

特発性大腿骨頭壊死症における bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルに よる壊死骨再生治療の開発



秋山 治彦

Haruhiko Akiyama

岐阜大学医学部整形外科学教室 教授

Professor and Chairman

Department of Orthopaedics, Gifu University

Development of regeneration therapy for idiopathic osteonecrosis of the femoral head with gelatin hydrogels incorporating basic fibroblast growth factor

Profile

1988年京都大学医学部整形外科学教室に入局後、臨床に従事。1999年よりテキサス大学MD Anderson Cancer Centerで研究に従事し、2004年帰国。2013年より岐阜大学医学部整形外科学教室教授。臨床・研究の専門は股関節外科学、骨軟骨代謝学。

専門領域：股関節外科学、骨軟骨代謝学

Haruhiko Akiyama MD, PhD joined the Department of Orthopaedics of Kyoto University, the Department of Molecular Genetics of the University of Texas MD Anderson Cancer Center, and then moved to Gifu University in 2013. His clinical and research interests lie in the area of hip surgery and bone biology.

Specialized field: hip surgery, bone and cartilage metabolism

Abstract

平成27年度中に医師主導治験の開始を目指して、平成26年度に治験薬の製造、治験の実施体制の構築、プロトコール等の作成、本疾患の自然経過に関する後向き観察研究の実施を目的として、本研究を実施した。

治験薬の製造に関しては、bFGF凍結乾燥品（無菌）の試作製造は終了し、予備的安定性試験を開始した。bFGF凍結乾燥品（無菌）の治験薬GMPに準拠した製造、ゼラチンハイドロゲル凍結乾燥品の試作製造は、平成26年度中に終了予定である。

医師主導治験の準備として、以下の内容が終了又は終了予定である。

- 京都大学医学部附属病院で臨床研究を実施し、平成26年6月に全10例の投与後12ヶ月の観察が終了した。統計解析報告書は作成済みである。

- 京都大学整形外科、岐阜大学、東京大学において、特発性大腿骨頭壊死症患者の自然経過を検討する後向き観察研究を実施した。本観察研究により、医師主導治験の対象患者においては、診断後24ヶ月の時点で約30%の骨頭圧潰のリスクがあることを明らかにしており、症例数の設定根拠等のデータを取得済みである。

- 現在、京都大学医学部附属病院臨床研究センターの支援の基、医師主導第Ⅱ相治験の実実施計画書の作成に着手している。

- 平成27年2月にPMDAの薬事戦略相談の実施が決定している。

To start the investigator initiated clinical trial in 2015, we performed production of investigational new drug, establishment of implementation system, development of protocol, and retrospective study of natural course of idiopathic osteonecrosis patients. The trial production of sterilized basic FGF was completed, and stabilization assurance test has proceeded. Production of GMP-based sterilized bFGF and trial production of gelatin hydrogen will be completed in March, 2015.

- We completed a report of statistical analysis of the clinical trial that had been performed in Kyoto University.

- We analyzed natural course of idiopathic osteonecrosis patients in Tokyo, Kyoto, and Gifu University, and found out that collapse of femoral head occurred in 30% of all patients.

- Development of protocol for the investigator initiated clinical trial is now ongoing.

- Pharmaceutical Affairs Consultation will be held in February 2015.

神経筋接合部・骨格筋の興奮伝達障害の病態解明と治療法開発研究



大野 欽 司

Kinji Ohno

名古屋大学大学院医学系研究科・神経遺伝情報学 教授
(副研究科長)

Professor and Vice Dean, Nagoya University Graduate School of Medicine

Elucidation of molecular mechanisms and development of therapeutic options for defective electrical signal transmission at the neuromuscular junction and skeletal muscle

Profile

1983年 名古屋大学医学部卒業
1983年 国立名古屋病院神経内科
1988年 名古屋大学大学院医学系研究科・JSPS特別研究員
1993年 米国メイヨークリニック
2005年 名古屋大学・神経遺伝情報学 教授 (副研究科長)

1983 Graduation from Nagoya University School of Medicine
1983 Neurologist, Nagoya National Hospital
1988 Postgraduate Student, Nagoya University Graduate School of Medicine,
1992 JSPS Research Fellow
1993 Research Fellow and Assistant Professor, Mayo Clinic, USA
2005 Professor and Vice Dean, Nagoya University Graduate School of Medicine

Abstract

本研究の目的は、先天的な神経筋接合部・骨格筋の興奮伝達障害を特徴とする先天性筋無力症候群 (CMS)、Schwartz-Jampel症候群 (SJS)、周期性四肢麻痺 (PP)、先天性ミオトニア、先天性パラミオトニアの分子病態解明を行うとともに、drug repositioning戦略・アンチセンスオリゴヌクレオチド戦略により新規治療法開発研究を行うことである。

【基盤研究成果】

(i) 脊髄前角細胞のレーザーキャプチャー解析により3種類の新規神経筋接合部構築誘導因子を同定した。

(ii) エキソーム解析にて本邦CMS (*Hum Mol Genet* 2014; *Neuromuscul Disord* in press), PP (*Neurology* 2014), SJS (submitted) の解析を行った。

(iii) iPSC樹立拠点機関との共同研究により、CMS, SJS, PP患者iPSCの樹立を行っている。

【治療法開発研究】

(iv) C2C12筋管細胞を用いてagrin存在下においてアセチルコリン受容体クラスター形成を促進する既認可薬を同定し、KD3ヒト筋芽細胞とSkMCヒトプライマリー筋細胞における濃度依存性の効果を検証するとともに、マウスneurotizationモデルにおける効果を検証した。

(v) AChR α サブユニット遺伝子のエクソンP3Aの異常スプライシング変異 (*Hum Mol Genet* 2008, 2009; *Sci Rep* 2013) に対して効率よく exon P3Aのスキッピングを誘導するアンチセンスオリゴを同定した。

The aims of the current project are to elucidate molecular bases of congenital defects of electrical signal transmission at the neuromuscular junction and skeletal muscle, as well as to develop therapeutic modalities using the drug repositioning strategy and exon skipping with an antisense oligonucleotide. The target diseases include congenital myasthenic syndromes (CMS), Schwartz-Jampel syndrome (SJS), periodic paralysis (PP), myotonia congenita, and paramyotonia congenita.

[Elucidation of Molecular Bases]

i. We have identified three novel molecules essential for formation of the neuromuscular junction.

ii. We have identified mutations in CMS (*Hum Mol Genet* 2014; *Neuromuscul Disord* in press), PP (*Neurology* 2014), and SJS (submitted) in Japanese patients.

iii. We are establishing iPSCs from patients with CMS, SJS, and PP.

[Elucidation of Molecular Bases]

iv. We have identified a novel drug X that induces acetylcholine receptor clustering in mouse/human myotubes and a model mouse.

v. We proved that an antisense oligonucleotide efficiently ameliorates abnormal inclusion of exon P3A (*Hum Mol Genet* 2008, 2009; *Sci Rep* 2013).

特発性大腿骨頭壊死症の 治療法確立と革新的予防法開発に むけた全国学際研究



岩本 幸英

Yukihide Iwamoto

九州大学大学院医学研究院整形外科 教授

Chairman, Department of Orthopaedic Surgery, Kyushu University

A nationwide multidisciplinary study for the treatments and prevention of idiopathic osteonecrosis of the femoral head

Profile

1985年 九州大学大学院修了
1996年 九州大学整形外科教授。日本整形外科学会理事(5期)
2011年 日本整形外科学会 理事長
専門領域：整形外科、骨軟部腫瘍

Academic Activities : President of Japanese Orthopaedic Association (2011-), Congress President of 82nd Annual Meeting of the Japanese Orthopaedic Association, Chief National Delegate of Japan, Asia-Pacific Orthopaedic Association
Specialty : Orthopaedic Surgery, Treatment of Bone and Soft Tissue Sarcomas

Abstract

特発性大腿骨頭壊死症は、青・壮年期に好発し、股関節機能障害を来し歩行不能となる重篤な疾患だが、詳細な病因は未だ不明である。治療は複数回の手術が必要となる場合もあり、医療経済学的に大きな問題となっている。また本症は、青・壮年期に好発するため、労働能力の低下をきたし労働経済学的にも解決が待たれる疾患である。

本背景に基づき、昭和50年に特発性大腿骨頭壊死症調査研究班が組織され、本年で39年が経つ。本班では、以下の5項目に重点を置き、オールジャパンでの学際研究を行っている。

- ・疫学調査の継続・発展による疫学特性の把握
- ・病因遺伝子解析
- ・動物モデルおよびiPS細胞解析による病態解明
- ・ステロイド性大腿骨頭壊死発生予防の医薬品開発に向けた多施設臨床研究
- ・安全かつ合理的な外科的治療法の確立

全国疫学調査によれば、本症の半数以上はステロイドに関連して発生しており、いわば医原性の側面を有しており、国民の医療に対する安心と信頼に関わる重大な疾患である。

主な研究内容としては、全特発性大腿骨頭壊死症患者の病因遺伝子の解析、我々が開発した世界初のステロイド性骨壊死動物モデルを用いた病態解析、本症患者から作成した疾患特異的iPS細胞(軟骨細胞)を用いた病態解析、などを行っている。そしてこれらの成果を基に、酸化ストレス、脂質代謝異常、過凝固の3要素抑制による多剤併用ステロイド性骨壊死発生予防の臨床研究を先進医療にて開始した。

Idiopathic osteonecrosis of the femoral head (ION) has generally been considered to result from an ischemia to the bone and bone marrow tissue, however, the precise etiology is still unclear. ION is observed mainly in 30s to 40s and thus it causes loss of hip function in the most important work age. Since osteonecrosis investigation committee by the ministry of health and welfare has been established in 1975, numerous useful researches as well as surgical treatments including joint preservation surgery have been developed through this investigation committee.

In this ongoing research committee, we focus on the following topics to clarify the pathogenesis of ION as well as to develop the preventive methods for the steroid-induced ION.

- 1) Epidemiology
- 2) Genome wide associated study
- 3) Analysis of the animal models and iPS study
- 4) Development of the prevention of the steroid-induced ION
- 5) Establishment of useful surgical treatments

The final goal of this investigation committee is to develop the new drugs to prevent the occurrence of steroid induced ION as well as the all type of ION.

日本人(50代)

疾患特異的 iPSC 細胞を用いた 球脊髄性筋萎縮症の病態解析と 新規治療法の開発



岡田 洋平

Yohei Okada

愛知医科大学神経内科 准教授

Associate Professor, Department of Neurology,
Aichi Medical University

Pathophysiological analysis and development of novel treatment for Spinal and Bulbar Muscular Atrophy (SBMA) using disease specific iPSCs

Profile

1997年名古屋大学医学部卒業。2004年同大学院修了。医学博士。日本学術振興会特別研究員(PD)、慶應義塾大学医学部特任講師等を経て2013年より愛知医科大学神経内科准教授。

専門領域: 神経内科学、分子神経生物学、幹細胞生物学

1997 M.D., School of Medicine, Nagoya University.
2004 Ph.D., Graduate School of Medicine, Nagoya University.

2006 Research Fellow (PD), the Japan Society for the Promotion of Science.

2008 Assistant Professor, School of Medicine, Keio University.

2013 Associate Professor, Department of Neurology, Aichi Medical University.

Specialty: Neurology, Molecular neurobiology, Stem cell biology

Abstract

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) は、成人男性に発症する緩徐進行性の下位運動ニューロン変性疾患である。これまでのSBMAモデルマウスを用いた解析により、ポリグルタミン鎖 (CAGリピート) の伸長した変異アンドロゲン受容体 (AR) が、リガンドであるテストステロン依存的に凝集体を形成し、神経変性を誘導することが示されている。このSBMAモデルマウスのオスは、抗アンドロゲン療法により症状が改善することが示されており、LH-RHアナログ (リュープロレリン) を用いた臨床試験では、一定の病態抑制効果が得られている。しかしSBMAモデルマウスの表現型は患者でみられる病態とは異なる部分もあり、また複数の異なる病態や骨格筋による非細胞自律的な病態も示唆されており、運動ニューロン変性の分子機構には依然として不明な点が多い。したがって、SBMA患者の病態により即した疾患モデルを用いた詳細な病態解析、新規治療の標的となり得る病態分子の探索同定、早期の病態進行や治療効果の指標となり得る的確な分子マーカーの開発、より効果的で安全性の高い根本的治療の開発が必要である。そこで、本研究ではSBMA患者体細胞より疾患特異的iPSC細胞を樹立し、新たな疾患モデルを構築し、神経変性の病態解明、治療の標的となり得る新たな病態分子の探索と新規治療法の開発を行う。

