

厚生労働科学研究費補助金（ジストニアの分子病態解明と新規治療法開発）事後評価資料
総括研究報告書

研究課題：ジストニアの分子病態解明と新規治療法開発

課題番号：H25 - 難治 - 指 - 010

研究代表者：所属機関 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
氏 名 梶 龍兒

1 研究目的

厚生労働省精神・神経疾患研究委託事業「ジストニアの疫学・病態・治療に関する研究」（長谷川一子班長）によりジストニアの疫学調査が施行され、1993年に比して2006年では増加している事が判明した。この先行研究によりジストニア患者の実態調査が進み、種々の病型のジストニアの診断基準が作成された。この成果を踏まえ、H26年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）「ジストニアの分子病態解明と新規治療法開発に関する研究」（研究代表者梶）ではこれまでの研究成果を踏まえ、引き続きジストニアに関してその病態解明に向けた研究を進めていくとともに、新規治療法開発に向けた研究を進めていくことを目標とした。

2 研究方法

本年度における各項目の到達目標を下記に示す。

- 1) ジストニア病態解明・治療法開発を行うために、ジストニア関連遺伝子の Knock-out（KO）マウスの作成や解析、また iPS 細胞から大脳基底核作動性 GABA 神経細胞への分化誘導技術の確立開発を目指す。
- 2) 新たに発見されたものも含め、遺伝子検査を行えるシステムを整備し、遺伝子診断に応じた遺伝子相談や治療法の開発、治療ガイドラインの作成を目指す。
- 3) 治療法確立の観点から、内科的/外科的治療についての検討やまた心理面での治療介入など、具体的な症例検討を通じて、ジストニアの臨床、研究に関する情報の交換、検討を行う。

（倫理面への配慮）課題遂行に当たっては、必要に応じて徳島大学、または研究者の所属機関に於いて、倫理委員会による審査を受審し承認を得ている。

3 研究結果

1) KO マウス、iPS 細胞

ジストニアのモデルマウスとして期待される *Spr*-KO マウスの生存期間を延長させることに成功した。成獣となった *Spr*-KO マウスには、胸椎の前屈や眼瞼下垂などいくつかの特徴的なフェノタイプが認められた。また筋電図検査にて、安静時にもリズムカルな上腕二頭筋と上腕三頭筋のほぼ同期した収縮が確認でき、これらの拮抗筋の同期した収縮は L-Dopa 投与により消失することが判明した。

iPS 細胞からの分化誘導技術の開発については、健常ヒト血球細胞より樹立した iPS 細胞から SFEB q 法による分化誘導を行い、大脳皮質神経細胞への分化誘導効率は、皮膚線維芽細胞から作製した iPS 細胞と大きな差がなく、効率良く分化が可能でことが明らかになった。

2) 遺伝子検査

学会、ホームページで不随意運動の症例に関するコンサルテーションを幅広く呼び掛け、寄せられた症例の臨床情報、ビデオファイルを検討し、phenomenology からの評価を行った。さらに表現型から推測される既知のジストニア遺伝子のシーケンス解析を行った結果、61 症例のうち 18 症例（29.5%）においてジストニア遺伝子異常が見出された。さらに、TUBB4A 遺伝子に変異を持つジストニア兄弟例が見つかり、臨床像を再評価すると、報告されている Hypomyelination

with Atrophy of the Basal ganglia and Cerebellum (H-ABC)に一致していた。

DYT5ジストニアが疑われた患者2名について、DYT5ジストニア原因遺伝子 *GCHI* の変異解析を行った結果、1名の患者から *GCHI* の exon 1 において新規遺伝子変異 (c.T323T/C [Y109H])、残りの1名では *GCHI* の exon 5 において既報遺伝子変異 (IVS5+1g>g/c) をそれぞれ検出した。また同様に、*Sau96I* を用いた PCR-RFLP 法においても、患者の *GCHI* の exon 1 に c.T323T/C [Y109H]変異が確認された。さらに、今回検出された Y109H 変異が SNP でないことを確認するために、健常者群 98 名について *Sau96I* を用いた PCR-RFLP 法による変異解析を行った。その結果、今回の新規遺伝子変異は、健常者群からは検出されなかった。DYT4 ジストニア、DYT12 ジストニアおよび DYT16 ジストニアの原因遺伝子 *TUBB4A*、*ATPIA3*、*PRKRA* について変異解析システムを構築し、遺伝性ジストニア患者 8 名について、全エクソンを標的とした変異解析を行った。その結果、*TUBB4A* と *PRKRA* では疾患特異的変異は検出されなかったが、*ATPIA3* の exon 17 において患者 1 名から既報遺伝子変異 (c.G2443G/A[E815K]) を検出した。

