

## Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells

八木 拓也<sup>1)</sup> 伊東 大介<sup>1)</sup> 岡田 洋平<sup>2)3)</sup> 赤松 和土<sup>2)</sup>  
二瓶 義廣<sup>1)</sup> 岡野 栄之<sup>2)</sup> 鈴木 則宏<sup>1)</sup>

(臨床神経 2012;52:1134-1136)

Key words : アルツハイマー病, iPS細胞, アミロイド

疾患の病態解明・治療法開発には、患者さん自身の障害組織を用いた研究がもっとも望ましいが、脳組織のばあいその入手は倫理的かつ技術的な問題により困難であり、これまで神経疾患研究の大きな障壁となってきた。2007年、Takahashiらにより、ヒト皮膚線維芽細胞への特定の遺伝子導入によりES細胞に匹敵する多分化能を有する induced pluripotent stem (iPS) 細胞の樹立に成功した<sup>1)</sup>。このiPS細胞技法を応用して患者由来iPS細胞を樹立することができれば、その多能性を基に、疾患に関連した臓器をふくむ種々の組織を誘導することができる。したがって、これまで生体からの入手が困難であった中枢神経系組織の作成も可能となり、従来にはない観点からの疾患研究が期待されることとなった。iPS細胞技術の登場以来、この技術を利用して疾患特異的iPS細胞を作成し、病態解明、薬剤スクリーニングなどに利用する研究が始まってきている<sup>2)</sup>。われわれは、家族性アルツハイマー病(FAD)由来iPS細胞の樹立をおこない、病態解析、創薬への可能性について検討をおこなった (Fig.1)。

### FAD 由来 iPS 細胞の樹立

アルツハイマー病(AD)の病態メカニズムに関しては、神経細胞より産生されるアミロイドβ(Aβ)と呼ばれるペプチドの過剰が、シナプスの障害そしてタウ蛋白の蓄積、そして神経細胞死をひきおこすとするアミロイド仮説がこれまで支持されてきた<sup>3)~5)</sup>。FADのほとんどは、Aβの切り出し酵素であるγセクレターゼの構成分子であるプレセニリン1(PS1)もしくはプレセニリン2(PS2)の変異がみられる。これまで、主に強制発現型をもちいた解析ではほとんどのγセクレターゼ変異は、Aβ産生異常に関与していることが示されアミロイド仮説を支持する重要なエビデンスとなっている。しかし、Aβもしくはこのγセクレターゼをターゲットにした薬剤による臨床試験ではそのほとんどで有効性を示すことができず、アミロイド仮説を基盤にした治療戦略に臨床的疑問が生

じている。

われわれは、患者由来iPS細胞でのアミロイド仮説の再確認と疾患特異的iPS細胞由来神経細胞をもちいた薬剤スクリーニングの確立をめざして、PS1(A246E)とPS2(N141I)変異を有した皮膚線維芽細胞からFAD患者由来iPS細胞を樹立しその解析を試みた<sup>6)</sup>。いずれの変異も浸透率が高く、典型的なADの臨床像を示す変異である<sup>7)8)</sup>。Oct3/4, Sox2, Klf4, Lin28, Nanogの5因子でリプログラミングをおこない、胚様体を介した分化誘導とテラトーマテストから三胚葉への分化を観察し、樹立したiPS細胞の多能性を確認した。Neurosphereを介して分化した神経細胞のAβの産生能を解析したところ、いずれのFAD-iPS細胞由来神経細胞で毒性の高いAβ42が有意に亢進していることが示された。このことより、これまで強制発現培養細胞で報告されていたごとくPS1, PS2変異がγsecretase活性に影響を与え蓄積性の高いAβ42の産生を亢進していることをFAD-iPS細胞由来神経細胞で示すことができた。このことにより、ADの病態として提唱されていたアミロイド仮説を患者由来の生きた神経細胞で証明したことになる。さらに、ADではAβ産生異常は胎生期より生じていることが示唆された。また、上述PS1, PS2変異iPS細胞はγsecretase阻害薬(compound E)、修飾薬(compound W)による作用を検討したところ、Aβの産生に鋭敏に反応した。すなわち、γsecretase阻害薬では全Aβ(Aβ40+42)の産生抑制、修飾薬では、毒性の高いAβ42の選択的産生抑制がみとめられた。したがって、このAD由来iPS細胞由来神経細胞が、薬剤開発の強力なマテリアルとなりうることが示された。

これまでに開発された根本治療薬のほとんどでその有効性が示せず、ADの克服は厳しい状況である。その原因の一つには、患者由来の神経細胞をもちいた薬剤の開発、薬効評価ができなかったことにあると考えられる。このAD由来iPS細胞をもちいれば、病態の解明、薬剤スクリーニングが可能となり、より信頼性の高い薬剤の開発につながるものと期待され

<sup>1)</sup>慶應義塾大学医学部神経内科〔〒160-8582 東京都新宿区信濃町35〕

<sup>2)</sup>同 医学部生理学

<sup>3)</sup>同 咸臨丸プロジェクト

(受付日：2012年5月24日)