Spinal and Bulbar Muscular Atrophy (SBMA) is an adult onset, slowly progressing lower motor neuron disease. In SBMA model mice, neurodegeneration has been shown to be caused by the ligand (testosterone) dependent aggregation of mutant androgen receptor (AR) with expanded polyglutamine (polyQ). Moreover, anti-androgen treatment is effective for SBMA model mice, and clinical trials of LH-RH analogue (Leuprorelin) showed certain effect on patients of early disease. However, some of the phenotypes in SBMA model mice are inconsistent with those in patients, and multiple pathogenesis, as well as non-cell autonomous effects of skeletal muscles on neurodegeneration has been indicated, suggesting that the molecular mechanisms underlying motor neuron degeneration should still be elucidated and further advanced therapeutic approach is required. For these purposes, development and detailed analysis of novel disease models that precisely recapitulate SBMA patients, identification of more accurate markers for disease progression, and development of effective and safe therapy is needed. In this study, we generated disease specific induced pluripotent stem cells (iPSCs) from SBMA patients to establish novel disease models, and would perform pathophysiological analysis, identify accurate disease markers, and develop novel treatments for SBMA.

ジストニアの分子病態解明と 新規治療法開発

Molecular dissection of dystonia and establishment of novel treatments



梶 龍 兒

Ryuji Kaji

徳島大学大学院・ヘルスバイオサイエンス研究部・
臨床神経科学分野 教授

Professor and Chairman, Department of Clinical Neuroscience,
University of Tokushima Graduate School of Medicine

Profile

1979年 京都大学大学院医学研究科卒業
1981-1985年 京都大学大学院医学研究科大学院
1985-1986年 米国ペンシルバニア大学ポストドクトラル
フェローシップ研究員
1988年 京都大学医学部神経内科助手
2000年より 現職
専門領域: 臨床神経科学

1979 Graduated from Kyoto University School of
Medicine
1981 PhD course in Medical Science
-1985
1985 Post-doctoral fellow in Department of Neurology,
Hospital of the University of Pennsylvania
-1986
Speciality: Clinical Neurology

Abstract

ジストニアは、海外ではパーキンソン症候群の約4分の1の有病率といわれる決してまれではない病態で、重症化すると著しい日常生活上の障害をきたす重要な病態である。ジストニアの病態解明は、正確な診断ならびに治療開発に重要であり、喫緊の課題である。我々は、Japan Dystonia Consortiumを立ち上げ、ホームページや各研究会を通して周知し、オールジャパンの態勢で病態に取り組んでいる。特に、遺伝性ジストニアの原因遺伝子の解明、ならびに次世代ボツリヌス毒素治療である低分子ボツリヌス毒素製剤 (A2NTX) の臨床応用において成果を上げている。

1) 新規のジストニア遺伝子の発見
孤発性全身性ジストニア2症例において、エピジェネティクスに関する遺伝子にde novo変異があることを発見し、既知のジストニア遺伝子からは解明できなかった異常な病態カスケードを明らかにした。

2) 低分子ボツリヌス毒素製剤 (A2NTX) の臨床応用
従来のA1型やB型とはアミノ酸配列の異なるA2型ボツリヌス毒素のみを産生するボツリヌス菌から、拡散が少なく安全性・有効性にすぐれた低分子ボツリヌス毒素製剤 (A2NTX) を作成することに成功し、その臨床応用に関して日欧の特許を取得した (米国・カナダに申請中)。徳島大学病院臨床倫理審査委員会の承認のもとすでに臨床研究としてヒトに投与され、非施注筋への拡散が少なく有効性が高いことが確認されている。本剤は、GLP/GMPに基づき製剤化し、薬事承認のための臨床試験を行う段階に入っている。

Clinical manifestation of dystonia features involuntary muscle contraction or spasm resulting in postural and movement disorders. Pathomechanisms of dystonia have been revealed genetically and physiologically, however, further investigations are a prerequisite for developing the most effective therapies. We have launched a project of Japan Dystonia Consortium, in which patients with dystonia are enrolled, and diagnostic and therapeutic consultation are conducted. The latest achievements include the identification of new dystonia gene and the clinical application of the next generation botulinum toxin product (A2NTX).

1) Discovery of new dystonia gene
We have revealed genetic defects in the gene related to epigenetics in two sporadic cases with generalized dystonia. A novel pathological cascade for developing dystonia has been unveiled.

