

Schwartz-Jampel 症候群の病態解明と調査

研究分担者：平澤恵理¹⁾

共同研究者：野中里紗¹⁾、寧亮¹⁾、山下由莉¹⁾、大野 欽司²⁾、中田智史³⁾

1) 順天堂大学大学院医学研究科

2) 名古屋大学大学院医学系研究科

3) 順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科

研究要旨

本研究の目的は、細胞外マトリックス分子パールカン遺伝子の機能部分欠損による軟骨異栄養性筋強直症（Schwartz-Jampel 症候群, SJS）の臨床診断・遺伝子診断方法を確立し、本邦における発症者の発掘を喚起し、その臨床的特徴、経過などを調査することである。SJS は、筋、骨格の症状から ADL を著しく障害する難治性疾患である。原因遺伝子が明らかになったが、効果的対症療法、根治療法が確立しておらず患者調査が進んでいない。全身の合併症リスクを調査して注意を喚起する必要がある。

A：研究目的

軟骨異栄養性筋強直（Schwartz-Jampel 症候群, SJS）はパールカン欠損疾患であり（*Nature Genetics*, 2001, *Am.J. Hum Genet.* 2002）、筋の自発持続収縮によるミオトニアと骨格病変を主症状とする。分担研究者らは、生体におけるパールカンの機能解明のため、遺伝子改変動物を作成し、軟骨発生にパールカンが必須であることを示し（*Nature Genetics* 1999, & 2001）、アセチルコリンエステラーゼを神経筋接合部に局在させる必須分子であることを示した（*Nature Neuroscience* 2002）。分担研究者らを含むこれまでの国内外の研究により、SJS の病態、原因遺伝子が明らかになりつつあるが、効果

的対症療法、根治療法が確立しておらず、かつ筋、骨格の症状から ADL を著しく障害する難治性疾患である。以前分担研究者らは、パールカンを欠損する 10 週齢マウスの全身状態を検証し、大動脈解離を高率に発症する知見を得た（未発表データ）。そこで、心血管系のリスクについての発症リスクをマウスモデルにより検討し、広報する必要があると考えた。本研究の目的は、SJS の臨床診断・遺伝子診断の精度をあげ、症例の蓄積と調査を促進することである。更に、分子病態解明と画期的治療開発を目指す基礎研究の成果を患者治療へ繋ぐことことに貢献することを目指している。

B：研究方法

本邦においては、SJS の調査が十分に行われていないため、まず症例の蓄積を進める必要がある。これまでの研究室規模で進めてきた診断を臨床的に応用できるように、経費と労力を効率化する方法を検討する。これまでに蓄積された筋生検例のうち本疾患が疑われるものには免疫染色にてパールカン関連分子群の免疫染色でスクリーニングを行った。これにより可能性が高い場合には標本量が十分あればウェスタンブロット等に追加検査を行うこととした。血液などから DNA を採取している場合には、cDNA でのスクリーニング及びゲノム解析を進める。ここれらの検証を通し、本疾患の最適な診断方法と診断基準を再検討する。動物を使った実験としては、軟骨以外のすべての組織でパールカンを欠損させたモデルマウスおよび対照マウスを 10、20、50 週齢時点、胸部大動脈解離を肉眼的・組織学的に検証した。

(倫理面への配慮) Schwartz-Jampel 症候群調査に関しては、医学部倫理委員会の承認を得ている。組み換え DNA 実験と動物実験は順天堂大学及び名古屋大学の承認を得ている。動物実験は、カルタヘナ法、ならびに、順天堂大学の動物実験委員会の承認を得て動物実験指針を遵守して研究進めている。

C：研究結果

研究分担者のグループおよび諸外国で行われた研究成果を検証し、診断基準の見直しを行った。また、診断の手引きを作成した。また、本研究と連携して、本調査班で発掘した 1 例から iPS 細胞を樹立することで、治療開発のためのモデル細胞系作成に成功した。現在、この iPS 細胞に由来する筋細胞の興奮性をカルシウムイメージングで評価する方法を検証

している。この評価系を用いることで既知の薬剤ライブラリから、Schwartz-Jampel 症候群の筋細胞の興奮異常を正常化する薬剤のスクリーニングが可能になると考えている。

また、モデルマウスで検証した結果、パールカン欠損胸部大動脈の肉眼的・組織学的観察より、胸部大動脈解離の罹患率は、10 週齢で 15.4%、20 週齢で 35.8%、50 週齢で 38.9%であった。同観察期間中、対照群での罹患率は 0%であった。パールカン欠損による大動脈解離リスクは加齢により増すと考えられた。

D：考察

診断の手引きを作成することで、これまで Schwartz-Jampel 症候群と診断されず見逃されてきた患者の発掘が可能になったと考えられた。手引きの内容は神経内科学会で検証を行っているが、Schwartz-Jampel 症候群のような遺伝子変異疾患は小児期からの発掘が重要であることから、小児科や小児歯科、麻酔科、産婦人科、整形外科を始めとした他領域へも門戸を広げ、早期診断、治療を目指す必要があると考えられた。近年、次世代シーケンサーによる解析を行い、過去に遺伝子変異が判明しなかった症例も診断が可能になった。しかし、現状では、臨床、電気生理、及びタンパク質レベルの解析を併せ診断することが必要と考えられた。依然、患者数は少なく、さらなる症例発掘と診断基準の充実が必須である。患者数が少なく、経時的病態解析が困難であるため、治療研究や全身合併症検証にはモデルマウスを使用して進めることが適当と思われた。

E：結論

診断の手引きを作成した。この手引きを小児

科や小児歯科、麻酔科、産婦人科、整形外科に門戸を広げ患者を発掘することができる。今後得られる情報を重ね、診療の手引書も作成する。

F：健康危険情報

特になし。

G：研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

1：論文発表

- | | | | |
|---|--|---|---|
| 1 | Furuya N, Ikeda SI, Sato S, Soma S, Ezaki J, Trejo JA, Takeda-Ezaki M, Fujimura T, <u>Arikawa-Hirasawa E</u> , Tada N, Komatsu M, Tanaka K, Kominami E, Hattori N, Ueno T. PARK2/Parkin-mediated mitochondrial clearance contributes to proteasome activation during slow-twitch muscle atrophy via NFE2L1 nuclear translocation. <i>Autophagy</i> . Apr;10(4):631-41 2014 | 4 | Kerever A, Kamagata K, Yokosawa S, Otake Y, Ochi H, Yamada T, Hori M, Kamiya K, Nishikori A, Aoki S, <u>Arikawa-Hirasawa E</u> . See-through Brains and Diffusion Tensor MRI Clarified Fiber Connections: A Magnetic Resonance in Medical Sciences . 14:159-162, 2015 |
| 2 | Ning L, Kurihara H, de Vega S,* Ichikawa-Tomikawa n, Xu Z, Nonaka R, Kazuno S, Yamada Y, Miner JH, <u>Arikawa-Hirasawa E</u> , Laminin $\alpha 1$ regulates age-related mesangial cell proliferation and mesangial matrix accumulation through the TGF β pathway <i>The American Journal of Pathology</i> . 2014 Jun;184(6):1683-94 | 5 | Iwata S, Ito M, Nakata T, Noguchi Y, Okuno T, Ohkawara B, Masuda A, Goto T, Adachi M, Osaka H, Nonaka R, <u>Arikawa-Hirasawa E</u> , Ohno K. A missense mutation in domain III in HSPG2 in Schwartz-Jampel syndrome compromises secretion of perlecan into the extracellular space <i>Neurmuscul Disord</i> . 8.00153-00154. 2015 |
| 3 | Nonaka R, Iesaki T, de Vega S, Daida H, Okada T, Sasaki T, and <u>Arikawa-Hirasawa E</u> Perlecan deficiency causes endothelial | 6 | Kerever A, Yamada T, Suzuki Y Mercier F, <u>Arikawa-Hirasawa E</u> Fractone aging in the subventricular zone of the lateral ventricle <i>Journal of Chemical Neuroanatomy</i> . :66-67:52-60, 20 |
| | | 7 | Ning L, Xu Z, Furuya N, Nonaka R, Yamada Y, <u>Arikawa-Hirasawa E</u> . Perlecan inhibits autophagy to maintain muscle homeostasis in mouse soleus muscle. <i>Matrix Biol</i> . Oct;48 26-35 2015 |
| | | 8 | de Vega S, Hozumi K, Suzuki N, Nonaka R, Seo E, Takeda A, Ikeuchi, |

- T Nomizu, M Yamada Y, Arikawa-Hirasawa E Identification of Peptides Derived from the C-terminal Domain of Fibulin-7 Active for Endothelial Cell Adhesion and Tube Formation Disruption. Peptide Science
- 9 Kamagata K, Kerever A, Yokosawa S, Otake Y, Ochi H, Hori M, Kamiya K, Tsuruta K, Tagawa K, Okazawa H, Aoki S, Arikawa-Hirasawa E. Quantitative Histological Validation of Diffusion Tensor MRI with Two-Photon Microscopy of Cleared Mouse Brain. Magn Reson Med Sci. 2016 Mar 30.
- 10 Sadatsuki R, Kaneko H, Kinoshita M, Futami I, Nonaka R, Culley KL, Otero M, Hada S, Goldring MB, Yamada Y, Kaneko K, Arikawa-Hirasawa E, Ishijima M. Perlecan is required for the chondrogenic differentiation of synovial mesenchymal cells through regulation of Sox9 gene expression. J Orthop Res. 2016 May 30. doi: 10.1002/j
- 11 Kanako Sato, Aurelien Kerever, Koji Kamagata, Kohei Tsuruta, Ryusuke Irie, Kazuhiko Tagawa, Hitoshi Okazawa, Arikawa-Hirasawa E, Nobuhiro Nitta, Ichio Aoki and Shigeki Aoki Understanding microstructure of the brain by comparison of neurite orientation dispersion and density imaging (NODDI) with transparent mouse brain Acta Radiologica Open 6(4) 1-6 2017
- 2 : 学会発表
- 1 Risa Nonaka, Takafumi Iesaki, Susana de Vega, Yoshihiko Yamada, Eri Arikawa-Hirasawa. The role of the extracellular matrix protein Perlecan in the arterial wall. Experimental Biology 4.26-30 2014 San diego, USA
- 2 平澤 恵理、岩田 哲、野中 里紗、服部 信孝、中田 智彦、伊藤美佳子、大野 欽司 Schwartz-Jampel 症候群の原因遺伝子、パールカンの機能部分欠損変異の機能解析第 55 回日本神経学会学術大会 2014.5.21-24 (福岡)
- 3 野中 里紗、家崎 貴文、Susana de Vega、Aurelien Kerever、山田吉彦、平澤 (有川) 恵理 大動脈構造や機能におけるパールカンの役割第 46 回日本結合組織学会・第 61 回マトリックス研究会合同学術集会 2014.6.7-8(名古屋)
- 4 Risa Nonaka, Takafumi Iesaki, Susana de Vega., Aurerien Kerever, Yoshihiko Yamada, Eri Arikawa-Hirasawa . Role of Perlecan in the Structural Integrity and Function of the Aorta. Gordon Research Conference on proteoglycan 2014.7.6-11 New Hampshire, USA
- 5 平澤 恵理、野中 里紗、大野 欽司 Schwaets-Jampel 症候群の病態

