

プリオン病に対する 低分子シャペロン治療薬の開発



桑田 一夫

Kazuo Kuwata

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 教授

Professor, United Graduate School of Drug Discovery and Medical Information Sciences, Department of Gene and Development, Graduate School of Medicine, Gifu University

Development of a Medical Chaperone
for Prion Diseases

Profile

1982年 岐阜大学医学部医学科卒業
2004年 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科教授、
大学院医学系研究科遺伝発生学分野 教授（併任）
専門領域：構造生物学、論理的創薬

1982 M.D. School of Medicine, Gifu University, 2004 Professor, United Graduate School of Drug Discovery and Medical Information Sciences, Department of Gene and Development, Graduate School of Medicine, Gifu University
Professional Research Area: Structural Biology, Logical Drug Design

Abstract

我々は、プリオン病に対する低分子シャペロン治療薬を開発してきた。低分子シャペロンは、蛋白質の天然構造を安定化する化合物である。まず、リード化合物を最適化し、脳移行性や安全性を確認した。また、有機合成ルートを確立し、GMP基準に従って、有機合成を行った。そのためにアカデミアにおいて初めて、GMP準拠防爆有機合成施設を設置した。また、First in Humanに必要な非臨床安全性試験を実施した。霊長類医学研究所にて、薬理薬効試験を行っている。また、PMDAにおける薬事戦略相談を定期的実施している。また、オールジャパンでの治験実施のためのJACOP (Japanese Consortium of Prion Diseases) を設立した。さらに長崎大学医学部のP3施設に、治験における薬理動態解析のためのLC/MS/MSを設置した。このようにして、ICH及び薬事法に基づく、プリオン病に対するFirst in Humanでの治験実施体制を、世界で初めて構築した。2年後に低分子シャペロンを用いた治験を開始する計画である。またプリオン病は希少疾患であるため、国際治験が必要となるので、その体制を構築する予定である。

A medical chaperone (MC) is a molecule that stabilizes the native conformation of a protein. Here we applied the MC strategy for prion diseases. We optimized a lead compound in terms of anti-prion activity, delivery to the brain, and safety. The optimized compound was successfully synthesized according to the GMP guidelines. For the first time in academia, we constructed an explosion-proof organic synthesis facility in conformity with GMP. Non-clinical studies required for the first-in-human clinical trial were conducted in conformity with GLP. Detailed pharmacological and medical benefit studies were initiated at Tsukuba Primate Research Center. Furthermore, we received the pharmaceutical strategic consultation from the Pharmaceutical and Medical Device Agency in Japan. We set up a Japanese Consortium of Prion Diseases (JACOP) for natural history investigation and clinical trials in conformity with GCP. We established a LC/MS/MS P3 facility at Nagasaki University for pharmacokinetic analysis in patients under the clinical trial. Accordingly, we have established a practical drug development system for prion diseases under the regulations of the pharmaceutical affairs law and the international conference for harmonization (ICH). Joint collaboration in the international clinical trials is further required for the development of therapeutics for prion diseases.

慢性活動性 EB ウイルス感染症と その類縁疾患に対する 革新的治療薬を実現するための 独創的開発基盤



藤原 成悦

Shigeyoshi Fujiwara

国立成育医療研究センター研究所母児感染研究部 部長

Head, Department of Infectious Diseases, National Research Institute for Child Health and Development

Innovative strategies to develop effective drugs for the treatment of chronic active EBV infection and related diseases

Profile

1980年 北海道大学卒業
1984年 同大学院修了、助手
1985年 米国国立がん研究所 Visiting Fellow
1990年 日本大学専任講師
2003年 国立成育医療研究センター研究所母児感染研究部 部長

専門領域: ウイルス学

1980 M.D., Hokkaido University School of Medicine
1984 Ph.D., Hokkaido University
1984 Assistant Professor, Hokkaido University
1985 Visiting Fellow, National Cancer Institute, USA
1990 Assistant Professor, Nihon University
2003 The present position
Specialties : Virology

Abstract

慢性活動性EBウイルス (EBV) 感染症 (CAEBV) は原因不明の希少疾患であり、EBV感染TおよびNK細胞の増殖を共通の病態とする。本研究は、遺伝子・病態解析から、治療薬シーズのスクリーニング、モデルマウスによる評価までの一連の研究により革新的治療薬のシーズを発見することを目標とする。