2) Clinical application of low molecular weight botulinum toxin product (A2NTX)
We have successfully extracted a new type of botulinum toxin from Clostridium botulinum bacteria, which has several distinctive features including restricted diffusion and selective effectiveness. We have already obtained a patent for A2NTX in Japan and European countries. Clinical trials have been performed at the Tokushima University Hospital and its clinical benefits are confirmed. The A2NTX production and GLP/GMP studies have proceeded.

エピジェネティック稀少疾患の 治療に向けた研究および 原因未解明な稀少疾患に対する 解析技術展開研究

Research for the medical attenuation of epigenetic disorders and for the technical development for the gene identification in unknown rare genetic disorders



吉浦孝一郎

Koh-ichiro Yoshiura

長崎大学原爆後障害医療研究施設 教授

Professor at Atomic Bomb Disease Institute at Nagasaki University

Profile

1990年 長崎大学医学部卒業
1994年 長崎大学大学院医学研究科修了 博士(医学)
2008年 長崎大学原爆後障害医療研究施設 教授~現在に至る
専門領域: 人類遺伝学

1990 March: Graduate from Nagasaki University School of Medicine
1994 March: Postgraduate degree, Ph.D, at Nagasaki University
2008 April: Professor at Atomic Bomb Disease Institute at Nagasaki University
Specialty: Human Genetics

Abstract

第一目的は、エピジェネティック疾患の治療を目的としている。歌舞伎症候群、Sotos症候群、Beckwith-Wiedemann症候群は、個々の原因遺伝子が同定されていて一遺伝子病であるが、最終的な患者症状発現は、それらの原因遺伝子変異によるエピジェネティック制御の異常によってもたらされると考えられる。治療(症状緩和)は、変異遺伝子の正常化ではなく、可逆的なエピジェネティック異常を正常化することで達成できると考え研究を進める。まず、歌舞伎症候群、Sotos症候群、Beckwith-Wiedemann症候群モデルマウス作成を行う。HDC抑制剤やバルプロ酸等のヒストンアセチル化やメチル化を変化させ得る薬剤で、かつ既に臨床利用されている薬剤をそれらのモデルマウスに投与することで中枢神経症状、その他の症状改善が図れるかの検討を行う。

第二目的は、まだ存在している遺伝子疾患と思われる稀少疾患の変異遺伝子同定を行う。先端異骨症、家族性ケロイド、家族性腎症、家族性脳動静脈奇形、中條-西村症候群様自己炎症疾患、変異陰性の歌舞伎症候群、Beckwith-Wiedemann症候群等の原因変異未同定疾患を対象として、通常exome解析に加え、全ゲノムシーケンスも視野に入れて原因変異を明らかにする。

We aim at two purposes. First one is to find therapeutic method of epigenetic disorders. Kabuki, Sotos and Beckwith-Wiedemann syndrome in which clinical symptoms could be the effect of epigenetic modification due to single gene defect in each syndrome. We speculate that epigenetic abnormality can be manipulated instead of repair the defected genes. After the model mouse generation, Histone deacetylase inhibitor, valproate or and so on, which is thought to modify the epigenetic state and already used for clinical application, can be useful for epigenetic normalization in model mouse. We will test whether those drugs are effective or not.

Second purpose is to identify the genes responsible for single gene defect with unknown genetic defect. Acrodysostosis, familial keroid, familial nephropathy, familial arterio-venous malformation, Nakajo-Nishimura like syndrome, mutation-negative kabuki and Beckwith-Wiedemann syndrome is target to reveal mutations using conventional exome analysis and whole genome sequence.

後縦靭帯骨化症の病態解明・ 治療法開発に関する研究



松本 守雄

Morio Mastumoto

慶應義塾大学医学部整形外科 教授

Professor, Keio University, Dep. Orthopaedic Surgery

Research for elucidation of pathogenesis and treatment for ossification of the posterior longitudinal ligament

Profile

2003年 慶應義塾大学専任講師 (医学部整形外科学)
2005年 慶應義塾大学医学部 運動器再建・再生学講座
助教授
2008年 慶應義塾大学医学部整形外科 准教授
2015年 慶應義塾大学医学部整形外科 教授(教室主任)
専門領域: 脊椎脊髄病