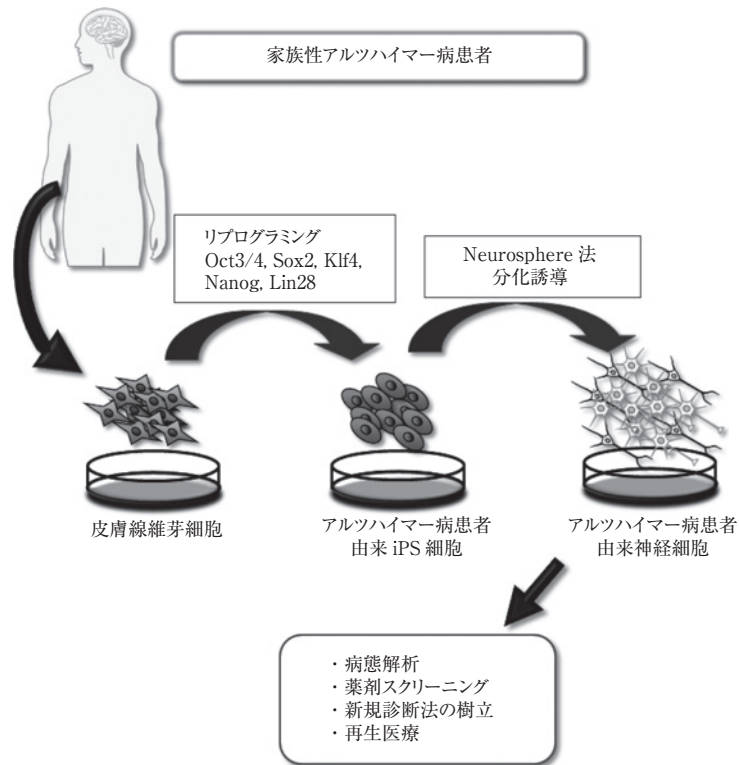


Fig. 1 家族性アルツハイマー病患者由来 iPS 細胞の作製と解析.

る。また、本研究より AD では発生初期より A $\beta$  産生異常があることが示され、先制医療の重要性が示された。今後、iPS 細胞を利用した AD の発症前診断法、画期的治療戦略の開発に展開していきたいと考えている。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

## 文 献

- 1) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-872.
- 2) Ito D, Okano H, Suzuki N. Accelerating progress in iPS cell research for neurological diseases. *Ann Neurol* 2012 (in press).
- 3) Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease : progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002;297:353-356.
- 4) Tanzi RE, Bertram L. Twenty years of the Alzheimer's disease amyloid hypothesis:a genetic perspective. *Cell* 2005;120:545-555.
- 5) Sisodia SS, St George-Hyslop PH. gamma-Secretase, Notch, Abeta and Alzheimer's disease:where do the pre-senilins fit in? *Nat Rev Neurosci* 2002;3:281-290.
- 6) Yagi T, Ito D, Okada Y, et al. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Hum Mol Genet* 2011;20:4530-4539.
- 7) Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995;375:754-760.
- 8) Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995;269:973-977.

**Abstract****Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells**Takuya Yagi<sup>1)</sup>, Daisuke Ito<sup>1)</sup>, Yohei Okada<sup>2)3)</sup>, Wado Akamatsu<sup>2)</sup>,Yoshihiro Nihei<sup>1)</sup>, Hideyuki Okano<sup>2)</sup> and Norihiro Suzuki<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Neurology, School of Medicine, Keio University<sup>2)</sup>Department of Physiology, School of Medicine, Keio University<sup>3)</sup>Department of Kanrinmaru Project, School of Medicine, Keio University

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of age-related dementia, characterized by progressive memory loss and cognitive disturbance. According to the amyloid cascade hypothesis, a prevailing theory of AD pathology, accumulation of toxic A $\beta$ 42, in the brain is the initiator of AD pathogenesis, subsequently leading to the formation of neurofibrillary tangles, and consequently neuronal loss. Mutations of presenilin 1 (PS1) and presenilin 2 (PS2), which are catalytic components of  $\gamma$ -secretase, are causative factors for autosomal dominant early-onset familial AD (FAD). Induced pluripotent stem cell (iPSC) technology provides a new method for elucidating the molecular basis of human diseases, including neurodegenerative diseases. Here we generate iPSCs from fibroblasts of FAD patients with mutations in PS1 (A246E) and PS2 (N141I), and characterize the differentiation of these cells into neurons. We find that FAD-iPSC-derived differentiated neurons have increased toxic A $\beta$ 42 secretion, recapitulating the molecular pathogenesis of mutant presenilins. Furthermore, secretion of A $\beta$ 42 from these neurons sharply responds to  $\gamma$  secretase inhibitors and modulators, indicating the potential for identification and validation of candidate drugs. Our findings demonstrate that the FAD-iPSC-derived neuron is a valid model of AD and provides an innovative strategy for the study of late-onset neurodegenerative diseases.

(Clin Neurol 2012;52:1134-1136)

**Key words:** Alzheimer's disease, iPSC, A $\beta$ 

---