- 解明と調査希少難治性筋疾患に関する調査研究班 H26 年度班会議
2015.2.6
- 6 Eri Arikawa-Hirasawa Role of Perlecan in Neurogenesis and Ageing" Gordon Research Conference on proteoglycan 2014.7.6-11
- 7 Takenori Inomata, Toru Matsunaga, Nobuyuki Ebihara, Akira Murakami, Eri Arikawa-Hirasawa Perlecan-deficient Mutation Impairs Homeostasis and Wound Healing in Mouse Corneal Epithelium Gordon Research Conference on proteoglycan 2014.7.6-11
- 8 Susana de Vega, Eimi Seo, Anna Takeda, Nobuharu Suzuki, Risa Nonaka, Kentaro Hozumi, Motoyoshi Nomizu, Yoshihiko Yamada, and Eri Arikawa-Hirasawa Identification of Fibulin-7 Peptides Active for Endothelial Cell Adhesion and Tube Formation 第 46 回日本結合組織学会・第 61 回マトリックス研究会合同学術集会 2014.6.7-8(名古屋)
- 9 Liang Ning, Hidetake Kurihara, Susana de Vega, Risa Nonaka, Eri Arikawa-Hirasawa, Role of Laminin□□1 in mesangial cell proliferation and mesangial matrix accumulation 第 46 回日本結合組織学会・第 61 回マトリックス研究会合同学術集会 2014.6.7-8(名古屋)
- 10 Aurelien Kerever Taihei Yamada, and Eri Arikawa-Hirasawa Aging of the extracellular matrix structure fractone in the mouse subventricular zone 第 47 回日本結合組織学会学術大会 東京 平成 27 年 5 月 15、16 日
- 11 鈴木 佑治, Aurelien Kerever, 山田 泰平、平澤 恵理 老化マウス海馬における糖鎖構成の変化第 47 回日本結合組織学会学術大会 東京 平成 27 年 5 月 15、16 日
- 12 多賀 祐喜、石島 旨章、平澤 (有川) 恵理、田中 啓友、水野 一乗、楠畑 雅、服部 俊治安定同位体標識コラーゲンを用いた血中、尿中のコラーゲン由来因子の高精度定量分析 第 47 回日本結合組織学会学術大会 東京 平成 27 年 5 月 15、16 日
- 13 Aurelien Kerever Taihei Yamada, and Eri Arikawa-Hirasawa Extracellular matrix aging in mouse hippocampus 第 38 回日本神経科学大会 神戸 平成 27 年 7 月 28 日
- 14 Yuri Yamashita, Risa Nonaka, Nobutaka Hattori, Eri Arikawa-Hirasawa. The role of perlecan in lipid dynamism. Gordon Research Conference. Andover, NH. 2016 年 7 月 11, 12 日
- 15 Yuji Suzuki, Aurelien Kerever, Taihei Yamada, Yusuke Yoshimura, Kyohei Higashi, Toshihiko Toida, Nobutaka Hattori, Eri Arikawa-

- Hirasawa. The structural and compositional changes of chondroitin sulfate in the aged hippocampus. Gordon Research Conference: Proteoglycans. NH Andover, 2016年7月10日～15日
- 16 Taihei Yamada, Aurelien Kerever, Yusuke Yoshimura, Yuji Suzuki, Kyouhei Higashi, Toshihiko Toida and Eri Arikawa-Hirasawa Age-Associated Changes in Heparan Sulfate Structures Impair FGF-2 Signaling in Neurogenesis Gordon Research Conference: Proteoglycans. NH Andover, 2016年7月10日～15日
- 17 Aurelien Kerever Eri Arikawa-Hirasawa Immunohistochemical analysis of ECM structures in postnatal brain development of a mouse model of autism NH Andover, 2016年7月10日～15日
- 18 Taihei Yamadaa, Aurelien Kerevera, Yuusuke Yoshimuraa, Toshihiko Toidab, Kyohei Higashib and Eri Arikawa-Hirasawa Sulfated Glycosaminoglycans Analysis in the Aged Mouse Subventricular Zone The 3rd International Symposium on Glycol-Neuroscience. 淡路島, 2016年1月14日～16日
- 19 Yuji Suzuki, Aurelien Kerever, Kyohei Higashi, Toshihiko Toida, Eri Arikawa-Hirasawa. Analysis of Chondroitin Sulfate in the aged mouse hippocampus. The 3rd International Symposium on Glycol-Neuroscience. 淡路島, 2016年1月14日～16日
- 20 吉村祐輔, 山田泰平, ケレベールオーレリアン, 東恭平, 戸井田敏彦, 服部信孝, 平澤恵理 マウス成体神経新生領域の老化におけるヘパラン硫酸鎖の変化 2016.5.18-21 (神戸)
- 21 青木茂樹, 鎌形康司, Aurelien Kerever, 佐藤香菜子, 堀正明, 岡澤均, 平澤恵理 MRIで透明脳をみる Different visualization of transparent brain by MR imaging 57回 日本神経学会学術大会 2016.5.18-21 (神戸)

H : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1 : 特許取得

特になし

2 : 実用新案登録

特になし

3 : その他

特になし