2003 Assistant professor, department of orthopaedic surgery, keio university hospital
2005 Associate professor, department of musculoskeletal reconstruction and regeneration surgery, keio university hospital
2008- Associate professor, department of orthopaedic surgery, keio university hospital
2014- Professor and chairman of orthopaedic surgery
Specialties : Spine and spinal cord disorders

Abstract

本研究では後縦靭帯骨化症に関する調査研究、疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究(京都大学iPS細胞研究所)、難病の次世代シーケンス拠点と連携し、病態解明、新たなシーズ探索、医薬品開発を目指す。

われわれが施行したゲノムワイド相関解析から導き出された「6つの新規遺伝子座」(6番、8番、12番、20番染色体)の成果(*Nat Genet.* 2014; 46: 1012-6)を発展させ、層別化解析による遺伝子座の絞り込みや疾患感受性遺伝子の同定を行う。また、発現誘導・抑制実験(in vitro)での靭帯・骨分化マーカーの変動から異所性骨化誘導能を検討し、有望な遺伝子に関しては遺伝子改変動物を確立し、表現型系解析を通しin vivoにおける候補遺伝子の機能解明、ヒト検体におけるレーザーマイクロダイセクション法を用いた発現解析を行う。さらに、疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究班と連携し、後縦靭帯骨化症患者由来iPS細胞株を確立し、遺伝子発現プロファイル解析ならびにメチル化プロファイル解析を行い、病態解析、創薬への開発を試みる。

医薬品開発には、ケミカルライブラリー等を用いた網羅的なスクリーニングを行い、当該遺伝子の発現制御因子を探索・同定する。同定された化合物は、疾患モデル動物を利用し治療効果ならびに安全性の検討を行い、薬剤スクリーニング系の確立を行うとともに、最終的には新たなシーズ探索さらには「新規医薬品」への発展を目指す。

To identify susceptibility genes for ossification of the posterior longitudinal ligament (OPLL), we conducted a genome-wide association study (GWAS) in collaboration with The Investigation Committee on the Posterior Longitudinal Ligament and identified six susceptibility loci for OPLL (*Nat Genet.* 2014; 46: 1012-6). We also analyze gene expression around the six loci during the ossification process in vitro, and explore genes implicated in OPLL etiology and pathogenesis. Gene overexpression or knockdown analysis would be performed to select the susceptibility genes, and after that, genetically modified animals for candidate gene would be established to analyze the phenotype. In collaboration with the Program for Intractable Disease Research utilizing Disease-specific iPS cells, analysis of refractory disease pathology and drug creation are expected to achieve using disease-specific iPS cells from OPLL patients.

To establish new drugs, exhaustive screening of chemical library is useful to search the new seeds which control the susceptibility genes expressions on ossification process. After verification concerning efficacy and safety of the new seeds using disease model animals, we finally try to convert the candidate seeds into new drug.

先天性インプリント異常症における メチル化体外診断薬の実用化と 生殖補助医療の影響



有馬 隆 博

Takahiro Arima

東北大学大学院医学系研究科 情報遺伝学分野 教授

Professor, Department of Informative Genetics,
Tohoku University Graduate School of Medicine

High-throughput DNA Methylation Analysis
Methods, PCR-Luminex for the Diagnosis
of Genomic Imprinting Disorders in
ART Babies

Profile

1986年 九州大学医学部附属病院産婦人科
1998年 英国ケンブリッジ大学 Wellcome CRC研究所
Research Fellow
2001年 九州大学生体防御医学研究所ゲノム機能制御学
部門 助手
2006年 東北大学大学院医学系研究科 准教授
2010年 東北大学大学院医学系研究科 情報遺伝学分野
教授
専門領域：産婦人科学、分子生物学

1986 Medical doctor, Dept. Ob.Gyn., Kyusyu Univ.
Hospital, Japan
1998 Research Fellow, Wellcome CRC Institute,
Cambridge, UK.
2001 Assistant Professor, Dept. Reproduc-
tive Phsiol.Endocrinol., Medical Inst.
Bioregulation,Kyushu Univ., Japan
2006 Assistant Professor, Tohoku University Grad-
uate School of Medicine, Japan
2010 Professor, Tohoku University Graduate
School of Medicine, Japan
Specialties : Gynecology, Molecular biology