1. エクソーム解析

CAEBV患者8名およびその家族19名、計27名の解析により複数の背景遺伝子候補を同定した。候補遺伝子は、variantホモ接合体の野生型ホモ接合体に対するオッズ比が5.0以上のものを含んでいた。また、分類不能型免疫不全症を基礎疾患として発症したCAEBV患者の2家系からそれぞれNF- κ Bの変異と血球系の分化に関与する転写因子の変異を同定した。

2. 独自のスクリーニング法によるシーズ探索

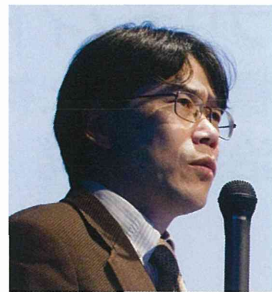
EBVのチミジンキナーゼによりリン酸化されて初めて細胞毒性を示す核酸誘導体を見出すことができる独自のスクリーニング法で複数のヒット化合物を見出した。また、CAEBV由来細胞株KAI3の増殖抑制を指標とする方法では、約100化合物を調べ複数の候補を見出した。

3. EBV感染細胞の増殖機構解析と既存薬剤の効果検証

CAEBV由来細胞株に高発現され、EBVのLMP1蛋白質により発現が誘導されるCD137を有力な治療標的分子候補として同定した。成人T細胞白血病の分子標的薬として認可されている抗CCR4抗体(Mogamulizumab)がEBV感染T/NK細胞に対し抗体依存性細胞傷害を惹起し治療効果を有することがモデルマウスで示された。CAEBVへの適応拡大にむけた検討を開始する。

Chronic active Epstein-Barr virus (EBV) infection (CAEBV) is an intractable disease characterized by systemic proliferation of EBV-infected T or NK cells. Genetically predisposed immunodeficiency of limited extent is thought to be involved in its pathogenesis. The goal of this study is to find a seed of a novel therapeutic for the treatment of CAEBV and related diseases. Exome analysis of eight patients with CAEBV and 19 family members revealed candidate background genes. One of the genes had an odd's ratio of more than 5, comparing variant homozygotes and wild-type homozygotes. Our original screening method to find nucleoside analogues that exhibit cytotoxic activity after being phosphorylated by EBV-encoded thymidine kinase identified multiple molecules with potential specific cytotoxicity to EBV-infected cells. CD137, a member of the TNF receptor superfamily was shown to be induced by EBV-encoded LMP1 in the virus-infected T cells. Signals induced by its ligation with CD137 ligand inhibited apoptosis induced by etoposide. CD137 is thus a candidate target of a novel anti-CAEBV therapy. Mogamulizumab, an anti-CCR4 monoclonal antibody, was shown to induce antibody-dependent cellular cytotoxicity against EBV-infected T/NK cells and it had therapeutic effect on CAEBV model mouse. Extension of its indication to CAEBV might be possible.

プリオン病の予防治療薬 開発促進研究



堂 浦 克 美

Katsumi Doh-ura

東北大学大学院医学系研究科 教授

Professor, Department of Neurochemistry, Tohoku University
Graduate School of Medicine

Drug development research for the
prevention and treatment of prion disease

Profile

専門はプリオン病の病態解明と治療開発に関する研究であり、これまでにプリオン病治療研究の起点となる成果や、新薬開発の先駆けとなる成果を残してきた。

専門領域：神経化学分野

My specialty is the study on therapeutic development and pathogenesis of prion diseases. I have made some important contributions on this research field and have kept trying to pioneer in developing a cure for prion diseases.

