

## ALS レジストリ（JaCALS）を利用したオミックス研究と創薬促進研究

研究分担者 祖父江 元  
名古屋大学大学院医学系研究科

**研究要旨** 全国 32 施設が参加し、2006 年から登録を開始している多施設共同筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者コホート JaCALS を基盤に、東北メディカルメガバンク機構、理研統合生命医科学研究センター、慶応大学生理学との共同研究体制を構築し、ALS の発症、進行、予後、病像と関連する遺伝子多型を同定し、関連する遺伝子発現の動き、増減を探索同定し、それらを修飾する薬剤の探索と検証を行い、臨床試験につなげる。JaCALS の患者登録システムを刷新し、高度な暗号化技術を適用した web による患者登録システムを構築する。新システムは GPSP 指針、ER/ES 指針などの規制要件に準拠するものとし、標準業務手順書 (SOP) に基づいて運用することにより、治療薬の効果・安全性についての長期的な検証、臨床像に応じた治験へのリクルート、ランダム化比較試験が難しい治療の検証等のリアルワールドエビデンス創出などに寄与する。ALS レジストリを基盤とした各種オミックス研究と創薬への展開は、神経変性疾患に対する治療開発研究の新たなパラダイムを提示することができると思われる。

### A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) をはじめとする神経変性疾患の病態抑止治療 (disease-modifying therapy) の開発は難しく、これまで十分な成功例は無かった。しかし近年、各種技術の進歩により、ALS の病態に関連する遺伝子・分子が複数同定され、治療薬シーズが多数挙がってきており、創薬のアクティブなフロンティアになりつつある。ALS の治療開発推進のために、ALS の病態と関連した遺伝子・分子のさらなる同定、病態を抑制する薬剤の探索、ALS の経過と関連する因子、バイオマーカーの探索同定、臨床試験・治験の促進と対象患者の円滑なリクルート、新規治療の有効性・安全性の長期的検証が必要である。

### B. 研究方法

全国 32 施設が参加し、2006 年から登録を開始している多施設共同 ALS 患者コホート JaCALS を基盤に、東北メディカルメガバンク機構、理研統合生命医科学研究センター、慶応大学生理学

との共同研究体制を構築し、ALS の発症、進行、予後、病像と関連する遺伝子多型を同定し、関連する遺伝子発現の動き、増減を探索同定し、それらを修飾する薬剤の探索と検証を行い、臨床試験につなげる。JaCALS の患者登録システムを刷新し、高度な暗号化技術を適用した web による患者登録システムを構築する。新システムは GPSP 指針、ER/ES 指針などの規制要件に準拠するものとし、標準業務手順書 (SOP) に基づいて運用することにより、治療薬の効果・安全性についての長期的な検証、臨床像に応じた治験へのリクルート、ランダム化比較試験が難しい治療の検証等のリアルワールドエビデンス創出などに寄与する。

### C. 研究結果

平成 29 年度末までに ALS 患者 1470 例の前向き臨床データの収集と解析を行った。

孤発性 ALS 患者 1241 例のゲノムワイド SNPs データを用いて 1000 ゲノム phase3 を用いた imputation を行い、8,126,211 SNPs データを活用

できるようにした。これを用いて、孤発性 ALS 患者の生存期間（予後）との関連解析を実施したところ、p 値が  $10^{-10}$  台と  $10^{-8}$  台を示し、強く孤発性 ALS 患者の生存期間（予後）と関連する SNPs を 2 領域に見出した。これら SNPs と関連して発現が変化する遺伝子を同定し、患者由来細胞での発現解析で検証しつつある。

動物モデル等を用いた基礎的研究により見出された ALS 病態関連遺伝子の患者検体における検証を行っている。ALS 関連遺伝子として同定されている FUS と結合するタンパクの遺伝子について、エクソーム解析により新規変異を有する孤発性 ALS 患者例が 5 例見出された。他にも ALS に関連する数多くの候補機能分子について、多施設からの依頼を受けて病態的意義の検証を行っている。新潟大学と共同で、我が国の ALS 患者における SMN2 遺伝子のコピー数多型の頻度や予後（発症から死亡までの経過）との関連を検証しており、東京大学医科学研究所と共同で、癌のシトルリン化に関わる遺伝子 PADI4 が孤発性 ALS の予後と関連することを明らかにした。

JaCALS における臨床情報はこれまで紙媒体の調査票により収集されてきた。この体制を刷新し、ALS に対する治療開発において、臨床試験の対照群や製造販売後調査用の資料として活用可能な疾患レジストリを開発し、長期経過観察可能な体制を構築している。このレジストリにより臨床試験計画に合致した患者の迅速な臨床試験リクルートを可能にし、ランダム化比較試験が困難な治療介入の安全性やアウトカムを検証も行う。医薬品医療機器総合機構

（PMDA）、厚生労働省および AMED との協議のもと、疾患レジストリのコンセプト定義を行い、研究開発責任者、研究開発分担者にシステム開発委託企業担当者、臨床研究コーディネーターを加えたプロジェクトチームを構成し、ALS レジストリシステムの要件定義および基本設計を行った。開発するレジストリシステムの名称を JaCALS-2 とした。並行して、web 患者

登録システムの機能・詳細設計を行った。システム構築設計、運用・保守、信頼性設計、セキュリティ、拡張性、性能設計、アクセスコントロール、監査証跡、検索可能暗号化技術、スマートフォン対応、権限マスタ管理、ステータス管理、ユーザ個人情報登録管理、CRF 登録項目管理、ユーザ検索項目マスタ管理について詳細な基本設計書を作成した。設計書に基づくシステム開発が進行中であり、デモ版による検証を行っている。また、レジストリの運営についての各種手順書作成を進めている。

#### D.考察

大規模な前向き臨床情報とゲノムワイド遺伝子多型データとの関連解析により、孤発性 ALS 患者の生存期間と強力に関連する SNPs が見出されてきた。ALS を発症した後の経過、特に生存期間に影響する遺伝子、分子は治療薬の標的として極めて重要であると考えている。SNP と関連するゲノム情報の詳細やそれらによって発現やスプライシングが変化する遺伝子が明らかになれば、病態解析から創薬への過程を加速できる。

大規模患者レジストリは、臨床試験の対照群や医療機器・薬剤の製造販売後調査などに活用できるように高い信頼性をもって構築されることが望ましい。ER/ES 指針や 2017 年度に改正された GPSP 基準に沿う形での新しいレジストリの構築により、それが実現される見通しである。

#### E.結論

ALS レジストリを基盤とした各種オミックス研究と創薬への展開は、神経変性疾患に対する治療開発研究の新たなパラダイムを提示することができる。と考える。

#### F.健康危険情報

特記なし。

## G.研究発表

### 1. 論文発表

- Tohnai G, Nakamura R, Sone J, Nakatochi M, Yokoi D, Katsuno M, Watanabe H, Watanabe H, Ito M, Li Y, Izumi Y, Morita M, Taniguchi A, Kano O, Oda M, Kuwabara S, Abe K, Aiba I, Okamoto K, Mizoguchi K, Hasegawa K, Aoki M, Hattori N, Onodera O, Naruse H, Mitsui J, Takahashi Y, Goto J, Ishiura H, Morishita S, Yoshimura J, Doi K, Tsuji S, Nakashima K, Kaji R, Atsuta N, Sobue G; Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis Research (JaCALS). Frequency and characteristics of the TBK1 gene variants in Japanese patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*. 2018;64,158.e15-158.e19.
- Yokoi S, Udagawa T, Fujioka Y, Honda D, Okado H, Watanabe H, Katsuno M, Ishigaki S, Sobue G. 3'UTR Length-Dependent Control of SynGAP Isoform  $\alpha 2$  mRNA by FUS and ELAV-like Proteins Promotes Dendritic Spine Maturation and Cognitive Function. *Cell Rep*. 2017;20,3071-3084.
- Riku Y, Watanabe H, Yoshida M, Mimuro M, Iwasaki Y, Masuda M, Ishigaki S, Katsuno M, Sobue G. Pathologic Involvement of Glutamatergic Striatal Inputs From the Cortices in TAR DNA-Binding Protein 43 kDa-Related Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2017;76:759-768.
- Endo K, Ishigaki S, Masamizu Y, Fujioka Y, Watakabe A, Yamamori T, Hatanaka N, Nambu A, Okado H, Katsuno M, Watanabe H, Matsuzaki M, Sobue G. Silencing of FUS in the common marmoset (*Callithrix jacchus*) brain via stereotaxic injection of an adeno-associated virus encoding shRNA. *Neurosci Res*. 2017,S0168-

0102,30183-9.

- Senda J, Atsuta N, Watanabe H, Bagarinao E, Imai K, Yokoi D, Riku Y, Masuda M, Nakamura R, Watanabe H, Ito M, Katsuno M, Naganawa S, Sobue G. Structural MRI correlates of amyotrophic lateral sclerosis progression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017;88:901-907.

### 2.学会発表

- Sobue G: The 5th Kyoto Course on Bioinformatics for Genomic Medicine – International Symposium on Genomic Medicine – Genomics of Rare and Intractable Diseases, Kyoto, November 10, 2017
- Sobue G: Perspectives of patient registry study for ALS From JaCALS. Summit Meeting for Global Registries of Stroke, Parkinson's disease, and ALS ' to construct a global stroke registry, XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, September 20, 2017
- Naoki Atsuta, Daichi Yokoi, Ryoichi Nakamura, Hazuki Watanabe, Naoki Hayashi, Mizuki Ito, Hirohisa Watanabe, Masahisa Katsuno, Yuishin Izumi, Mitsuya Morita, Akira Taniguchi, Masaya Oda, Koji Abe, Kouichi Mizoguchi, Osamu Kano, Satoshi Kuwabara, Masashi Aoki, Nobutaka Hattori, Ryuji Kaji, & Gen Sobue, JaCALS. Prognosis of Japanese patients with amyotrophic lateral sclerosis according to motor phenotype. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, September 20, 2017Kyoto,
- Ryoichi Nakamura, Naoki Atsuta, Daichi Yokoi, Genki Tohnai, Hazuki Watanabe, Naoki Hayashi, Mizuki Ito, Hirohisa Watanabe, Masahisa Katsuno, Rina Hashimoto, Yuishin Izumi, Rina Hashimoto, Ikuko Aiba, Kouichi Mizoguchi, Ryuji Kaji, & Gen Sobue, JaCALS.. Clinical characteristics of familial and

sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients with a Gly93Ser mutation in the SOD1 gene. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, September 20, 2017

・ Daichi Yokoi, Naoki Atsuta, Akihiro Hirakawa, Ryoichi Nakamura, Hazuki Watanabe, Naoki Hayashi, Mizuki Ito, Hirohisa Watanabe, Masahisa Katsuno, Yuishin Izumi, Mitsuya Morita, Akira Taniguchi, Masaya Oda, Koji Abe, Kouichi Mizoguchi, Osamu Kano, Satoshi Kuwabara, Ryuji Kaji, & Gen Sobue, JaCALS. The effect of noninvasive positive pressure ventilation in amyotrophic lateral sclerosis patients from a Japanese multicenter prospective cohort. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, September 20, 2017

#### H.知的所有権の取得状況

特記なし。