3) 研究会

平成 27 年 1 月 24 日に学士会館にて、ジストニアに関する研究会を開催した。疫学調査や遺伝子検査、難治性症例の検討などを含め、厚生労働省精神・神経疾患研究委託事業「ジストニアの疫学・病態・治療に関する研究」(長谷川一子班長)、厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「ジストニアの治療法の確立・治療指針策定のための調査研究」(研究代表者梶)から引き続くジストニアの臨床、研究に関する情報の交換を行った。

4 考察

1) KO マウス、iPS 細胞

KO マウス作成では、長期間生存できるドーパ反応性ジストニアモデル動物の一つである

Spr-KO マウスを作製することが出来た。今後さらに解析を行っていき、*Spr*-KO マウスにおける運動障害について解析することにより、ドーパ反応性ジストニアや、ジストニアとパーキンソンズムとの違いを解明する。これらの研究を通じて、ジストニアの新規治療法開発への応用について検討する。

iPS 細胞からの分化誘導技術の開発では、ヒト血球細胞由来 iPS 細胞から大脳皮質神経細胞への分化誘導は皮膚線維芽細胞からの iPS 細胞と同様に効率よく作製が可能であることがわかった。今後は基底核 GABA 作動性神経細胞の分化について検討していく。ジストニア患者 iPS 細胞は皮膚線維芽細胞からではなく、末梢血より作製する方針で検討する。

2) 遺伝子検査

61 症例のうち 18 症例 (29.5%) においてジストニア遺伝子異常が見出された。遺伝子異常と臨床表現型は一致しており、Phenomenology の正確な判断のためにはポイントを押さえたビデオ記録が重要である。また、エクソーム解析により稀少疾患の遺伝子診断も可能であることを確認した。

本研究班における遺伝子検査では、多くの遺伝子変異を検出している現状から、今後の方針として、全てのジストニア原因遺伝子を標的とした変異解析が必要と考えられる。また本研究では、遺伝子変異が検出されていない遺伝性ジストニア患者が多数いるため、今後次世代シーケンサーを用いた新規の原因遺伝子の探索を行っていく必要がある。

5 評価

1) 達成度について

概ね目的は達成した。しかしながら、iPS 細胞の作成や KO マウス、新規遺伝子の探索については今後も更なる研究が必要である。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

基礎研究においては、ジストニアモデルマウスや iPS 細胞を作成することで、ジストニアの病態解明や新規治療法開発に向けた研究をより進めることが今後期待できる。また臨床面においては、ジストニア治療ガイドライン作成に向けて、具体的な症例を通じて、内科的/外科的治療についての検討やまた心理面での治療介入などを行うことで、ある程度の治療指針をまとめることができた。

3) 今後の展望について

基礎研究においては、ジストニア患者 iPS 細胞の分化誘導技術の確立に向けた研究を進めていきたい。また作成したジストニアモデルマウスを用いたジストニアの病態解明、新規治療法開発に向けた研究を進めていきたい。

臨床においては、今後も検討例数を増やしていくとともに、個々の症例についても検討を重ね、より詳細にジストニアの実態を解明していきたい。遺伝子検査では、引き続き研究を行い、遺伝子診断に応じた遺伝子相談や治療法の開発、治療ガイドラインの作成を目指していきたい。

4) 研究内容の効率性について

概ね効率的に研究を進めることが出来た。

6 結論

ジストニアは症状が多彩であり、診断を含めて病態が不明な点が多く、治療も困難であることが多い。基礎研究では Ko マウスや iPS 細胞などのジストニアモデルの作成やそれらを用いた病態解明、新規治療法開発に向けた研究の推進、また具体的な症例を通じた薬物・ボツリヌス・DBS などによる治療など臨床面も踏まえて、今後も研究を続けていく必要がある。

7 研究発表

1) 国内

口頭による発表	16 件
原著による発表	13 件
学会発表	

1. 今村恵子、和泉唯信、月田香代子、古谷博和、

江良択実、中畑龍俊、梶龍兒、山中伸弥、井上治久：家族性筋萎縮性側索硬化症患者由来 iPS 細胞を用いた疾患モデルの作製. 第 55 回日本神経学会学術大会. 福岡(2014.5.22)

2. Miyamoto R. Case presentation at telemedicine (International session 10). 第 55 回日本神経学会学術大会, 博多, 2014.5.23.

3. 宮本亮介. ボツリヌス治療(臨床研究として). 日本ボツリヌス治療学会第一回学術大会, 東京,

4. 小芝泰、森實飛鳥、菊地哲広、山門穂高、陣上直人、土井大輔、西村周泰、皆川栄子、江川斉宏、井上治久、高橋淳、高橋良輔：iPS 細胞モデルによる LRRK2 I2020T 変異パーキンソン病の研究. 第 55 回日本神経学会学術大会. 福岡 (2014.5.23)

5. 久保田光、知見聡美、本間大悟、高草木薫、一瀬宏、南部篤 (2015) セピアプテリン還元酵素を欠損したドパ反応性ジストニアモデルマウスにおける大脳基底核の異常な活動、第 38 回日本神経科学大会、平成 27 年 7 月 (神戸)