Abstract

亜急性に進行する致死性神経難病であるプリオン病は、発病早期の診断が困難で、プリオンは通常の滅菌処理に耐性であるため、医療行為による二次感染も発生している。発病後の介入では脳内プリオン量が飽和状態に近いいため、病気の進行を阻止できない。実効的な介入には、感受性保因者やリスク保因者に対する予防薬の開発や飽和状態の脳内プリオン量を激減させるプリオン分解促進治療薬の開発が必要である。

私達は、糖誘導体 (CED) がプリオン病の発病を抑制することを発見した。CEDは、体内への単回投与でほぼ寿命一杯にわたり発病を抑制するが、実用化には化合物のバイオアベイラビリティや毒性の改善が課題である。そこで、ピボでの活性評価には時間を要するため、ピボでのCED活性相関データとパラレルな結果を示す細胞評価系を確立し、ピボでのCED毒性も細胞パネルを用いて予測し、迅速スクリーニングを可能とした。さらに、治療効果を期待できる候補物を選抜するための増殖飽和型プリオン感染細胞の開発にも成功している。これらの成果を活用して、高活性で安全な予防薬試験物や治療薬試験物を得るため、CEDをリードとした最適化研究に鋭意取り組んでいる。最終的に得られる試験物は、患者やリスク保因者への活用を目指して、関連する研究グループと連携して医師主導治験へ発展させる予定である。

Prion diseases are fatal neurological illnesses that progress subacutely. The diseases are difficult to diagnose in early clinical stages, and the pathogen, prion, is resistant to usual sterilization conditions so that secondary infections have occasionally occurred through medical practice. Because the prion level in the brain is already almost saturated at disease onset, no therapeutic intervention after the onset has succeeded in preventing the disease progression. Effective intervention needs both potent preemptive-treatment agents for the risk-carriers and potent prionolysis-promoting agents for the symptomatic patients.

We have found that sugar derivatives (CEDs) are effective in suppressing the pathogenesis of prion diseases. Even a single dose into prion-infected animals is capable to suppress the disease onset over the almost entire life. Towards practical use, improvements of bioavailability and toxicity of CEDs are the issue to be solved. Therefore, we have newly established cell-based drug evaluation systems suitable for rapid screening for more potent and safer CED-related compounds, and we have been intensively optimizing CEDs using these new systems. We will test the finally optimized compounds in the patients and the risk-carriers through an investigator-initiated clinical trial which will be conducted in collaboration with the relevant prion research groups.

プリオノイド蛋白質の凝集・伝播を 標的とした神経コンフォメーション病の 治療法開発



永井 義隆

Yoshitaka Nagai

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所疾病研究第四部
室長

Section Chief, Department of Degenerative Neurological
Diseases, National Center of Neurology and Psychiatry

Molecular therapy for the conformational neurodegenerative diseases targeting aggregation and transmission of prionoid proteins

Profile

1990年 大阪大学医学部卒
1995年 博士（医学）
1997年 デューク大学ポスドク
2001年 大阪大学 助手
2007年 同 准教授
2008年より 現職
専門領域：神経内科学、神経科学

1990 MD
1995 PhD, Osaka University
1997 Postdoctoral fellow, Duke University Medical Center
2001 Assistant Professor
2007 Associate Professor, Osaka University Graduate School of Medicine
2008- Present position
Specialties : Neurology, Neuroscience

Abstract

近年、ポリグルタミン（PolyQ）病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、パーキンソン病（PD）など、蛋白質コンフォメーションの異常により発症する神経コンフォメーション病では、PolyQ、TDP-43、 α シヌクレイン（ α Syn）など様々な病原蛋白質（プリオノイド蛋白質）がいずれもプリオン様性質を獲得して凝集し、細胞・組織間を伝播して神経変性が進展すると考えられている。本研究では、神経コンフォメーション病に共通する疾患横断的な視点から、プリオノイド蛋白質の凝集・伝播を標的とした分子標的治療薬、またその薬効評価のための疾患バイオマーカーを開発することを目的として研究を行っている。今年度は、1) プリオノイド蛋白質の凝集阻害：プリオノイド阻害ペプチドQBP1がTDP-43発現ALSモデルショウジョウバエに有効である可能性を示した。また、FDA認可化合物ライブラリーからのスクリーニングを行い、新規のPolyQ凝集阻害化合物を同定した。2) プリオノイド蛋白質の伝播阻害：培養細胞モデルを用いて、分子シャペロンHsp40がPolyQ蛋白質の細胞外分泌を抑制することを明らかにした。3) 疾患バイオマーカーの開発：既に開発している α Synオリゴマーの高感度ELISAアッセイ系に、heterophilic antibodyが重大な影響を与えることを明らかにした。