Abstract

生殖補助医療（ART）の普及により、ART出生児に
これまで非常に稀であった先天性インプリンティング
（GI）異常症の発生頻度の増加が国内外で報告され、注
目されている。本研究では、地元企業と共同で、簡便、
迅速な世界初ハイスループット新規メチル化解析シス
テムを開発することを目的とする。初年度は、非臨床の
POC取得、次年度からは、臨床性能試験を実施、最終的
には体外診断薬としての承認を出口とする実用化を目指
す。本システムにより、臨床の現場ではインプリント異
常の頻度、程度の把握だけでなく、ART治療の安全性評
価、リスク因子の同定の一助となり、インプリント異常
症の早期診断、予防に貢献し、罹患児の予後と家族の負
担を大きく軽減する。

Recent studies indicate the possibility of excess
imprinting disease occurrence in babies conceived
by assisted reproductive technologies (ART).
PCR-Luminex method is powerful tool for the
methylation analyses, suitable for the use at the
clinical diagnosis level because of taking much time
and multistep procedures.

細胞内シグナル伝達異常による 先天奇形症候群の病態解明と 治療法開発の研究



青木 洋子

Yoko Aoki

東北大学・大学院医学系研究科・遺伝病学分野 准教授

Associate Professor of Tohoku University of School of Medicine

**Pathogenesis and therapeutic approach
of congenital disorders with dysregulation of
signaling pathways**

Profile

平成8年東北大学大学院修了（医学博士）、マサチューセッツ総合病院リサーチフェロー・日本学術振興会特別研究員(PD)を経て平成12年東北大学大学院医学系研究科助教、平成20年に同准教授、現在に至る。
専門領域：臨床分子遺伝学

M.D, Tohoku University School of Medicine in 1990, PhD, Tohoku University School of Medicine in 1996. Postdoctoral fellow, Massachusetts General Hospital 1996-1999, Assistant Professor in Tohoku University of School of Medicine in 2000, Associate Professor 2008- Present

Research focus : Molecular Genetics

Abstract

RAS/MAPK症候群は、細胞内シグナル伝達異常が原因となる先天奇形症候群である。特異的顔貌・先天性心疾患・低身長・精神遅滞などを示す常染色体優性遺伝性疾患であり、ヌーナン症候群・Costello（コストロ）症候群、cardio-facio-cutaneous（CFC）症候群などが含まれる。私達はコストロ症候群、CFC症候群の原因がHRAS, KRAS, BRAFであることを世界に先駆けて報告し（Aoki et al. Nature Genetics 2005, Niihori, Aoki et al. Nature Genetics 2006）、RASシグナル伝達異常を示す症候群をRAS/MAPK症候群と総称することを国際的に提唱した。本研究では、RAS/MAPK症候群の遺伝子解析研究と、モデルマウスによる病態解明・治療法開発を目的とする。

平成26年度はRAS/MAPK症候群の遺伝子解析を継続し、Shimmelpennig症候群の新規原因遺伝子を2遺伝子同定した。またCFC症候群患者のモデルマウス（*Braf*ノックインマウス）作製に成功した（Inoue, Aoki et al. Hum Mol Genet, 2014）。*Braf*ノックインマウスは浮腫、リンパ管異常、骨格異常や、心形態異常を示し胎生期/新生児期に死亡した。本モデルマウスの症状を改善する薬剤のスクリーニングを行ったところ、MEK阻害剤PD0325901を妊娠マウスへ投与することにより致死は軽減し、浮腫、骨格異常も改善した。ヒストン脱メチル化酵素阻害剤であるGSK-J4またはNCDM-32b投与により1匹ずつ生存した。さらにPD0325901とGSK-J4の併用療法では、単剤投与よりも致死は改善し、心臓の弁肥厚も改善した（Inoue, Aoki et al. Hum Mol Genet, 2014, 特願2014-063166）。現在はさらに、類縁疾患のモデルマウス作製と治療法開発に取り組んでいる。

Noonan, Costello and cardio-facio-cutaneous (CFC) syndromes are congenital anomaly syndromes caused by germline mutations that encode components of the RAS-MAPK pathway, called "RASopathies". We have identified germline mutations in *HRAS* in Costello syndrome, and *KRAS* and *BRAF* mutations in cardio-facio-cutaneous syndrome (Aoki et al., Nature Genetics, 2005, Niihori et al., Nature Genetics, 2006). In 2013, we identified a novel gene of Noonan syndrome, *RIT1*, using next generation sequencer.

