

## HLA領域、およびGWASにより抽出された疾患感受性領域のホモ化細胞ライブラリーの創出

プロジェクト  
責任者

大阪大学大学院医学系研究科 ゲノム編集センター

助教 吉村 康秀

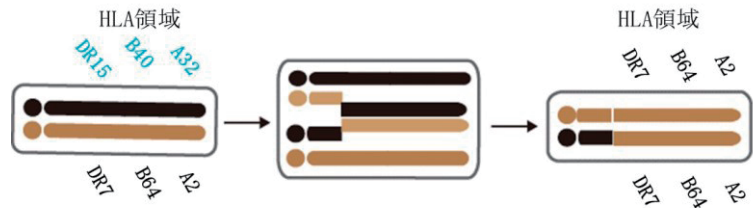
プロジェクト概要

＝研究の背景、目的＝

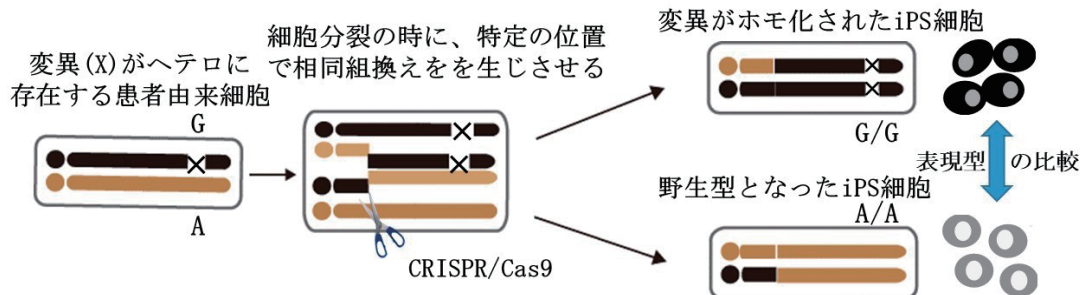
細胞治療における免疫拒絶の軽減化を目的として、我々はヒトiPS細胞のHLA座位ホモ化技術を開発した。この技術を用い、ホモドナーに頼ってきたiPS細胞ストック事業の大幅な促進を図る。さらに適用範囲を、がん化リスクの低い臍帯血幹細胞や骨髄幹細胞に拡張し『HLAホモ化幹細胞バンク』樹立を計画している。

また本技術は、相同組換えの機序を利用し、従来法と比較してホモ化効率が著しく改善されている。このため、染色体の特定領域のみに効率よく、部分的ホモ化を生じさせることができ、GWAS（ゲノムワイド関連解析）による疾患感受性領域のホモ化により、病因因子の単離と同時に疾患モデルiPS細胞の作出を行う。

HLA領域のホモ化による免疫原性を低下させた細胞の作出



HLAハプロタイプが揃うことによりこの細胞の免疫原性は低下し、移植の適用範囲が広がる



＝既存治療法・技術に対する優位性＝

細胞治療における免疫拒絶の軽減化への応用に関しては、HLA領域の片アリル欠失や、null化もあるが、片アリル欠失はゲノムの不安定化をもたらし、がん化の要因となる。また、HLA領域がnull化された細胞は、自然免疫の攻撃を受けるため、我々の手法の方が優れていると考えている。病因因子の単離および疾患モデルiPS細胞の作出に関しては、Tet-offによるブルーム遺伝子の発現制御を必要としないインヒビターによる至適条件を見出した。このためブルーム遺伝子の余計なコンストラクション作業は必要なく、簡便に部分染色体ホモ化株を得る事が出来るシステムを確立した。

対象疾患: 筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病

特許情報: 特許第7055469号

技術の特徴: 再生医療、創薬に革新的な役割を果たす可能性がある

市場性、開発における課題: 市場性は極めて高い

# Drugs ~ Intractable disease ~

## Region-specific LOH-inducing applied to HLA region and the sensitive region extracted by GWAS

Principal Investigator

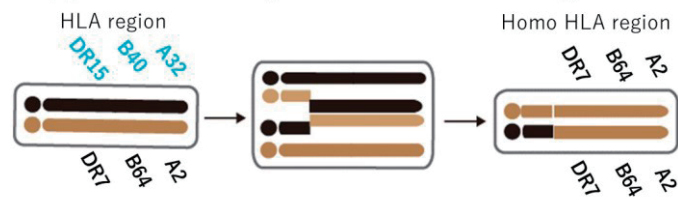
Genome Editing Research and Development Center,  
Graduate School of Medicine, Osaka University

Assistant professor Yasuhide YOSHIMURA

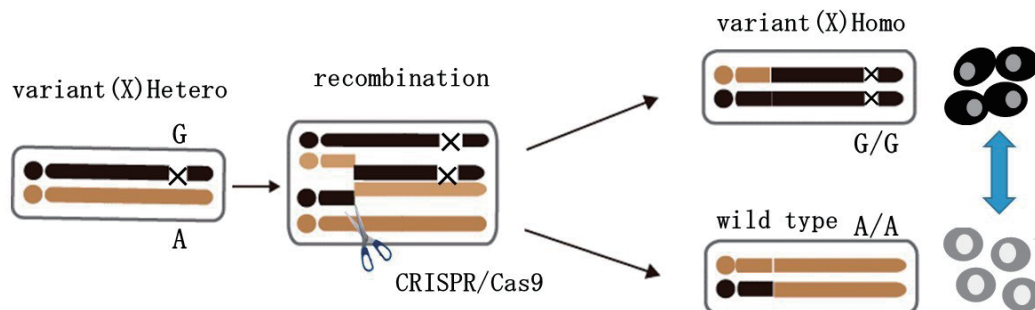
Project Outline

= Background and Purpose =  
When loss of heterozygosity (LOH) is correlated with loss or gain of a disease phenotype, it is often necessary to identify which gene or genes are involved. Here, we developed a region-specific LOH-inducing system based on mitotic crossover in human induced pluripotent stem cells (hiPSCs).

### Application our system to the HLA region



We applied this system to the short arm of chromosome 6, where human leukocyte antigen (HLA) loci are located. Genotyping and flow cytometric analysis demonstrated that LOHs associated with chromosomal crossover occurred at the expected positions. Although careful examination of HLA-homozygous hiPSCs generated from parental cells is needed for cancer predisposition and effectiveness of differentiation, they may help to mitigate the current shortcoming of hiPSC-based transplantation related to the immunological differences between the donor and host.



Assuming that parental hiPSCs bear a heterozygous mutation on the target chromosome and an allele-specific DSB is introduced on that chromosome during the 4N stage of the cell cycle, the genomic region from the site of the DSB to the telomere would contain either a homozygous mutation or no mutation after crossover and chromosome segregation. This phenomenon can then be used to identify genes responsible for certain diseases. When X is a recessive mutation (parental hiPSCs do not have the disease phenotype), some of the clones have the disease phenotype after crossover .

Application: Muscle atrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease  
Patent: P7055469