Conformational neurodegenerative diseases such as polyglutamine (polyQ) diseases, amyotrophic lateral sclerosis (ALS), and Parkinson's disease (PD), share a common molecular pathogenesis, in which prionoid proteins such as polyQ, TDP-43, and α -synuclein (α Syn) gain prion-like properties to form aggregates and to be transmitted throughout the brain, eventually leading to neurodegeneration. In this study, toward developing a molecular therapy targeting prionoid proteins and biomarkers for the conformational neurodegenerative diseases, 1) we demonstrated possible therapeutic effects of the polyQ aggregation inhibitor QBP1 on ALS model flies expressing TDP-43. We also performed a screening of a FDA-approved chemical compound library, and identified novel polyQ aggregation inhibitors. 2) We revealed that molecular chaperone Hsp40 suppresses extracellular secretion of polyQ proteins in cell culture. 3) We found that heterophilic antibodies significantly affect the ELISA assay for α Syn oligomers.

プリオン病及び遅発性ウイルス感染症の分子病態解明・治療法開発に関する研究



山田 正 仁

Masahito Yamada

金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）教授

Professor and Chair, Department of Neurology and Neurobiology of Aging, Kanazawa University Graduate School of Medical Sciences

Research of Molecular Pathogenesis and Therapies for Prion Disease and Slow Virus Infection

Profile

1980年 東京医科歯科大学卒業
 1988年 カリフォルニア大学サンディエゴ校
 2000年 金沢大学 教授
 専門領域：神経内科、認知症

Professor and Chair, Department of Neurology and Neurobiology of Aging, Kanazawa University Graduate School of Medical Sciences/Vice Director of Hospital and Director of Neurological Clinic, Kanazawa University Hospital
 Research Interests: (1) brain aging, dementia, and amyloid, (2) infection and immunity of the nervous system

Abstract

プリオン病、亜急性硬化性全脳炎（SSPE）、進行性多巣性白質脳症（PML）の克服を目標に、分子病態解明、それに基づく治療・予防法開発を行った。

(1) プリオン病：プリオン病の神経変性を阻害する薬物、正常型プリオン蛋白発現低下技術、プリオン分解に関与する宿主因子、スクレイビー発症ヒツジにおける2種のプリオン混在の発見、治療薬開発のためのポストミトティックな感染細胞モデル、異種間プリオン感染能の異なる酵母プリオン凝集体、プリオンへの免疫応答機構、プリオン感染におけるケモカイン遺伝子発現上昇、ヒトニューロプラスターマPRNP欠損細胞、硬膜移植CJDにおける脳血管Aβ沈着促進などで成果を得た。これらには医薬品やそのサポート開発のシーズとなる2つの特許、4つの特許出願予定を含む。一方、プリオン病コンソーシアム（JACOP）を構築し、患者登録に基づきプリオン病臨床試験の問題点の検討を行った。

(2) SSPE：麻疹ウイルス変異F蛋白質と変異H蛋白質による膜融合能の亢進が神経細胞への感染に重要であることを解明した。リバビリン脳室内持続投与療法の臨床試験を推進した。

(3) PML：JCウイルス(JCV)の複製機構におけるT抗原等の役割の解明、oligodendroglioma細胞株JCV持続感染系の開発、LAMP法によるJCVゲノムDNA検出技術開発等で成果を得た。メフロキンによる臨床試験を推進した。



We carried out studies on molecular pathogenesis and development of therapies/preventives for prion disease, subacute sclerosing panencephalitis (SSPE),

and progressive multifocal leukoencephalopathy (PML).

(1) Prion disease: The studies included identification of compounds that target molecules related to prion-induced neurodegeneration, establishment of techniques to down-regulate expression of normal prion protein, identification of host factors related to degradation of prion, two kinds of prions in scrapie-infected sheep, establishment of a prion infection model of postmitotic cells, identification of yeast prion aggregates with diverse prion infectivity, and immune responses to prion infection. Furthermore, we established the Japanese Consortium of Prion Disease (JACOP) as a nationwide group for clinical study on natural history of human prion disease and clinical development of novel therapies.

(2) SSPE: We revealed the important role of the fusion protein with enhanced fusion activity possessed by measles virus mutants found in SSPE virus isolates. A clinical trial with continuous intraventricular administration of ribavirin for SSPE is ongoing.

(3) PML: We investigated mechanisms of replication of JC virus (JCV), establishment of oligodendroglioma cell line with persistent JCV infection, and development of a novel technique for sensitive detection of JCV genome DNA. A clinical trial with mefloquine for PML is ongoing.

先天性高インスリン血症に対する オクトレオチド持続皮下注療法の 有効性・安全性に関する研究



依 藤 亨

Tohru Yorifuji

大阪市立総合医療センター
小児代謝・内分泌内科 部長

Chief, Pediatric Endocrinology and Metabolism,
Children's Medical Center, Osaka City General Hospital

Study on the efficacy and safety of continuous subcutaneous octreotide infusion for the treatment of congenital hyperinsulinism

Profile

京都大学医学研究科卒。京都大学医学部附属病院、米国ベイラー医科大学、天理よろづ相談所病院等を経て現職。

専門領域：小児代謝内分泌学

M.D. (Kyoto University) in 1982, Ph.D (Kyoto University) in 1989

Postdoctoral training at Baylor College of Medicine, 1990-1992

Specialty : pediatric endocrinology and metabolism

Abstract

先天性高インスリン血症は新生児、乳児の持続性低血糖症の最も多い原因で、適切に対応しないと重度の中樞神経後遺症を残す。内科的治療としては、ジアゾキサイドと高濃度ブドウ糖輸液のみが保険適用されているが、重症例には無効なことが多い。内科治療困難例には95%以上の隣切除が行われてきたが、多くは術後糖尿病を発症した。オクトレオチドは本症に対する有効性が報告されており、散発的に臨床現場で使用されてきた。日本を含め先進各国でも保険承認はないが、先行研究で本治療を継続することにより外科治療なく治癒にいたる症例があることも明らかになった。本研究は、本症への内科的治療としてのオクトレオチド皮下注（持続皮下注）の有効性・安全性を確立して保険承認を目指すものである。高濃度ブドウ糖による血糖維持を行った後、オクトレオチドを持続皮下注ポンプにより開始し、血糖上昇、輸液量の減少、有害事象の有無を開始後1年間または治療終了までの経過を観察する。対象症例は年間10例未満しか発症がない超希少疾患であるため、目標5症例を登録して精密な前向き介入研究を行う。また、同時に国内で医療として行われたオクトレオチド皮下注射療法の経過を各施設の倫理審査委員会の承認のもとに登録し、有効性・安全性を確認する観察研究（目標15例以上）を並行して行い、両者を合わせて公知申請として保険承認を目指すものである。

Congenital hyperinsulinism (CHI) is the most common cause of persistent hypoglycemia in newborns and infants. Traditionally, when medical treatment with diazoxide and hypertonic glucose infusion failed to maintain euglycemia, near total pancreatectomy has been selected to avoid profound neurological sequelae. However, the results of surgery have been far from satisfactory, and most of the patients developed insulin dependent diabetes mellitus postoperatively. The efficacy of octreotide, a synthetic somatostatin analog, for CHI has been reported previously, and some of the patients could have been successfully managed by continuous subcutaneous infusion to reach spontaneous remission without surgery. However, octreotide has not been approved for CHI in any of the developed countries. In this study we conduct a prospective clinical trial of continuous subcutaneous infusion of octreotide for >5 patients with diazoxide unresponsive CHI. In addition, we set up a registry to accumulate clinical information of >15 patients who underwent octreotide treatment outside the clinical trial throughout Japan. By combining the data from both studies, we aim at approval of octreotide for indication of CHI.