6. 長谷川一子ら：特定疾患調査表からみたハンチントン病. 第 55 回日本神経学会学術総会 2014

7. 長谷川一子：ハンチントン病について. 第 32 回日本神経治療学会総会 2014

8. 平 孝臣ら：ジストニアに対する DBS - 治療ターゲット再考 日本脳神経外科学会 2014 年

9. 阿部 圭市, 平 孝臣, 笹沼 仁一, 堀 智勝, 村垣 善浩, 渡邊 一夫: 経頭蓋 MR ガイド下集束超音波による本態性振戦に対する視床切除術の安全性、有効性を評価する可能性調査報告 パーキンソン病・運動障害疾患コンgresプログラム・抄録集 8 回 Page90(2014.10)

10. 平 孝臣: 職業性ジストニアの診断と治療 脳神経外科の立場から パーキンソン病・運動障害疾患コンgresプログラム・抄録集 8 回 Page45(2014.10)

11. 阿部 圭市, 平 孝臣, 河本 竹正, 笹沼 仁一, 堀 智勝, 小西 良幸, 村垣 善浩, 渡邊 一夫, 矢

崎 俊二 経頭蓋集束超音波による本態性振戦
視床切除術 神経治療学学会 31 巻 5 号
Page622 (2014.09)

12. 宮崎由道, 松井尚子, 藤田浩司, 大崎裕亮,
森敦子, 丸山恵子, 島谷佳光, 野寺裕之, 梶 龍
兒. ギラン・バレー症候群に対するIVIg 前後の
血清IgG 値の変動と治療効果. 第55回日本神経
学会学術大会. 2014.5.21 福岡

13. 宮崎由道, 宮本亮介, 宮城愛, 藤田浩司, 和
泉唯信, 梶龍兒. 塩酸ドネペジルにて歩行障害
の改善を見た iNPH の一例. 第8回パーキンソ
ン病・運動障害疾患コンgres (MDSJ).
2014.10.2-4 京都

14. 宮崎由道, 瓦井俊孝, 中村和己, 大崎裕亮,
野寺裕之, 和泉唯信, 梶龍兒. 家族性脊髄小脳
変性症(SCA15)に対する反復経頭蓋磁気刺激の
治療効果. 第44回神経生理学会, 福岡,
2014.11.19-21.

2) 海外

口頭による発表 2 件

原著による発表 15 件

原著による発表

1. Takeuchi T, Miyamoto R, Osaki Y, Takasaki
T, Yamamoto N, Sato K, Fujita K, Izumi Y,
Kaji R. Slow Mandibulo-Faciolingual
Wiggling Tremor Associated with Japanese
Encephalitis. *Mov Disord Clin Pract.*
2014;1(4):368-370.

2. Miyamoto R, Koizumi H, Morino H,
Kawarai T, Maruyama H, Mukai Y, Miyashiro
A, Sako W, Izumi Y, Kawakami H, Kaji R.
DYT6 in Japan-genetic screening and clinical
characteristics of the patients. *Mov Disord.*
2014 Feb; 29(2):278-80

3. Miyamoto R, Morino H, Yoshizawa A,
Miyazaki Y, Maruyama H, Murakami N,
Fukada K, Izumi Y, Matsuura S, Kaji R,
Kawakami H. Exome sequencing reveals a
novel MRE11 mutation in a patient with

progressive myoclonic ataxia. *J Neurol Sci.*
2014 Feb 15;337(1-2):219-23.

4. Matsumoto H, Hashida H, Ugawa Y.
Unilateral asterixis caused by an internal
capsule lesion. *Intern Med.* 2014;53(4):341-2.

学会発表

1. Kashihara K, Kondo T, Mizuno Y, Kikuchi S,
Kuno S, Hasegawa K et al: Official Japanese
Version of the International Parkinson and
Movement Disorder Society-Unified Parkinson's
Disease Rating Scale: Validation Against the
Original English Version. *Mov Disord* 2014

2. Miyamoto R, Sumikura H, Takeuchi T, Fujita K,
Mure H, Morigaki R, Goto S, Murayama S, Izumi Y,
Kaji R. An Autopsy Case of Predominant
Generalized Dystonia in a Patient with Cerebellar
Atrophy. The 18th International Congress of
Parkinson's Disease and Movement Disorders.
Stockholm, June 12, 2014

7 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

国際特許「乳児ボツリヌス症原因菌由来の高度
精製 A 型ボツリヌス毒素製剤」

国際出願番号: PCT/JP2007/070927 (平成 19
年 10 月 26 日国際出願)

国際公開番号: WO 2008/050866 (平成 20 年
5 月 2 日国際公開)

現在、欧州と日本で権利化済み、米国とカナダ
で審査中

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし