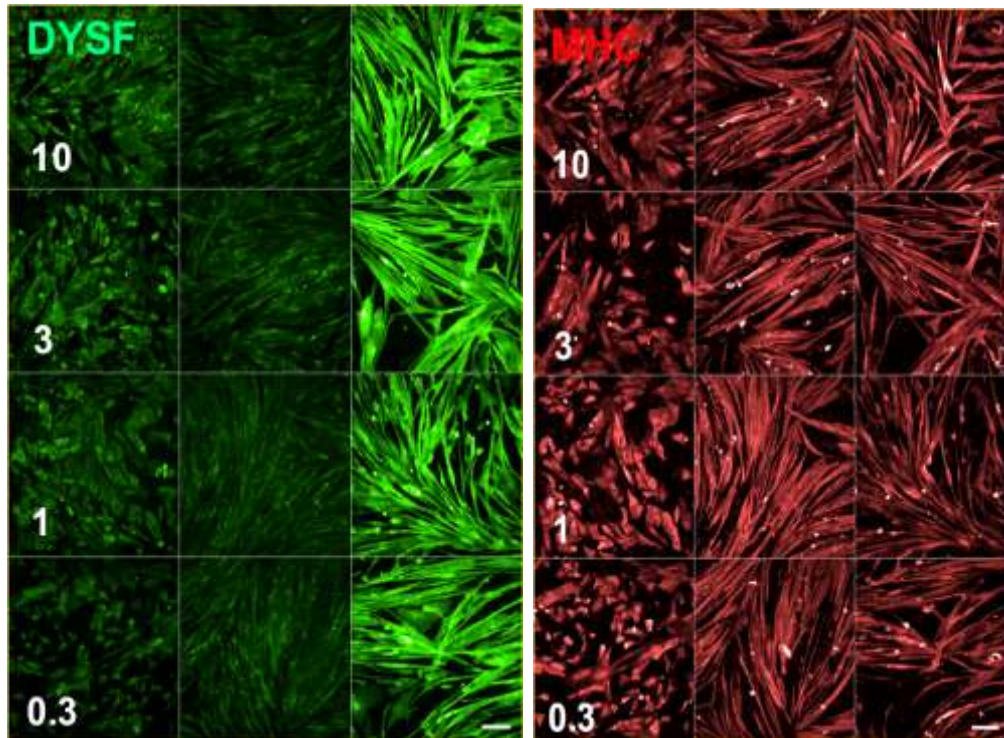
# 600個以上の薬の中からスクリーニングして、ノコダゾールが変異DYSFタンパク質を増やすことが分かりました



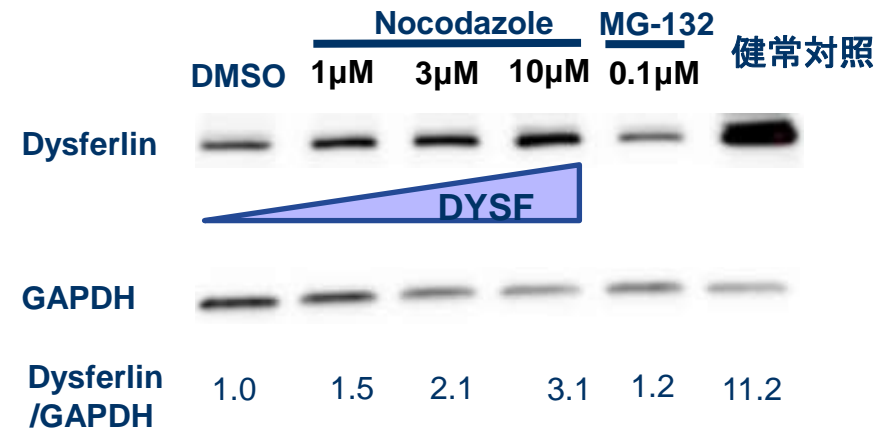
## W999Cミスセンス変異

## W999Cミスセンス変異

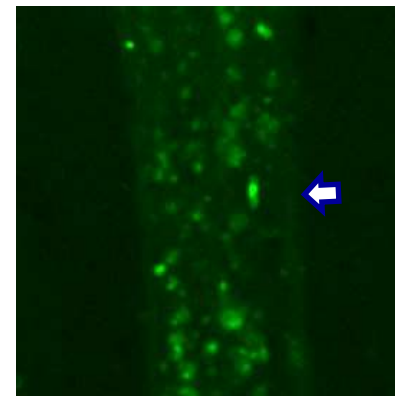
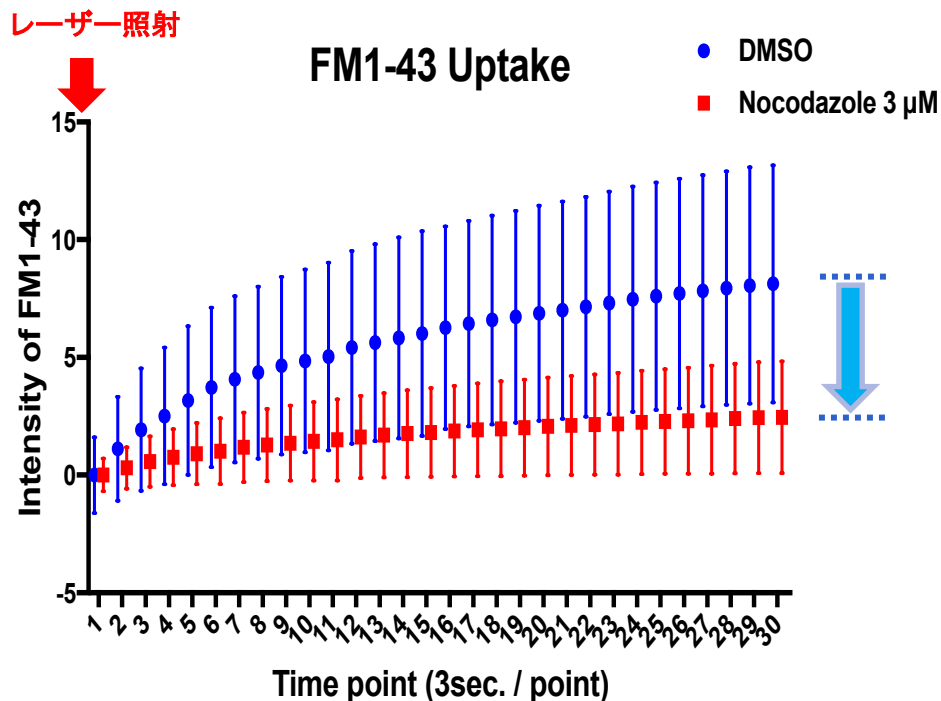
Nocodazole (μM) DMSO Control      Nocodazole (μM) DMSO Control



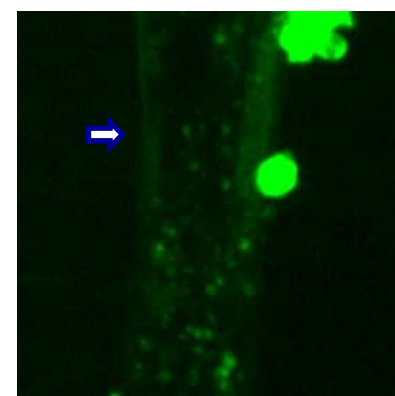
## W999C ミスセンス変異筋細胞



# W999Cミスセンス変異タンパクであっても、発現が増えれば膜修復できることを証明しました



W999C ミスセンス変異筋細胞 + DMSO



W999C ミスセンス変異筋細胞 + 3 $\mu$ M Nocodazole

# 疾患iPS細胞研究の促進に向けて

2011/12/1 iPS細胞臨床開発部がスタートしました！



京都大学医学部附属病院  
iPS細胞臨床開発部  
Division for iPS Cell Application Development



患者さんからのiPS細胞＝**疾患iPS細胞**は、疾患iPS細胞バンクに送られ、日本中の研究者が活用できるようにします。

# 櫻井研究室で研究中の筋疾患

## 解析を開始している疾患

三好型筋ジストロフィー Tanaka et al. 2019  
デュシェンヌ型筋ジストロフィー Uchimura et al. 2021  
筋強直性ジストロフィー Shoji et al. 2015  
Pompe病 Ueki et al. 2017  
顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー Kawada et al. 2021  
ミオチューブラーミオパチー Yoshida et al. 2017  
ウルリッヒ型先天性筋ジストロフィー Honda et al. 2018  
ベスレムミオパチー Takenaka-Ninagawa et al. 2021  
GNEミオパチー  
ラミノパチー  
ベッカー型筋ジストロフィー  
福山型筋ジストロフィー