健康寿命の延伸、 重症化遅延を目指した 早老症治療薬の創出



宮田 敏 男

Toshio Miyata

東北大学大学院医学系研究科創生応用医学研究センター
センター長（教授）

Director, Center for Translational and Advanced Research,
Tohoku University Graduate School of Medicine

Drug discovery for progeria aimed at the
elongation of healthy life expectancy

Profile

1986年名古屋大学医学部卒。ベルギー王室医学アカデミー生涯会員、国際腎臓学会理事兼務。研究内容は「創薬」を目的とし、医科学・薬学・化学・コンピューター工学を融合した研究分野の開拓に取り組む。統合失調症治療薬は臨床第Ⅱ相試験、PAI-1阻害薬（造血再生）は臨床第Ⅰ相試験、酸素センサー分子阻害薬（虚血傷害改善）は前臨床段階に至る。

He develops a new research area that combines medical science (biology), pharmacology, chemistry, and computer engineering to drug discovery and development from academia. Anti-schizophrenic agent (Ph-2), PAI-1 inhibitor (Ph-1) and oxygen sensor PHD inhibitor (preclinical).

Abstract

日本人に多いウェルナー症候群（WRN）の原因は、RecQ型DNAヘリカーゼの変異と考えられているが、この変異が何故、早老症状をもたらすかは未解明であり、治療法はない。WRN患者の血中や繊維芽細胞で老化促進因子IGFBP-3と共にPAI-1が高発現しており、正常WRNがPAI-1発現を抑制していることが報告された。

申請者らは、早老症モデルのklothoマウスでPAI-1を欠損させると短命が著明に改善することや、血管老化モデルマウスにおいて、PAI-1欠損またはPAI-1阻害薬投与で、テロメアの短縮が抑制されることを発見した。PAI-1阻害薬は経口投与可能であり、同系列のPAI-1阻害薬が医師主導臨床試験に進んでいることから、臨床開発上の懸念は少ないと考えられる。本研究では、複数の早老症モデルマウスでの薬効の検証とメカニズム解析、およびPAI-1阻害薬の非臨床GLP試験の準備までを行う。

日本は高齢化が世界で最も早く進行しており、健康寿命の延伸と健康格差の縮小が出来る薬剤の開発が切望されている。WRNの臨床像はその縮図と言っても過言ではない。本研究において、PAI-1阻害薬の開発が成功すれば、WRNの老化に対して治療効果が期待できるばかりではなく、我が国が抱える超高齢化に伴う老化関連疾患の発症予防・重症化予防に効果を発揮する画期的な治療薬の創出が期待できる。

Although the etiology of Werner's syndrome (WRN) is believed to be due to the mutation of RecQ-type DNA helicase, the mechanisms that cause premature aging symptoms are unexplained and no cure exists at the present. Recent reports have been shown that aging factor IGFBP-3 is highly expressed along with PAI-1 in blood and fibroblasts from WRN patients, and normal WRN protein inhibits PAI-1 expression.

We have discovered that the crossbreeding of PAI-1 deficient mice and *klotho* mice (a progeria model) markedly increased the lifespan and that PAI-1 deficiency or PAI-1 inhibitor administration suppressed shortening of telomeres in vascular aging model mice. Since PAI-1 inhibitors could be administered orally and the fact that a PAI-1 inhibitor from the same series is progressing in clinical trials, there is no concern on the clinical development. In this study, we will analyze the mechanisms of efficacy of PAI-1 inhibitors in progeria mouse models, and prepare those non-clinical GLP tests.

A successful development of PAI-1 inhibitors can be expected for the therapeutics against aging of WRN as well as the prevention effect against aging-related diseases associated with an aging population that Japan is facing.

インプリンティング異常症発症 および合併症発症メカニズムの 解明：患者由来 iPS 細胞を 用いての研究



鏡 雅 代

Masayo Kagami

国立成育医療研究センター分子内分泌研究臨床内分泌研究室
室長

Chief of Clinical Endocrine Reserch Division,
Department of Molecular Endocrinology,
National Research Institute for Child Health and Development,
Tokyo, Japan

Elucidation of pathogenic mechanism of
imprinting disorders and related complications
in patients with imprinting disorders: Studies
using iPS cells generated from patients
with imprinting disorders

Profile

旭川医科大学卒業、北海道大学大学院修了。国立成育医療センター研究員・上級研究員を経て2012年より現職。
専門領域：分子内分泌学

MB, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Japan 1994
Ph.D, Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan 2003
Major research interests : Epigenetics
Specialty : Molecular endocrinology