To define the pathogenesis and to develop a potential therapeutic approach, we generated new knock-in mice (*Braf*Q241R/+) expressing the *Braf*Q241R mutation, which corresponds to the Q257R mutation in CFC syndrome. *Braf*Q241R/+ mice manifested embryonic/neonatal lethality, showing edema, craniofacial abnormalities and heart defects. Prenatal treatment with a MEK inhibitor, PD0325901, rescued the embryonic lethality with amelioration of craniofacial abnormalities and edema in *Braf*Q241R/+ embryos. Unexpectedly, one surviving pup was obtained after treatment with a histone 3 demethylase inhibitor, GSK-J4, or NCDM-32b. Combination treatment with PD0325901 and GSK-J4 further increased the rescue from embryonic lethality, ameliorating enlarged cardiac valves (Inoue et al., Hum Mol Genet, 2014). These results suggest that epigenetic modulation as well as the inhibition of the ERK pathway will be a potential therapeutic strategy for the treatment of RASopathies.

性分化・性成熟領域 38 疾患の診療ガイドライン 作成に向けた遺伝子診断法の確立



深見 真紀

Maki Fukami

国立成育医療研究センター分子内分泌 研究部長

Head of Department of Molecular Endocrinology,
National Research Institute for Child Health and Development,
Tokyo, Japan

Systematic molecular analyses of patients with pubertal disorders and disorders of sex development: Evidence synthesis for guideline development

Profile

慶應義塾大学大学院修了。ハイデルベルグ大学フェロー、国立成育医療センター研究員・室長を経て2011年より現職。
専門領域：分子内分泌学

- 1990 Graduated from Hamamatsu University School of Medicine, Shizuoka, Japan
 - 1994 M.D., Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan
 - 1995 Research Fellow in Human Genetics, Heidelberg University, Heidelberg, Germany
 - 2003 Postdoctoral Fellow, National Research Institute for Child Health and Development, Tokyo, Japan
 - 2011- Present position
- Major research interests: Molecular Endocrinology

Abstract

本研究の目的は、難治性疾患等政策研究事業領域別基盤研究分野「性分化・性成熟疾患群における診療ガイドラインの作成と普及」班における診療ガイドライン作成の基盤となるエビデンスの構築である。性分化・性成熟疾患は、外性器異常、思春期発来異常、性腺腫瘍、不妊を介して生涯にわたるQOL低下を招く難病である。これらの疾患の診療ガイドライン作成には遺伝学的背景に基づく正確な病型分類が必須であるが、現在遺伝子診断法は確立されていない。本疾患の遺伝子変異パターンと臨床像には人種差があるため、日本人患者のデータ集積が必要である。

本研究班では平成26年度において、全国の臨床医や学会と連携して性分化・性成熟疾患患者の臨床検体296を集積した。検体は、ナショナルセンターバイオバンク事業との連携でバンキングした。さらに次世代シーケンサー、アレイCGHを含む最新の遺伝子解析技術を導入し、個々の疾患に対する効率的遺伝子診断システムを構築した。これを用いて代表的疾患症例260の遺伝子解析を行った。この解析によって日本人患者の遺伝子変異パターンおよび臨床スペクトラムを明らかとし、データベースに登録した。また、新たな疾患成立機序の解明、治療法の提唱を行った。さらに、胎児期精巣分化の分子基盤解明を目指したモデル動物解析に着手した。以上の成果を69編の英文論文、研究班ホームページ、学会招待講演などで公表した。

Pubertal disorders and disorders of sex development (DSD) decrease quality of life of affected individuals by causing genital abnormalities, defective pubertal development, gonadal tumors, and/or infertility. The aim of this study was to clarify the molecular basis of pubertal disorders and DSD in Japanese. We performed systematic molecular analyses of patients using a next generation sequencer and comparative genomic hybridization. We also performed *in vitro* assays and animal studies to clarify the function of disease-associated genes. In 2014, we collected clinical samples from 296 patients with various types of pubertal disorders and DSD. Samples from 260 patients were subjected to molecular analyses. We clarified the mutation frequency of known causative genes, and elucidated the phenotypic consequence of each mutation. Furthermore, we identified a novel candidate gene for pubertal disorder. We also found the possibility of novel therapeutic options for hereditary gynecomastia due to AR mutations. We published 69 English papers. Molecular and clinical data of each patient were submitted to a database. The results of this study serve to develop a clinical guideline for pubertal disorders and DSD.