## 共同研究を開始している疾患

ネマリンミオパチー  
CPT2欠損症 Yasuno et al. 2014  
ミトコンドリア病  
Schwartz-Jampel症候群  
先天性筋無力症  
還元小体ミオパチー  
多発性筋炎・皮膚筋炎  
脊髄性筋萎縮症  
筋線維タイプ不均等症  
中心核ミオパチー  
周期性四肢麻痺  
封入体ミオパチー  
Italian 19p13 myopathy

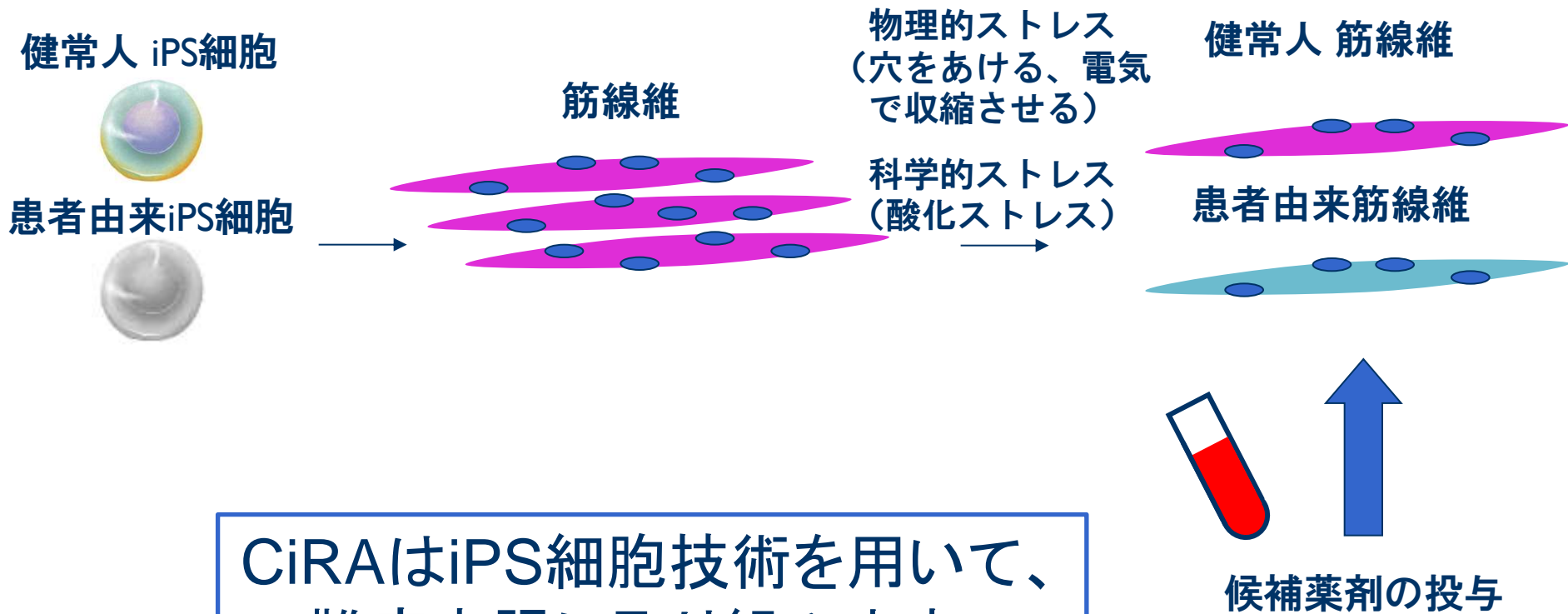
## 樹立を開始している疾患

サルコグリカノパチー  
メロシン欠損型先天性筋ジストロフィー  
デスミンミオパチー  
エメリー・ドレイフュス型筋ジストロフィー

## 樹立・共同研究を予定している疾患

ミニコア病

# iPS細胞技術を活用した創薬研究



CiRAはiPS細胞技術を用いて、  
難病克服に取り組みます。

ご清聴ありがとうございました。



京都大学iPS細胞研究所  
臨床応用研究部門  
櫻井英俊