Abstract

本研究の目的は①インプリンティング異常症エピ変異発症機序の解明、②Kagami-Ogata症候群 (KOS14) (UPD (14) pat症候群の疾患名としてEUCID.netにてKagami-Ogata syndromeの疾患名が認められた) の病態および合併症の発症機構の解明である。インプリンティング異常症は希少な先天奇形症候群であり、片親性ダイソミー、インプリンティング領域を含む欠失、インプリンティング領域内のDifferential methylated region (DMR) のメチル化異常を示すエピ変異により生じるが、インプリンティング異常症エピ変異の本態、KOS14の発症機序、合併症発症機序は不明である。これらの解明は原因療法の開発に結びつく。本年度、我々はKOS14欠失症例2名、エピ変異2症例からのiPS細胞の樹立を完了した。樹立したiPS細胞に対し特性解析を行い、多能性、三胚葉への分化能を確認した。特性解析が終了したiPS細胞は神経幹細胞へ分化誘導中である。我々はKOS14エピ変異患者、欠失患者由来iPS細胞で網羅的メチル化解析を行い、既知の57DMRについてメチル化状態を検討した。KOS14 iPS細胞は患者親細胞と同様に、14q32.2領域のIG-DMRとMEG3-DMRの高メチル化を示した。KOS14 iPS細胞はKOS14発症機序の解明のための重要なツールとなる。



Imprinting disorders are congenital rare diseases, and the treatment for them is palliative. The genetic causes of imprinting disorders are uniparental disomy, microdeletions affecting the responsible imprinted region, and epimutations of differentially

methylated regions (DMRs) in the responsible imprinted region. The aim of this study was to clarify the pathogenic mechanism of epimutation, and the pathogenic mechanism of Kagami-Ogata syndrome (KOS14) [which European imprinting partners (EUCID.net) decided the name Kagami-Ogata syndrome for the UPD(14)pat and related conditions.], and related complications in patients with KOS14. This year, we established induced pluripotent stem cells (iPSCs) from skin fibroblasts of four KOS14 patients: two with microdeletions and two with epimutations. Then we examined the characteristics of these iPSCs. We confirmed pluripotency and differentiation potency to the endoderm, mesoderm, and ectoderm layers. Now, we are inducing iPSCs to neural stem cells. Next, we performed methylation analysis of iPSCs established from skin fibroblasts of patients with KOS14 using the Illumina Infinium Human Methylation 450k BeadChIP array, and examined methylation statuses of 57 known DMRs. Methylation status of the IG-DMR and the MEG3-DMR was hypermethylated in skin fibroblasts of KOS14 patients with epimutations and microdeletion. Both DMRs were also hypermethylated in iPSCs generated from KOS14 patients with epimutation and microdeletions. These KOS14 iPSCs will facilitate investigation of the KOS14 disease processes.

ゲノム不安定性を示す難治性遺伝性疾患群の症例収集とゲノム・分子機能解析による病態解明



荻 朋 男

Tomoo Ogi

長崎大学原爆後障害医療研究所 准教授

Associate Professor,
Nagasaki University, Atomic Bomb Disease Institute

Molecular pathogenesis of DNA repair deficiency disorders

Profile

京都大学ウイルス研究所研究員、サセックス大学ゲノムセンター研究員、日本学術振興会海外特別研究員を経て、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科JSTテニュアトラック助教の後、現職。専門はDNA修復の分子生物学
専門領域:分子生物学、DNA修復

Previous employments: Institute for Virus Research, Kyoto University (Postdoctoral research fellow); Genome Damage and Stability Centre, University of Sussex (Research Fellow); Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University (Assistant Professor); area of expertise: Molecular biology in DNA repair
Specialties : Molecular biology, DNA repair

Abstract

本研究では、DNA修復やDNA損傷応答機構の先天性な機能欠損により、出生時よりゲノム不安定性を示す難治性遺伝性疾患群の症例収集と臨床診断を継続的に実施する拠点及び研究ネットワークの構築を目指している。収集した症例については、DNA修復とDNA損傷応答活性の測定・ゲノム解析により疾患責任遺伝子変異を同定する（臨床診断）。また、疾患責任変異をもつ遺伝子の分子機能を解析し、さらに新規疾患責任遺伝子を探索することで、「ゲノム安定性」の分子機構の解明を試みる。これらの結果、短期的には、高精度の確定診断技術を臨床現場へ提供することで、これまでは診断不能であった症例についても早期診断を可能にし、患者のQOL向上に貢献するとともに、長期的には、疾患緩和薬の開発ターゲットを特定して創薬スクリーニングに結びつけ、難病治療に資する基礎開発を推進する。本年度は、国内外より、コケイン症候群（CS）、ゼッケル症候群（SS）、色素性乾皮症（XP）、複合免疫不全（SCID/CID）、ヘリケース異常症などの症例を中心に、新たに約300例のゲノム不安定性を示す遺伝性疾患症例を収集し、臨床診断・解析結果を検体提供元へ報告した。その中で、新規疾患責任遺伝子変異を複数同定し、機能解析を進め現在論文投稿中である。

In this project, we focus on rare intractable disorders that were caused by genetic defects in DNA repair or DNA damage checkpoint systems. Patients in this category display innate genome instability. We aim to establish a sustainable diagnostic and research center with a country-wide case collection network for patients showing clinical features related to DNA repair or DNA damage checkpoint deficiencies. We have established a rapid and efficient screening system for measuring various DNA repair activities; based on the system, with the aid of next generation sequencing (NGS), we perform clinical / genetic diagnosis for the collected cases. This year of our activities, we collected and diagnosed totally ~300 patients who displayed DNA repair-deficient clinical manifestations, including Cockayne syndrome (CS), Seckel syndrome (SS), xeroderma pigmentosum (XP), (severe) combined immunodeficiency (SCID / CID) as well as helicase-deficiency disorders. In the diagnosed cases, we identified new pathogenic mutations in several DNA repair genes in which no patient has been reported to date.

新生児タンデムマススクリーニング 対象疾患の診療ガイドライン改訂 診療の質を高めるための研究



深尾 敏 幸

Toshiyuki Fukao

岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授
同 附属病院小児科 科長・新生児集中治療部
部長・遺伝子診療部 部長

Professor, Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine and the director of pediatrics, division head of NICU and division head of Clinical Genetics in Gifu University Hospital

Studies on guideline revision and quality improvement of medical care for diseases targeted by newborn tandem mass screening

Profile

三重大学医学科卒、岐阜大学大学院医学系研究科修了、医学博士
専門領域：小児科学、特に先天代謝異常症、遺伝性疾患

I graduated from Mie University in the faculty of Medicine and got an Ph.D in Graduate School of Medicine, Gifu University.

Abstract

2014年度からタンデムマスを用いた新生児マススクリーニング(NBS)がすべての都道府県で開始となった。NBS対象疾患であるアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症などについて、領域別基盤研究分野遠藤班と先天代謝異常学会とが協力し、NBS対象疾患に対する診断基準および診療ガイドライン(GL)を作成し、後者も26年度には公表できる予定である。このGLはNBSが先行した欧米の文献を参照し作成してきたが、欧米においてもエビデンスレベルの高い論文はほとんどないというのが現状である。また日本人と欧米人の体質の差、遺伝子変異の差あるいは生活様式、食事習慣などの差なども考慮すべきであり、GL作成上で多くのクリニカルクエスチョン(CQ)が生じている。本研究班では、これら対象疾患をカバーする遺伝子パネルによる遺伝子診断を確立し、NBSで診断される疾患について、可能な限り遺伝子診断を行った上で、可能な限り全数に近い追跡調査を行い、これらCQについて、日本発のエビデンスを得て世界に発信し、診療の質を高める。

New newborn screening (NBS) using tandem mass spectrometry has started in all prefectures in Japan. Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases and Endo's study group supported by Health and Labor Sciences Research Grant for Research on rare and intractable diseases made diagnostic criteria previously and have just made practice guidelines. The latter was made by referring to publications from Europe and USA since NBS using tandem mass screening was started in 2000's. During the course of making guidelines, many clinical questions (CQ) were raised. In this study, we will establish the diagnostic gene panel covering all the disorders screened by NBS and apply this to most of patients who are suspected to have a disease by NBS. Then they will be followed with the confirmed mutation information. We also perform clinical studies to answer several CQs to improve the practice guidelines.