

JaCALS の現状と今後の展開について

研究分担者 祖父江 元
愛知医科大学

共同研究者 熱田直樹¹、中村亮一¹、藤内玄規¹、岡田洋平¹
中朽昌弘²、岡田随象³、長崎正朗⁴、岡野栄之⁵、関正博⁶、JaCALS
1. 愛知医科大学、2. 名古屋大学、3. 大阪大学、4. 京都大学、5. 慶應義塾大学
6. 神戸天然物化学

研究要旨

【目的】我が国の多施設共同筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者レジストリ JaCALS では ALS 患者の縦断的な臨床情報、ゲノム DNA、不死化細胞を蓄積している。これらを統合した解析により、ALS に対する革新的な治療開発を目指す。

【方法】JaCALS では ALS 患者 2080 例の登録があり、横断的臨床情報に加えて登録例の重症度推移、気管切開や死亡など重要なイベントの時期などを前向きに収集している。今年度 6 施設において新規立ち上げを行っており、合計で全国 39 施設の参加となる。ほぼ全例の遺伝子検体と不死化リンパ球を併せて保存している。SNP アレイ 1500 例、全エクソーム解析 1100 例、全ゲノム解析 500 例のゲノム解析データがあり、これらを統合した解析を行う。不死化リンパ球から iPS 細胞を作製し、運動ニューロンを誘導して表現型解析を行う。

【結果および考察】ゲノム統計、生物統計、数理的解析の高度な専門的実績を有する研究者と臨床、ゲノム、細胞の専門性を持つ研究者による統合した解析を実施できる体制を構築した。ALS 患者 iPS 細胞について 70 例以上のパネルを構築し、運動ニューロンへの分化誘導を行った。運動ニューロンの培養条件を最適化し、神経突起長、神経突起の染色強度などで再現性良く孤発性 ALS の表現型を検出することに成功した。

【結論】個別の孤発性 ALS 患者の発症、進行、予後に関わる遺伝子群と遺伝子発現パターンは多様である。様々な phenotype/genotype を持つ患者由来 iPS 細胞から誘導した運動ニューロンでの網羅的遺伝子発現解析や、病的表現型を改善させる薬剤の探索、検証により、孤発性 ALS 患者に対する有効な個別化治療の開発につながる可能性がある。

A.研究目的

これまで ALS をはじめとする神経変性疾患は病態抑止療法の存在しない難病であり、治療開発は困難であったが、病態関連遺伝子・分子が分かりはじめ、中枢神経内に治療介入する手段の発展により、革新的な治療開発のチャンスが生まれてきている。SOD1 遺伝子変異例など単一遺伝子病として発症する ALS に対しては核酸医薬の開発が進められ、成果を挙げつつある。

しかし大部分を占める孤発性 ALS など孤発性神経変性疾患に対する治療開発は、未だ方法論が確立していない。

我が国の多施設共同 ALS 患者レジストリ JaCALS では ALS 患者の縦断的な臨床情報、ゲノム DNA、不死化細胞を蓄積している。これらを統合した解析により、孤発性 ALS に対する革新的な治療開発を目指す。

B.研究方法

JaCALS では 2022 年 2 月末までに ALS 患者 2080 例の登録を行った。横断的臨床情報に加えて登録例の重症度推移、気管切開や死亡など重要なイベントの時期などを前向きに収集している。今年度 6 施設において新規立ち上げを行っており、合計で全国 39 施設の参加となる。ほぼ全例の遺伝子検体と不死化リンパ球を併せて保存している。SNP アレイ 1500 例、全エクソーム解析 1100 例、全ゲノム解析 500 例のゲノム解析データを蓄積している。不死化リンパ球から iPS 細胞を作製する技術が確立され、運動ニューロンを誘導して表現型解析を行うことができる。

厚生労働省から患者レジストリの基準として「レジストリデータを承認申請等に利用する場合の信頼性担保のための留意点について」と「承認申請等におけるレジストリの活用に関する基本的考え方について」（薬生薬審発 0323 第 1 号、第 2 号、2021 年 3 月 23 日）が出された。これらに対応するために、2020 年度までに JaCALS データベースシステムを新たに構築し、コンピューターシステムバリデーションを実施した。それまでの全調査資料を手順書に基づいて新システムに再入力を行った。レジストリ運営のための各種手順書の整備も行った。

C.研究結果

ラジカットの製造販売後調査である SUNRISE Japan から得られるラジカット投与 ALS 患者の予後調査データと、JaCALS の予後データを比較する解析を 2023 年以降に実施するための検討を行った。その解析結果を再審査請求に使用しうるか、PMDA による対面助言を受けた。レジストリ運営の手順や各種記録のあり方などについて、理解が得られた。

ゲノム統計、生物統計、数理的解析の高度な専門的実績を有する研究者と臨床、ゲノム、細胞の専門性を持つ研究者による統合した解析を実施

できる体制を構築した。JaCALS に蓄積された不死化リンパ球を用いて孤発性 ALS 患者 iPS 細胞について 70 例以上のパネルを構築し、運動ニューロンへの分化誘導を行った。運動ニューロンの培養条件を最適化し、神経突起長、神経突起の染色強度などで再現性良く孤発性 ALS の表現型を検出することに成功した。

D.考察

大規模 ALS 患者レジストリシステムのアップグレードを進め、データを治療検証などに活用していくめどをつけることができた。

ALS 患者レジストリに蓄積された大規模な臨床ゲノムデータを網羅的に用いたデータドリブン型の解析により、孤発性 ALS の発症、進行、予後を規定する因子を明らかにすることができると。さらに個別の ALS 患者の臨床データ、ゲノムデータ、iPS 細胞とそこから誘導された運動ニューロンの組み合わせにより、病態解析や治療薬スクリーニング、検証につなげられる可能性がある。

E.結論

大規模 ALS 患者レジストリを、新規に発出されたレジストリ基準に沿う形で利活用できる体制を整えた。

様々な phenotype/genotype を持つ患者由来 iPS 細胞から誘導した運動ニューロンでの網羅的遺伝子発現解析や、病的表現型を改善させる薬剤の探索、検証により、孤発性 ALS 患者に対する有効な個別化治療の開発につながる可能性がある。

F.健康危険情報

特記なし。

G.研究発表

1. 論文発表

Serum asymmetric dimethylarginine level

correlates with the progression and prognosis of amyotrophic lateral sclerosis. Ikenaka K, Maeda Y, Hotta Y, Nagano S, Yamada S, Ito D, Torii R, Kakuda K, Tatebe H, Atsuta N, Aguirre C, Kimura Y, Baba K, Tokuda T, Katsuno M, Kimura K, Sobue G, Mochizuki H. *Eur J Neurol*. 2022 Jan 19. doi: 10.1111/ene.15254.,

Mutation screening of the DNAJC7 gene in Japanese patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. Tohnai G, Nakamura R, Atsuta N, Nakatochi M, Hayashi N, Ito D, Watanabe H, Watanabe H, Katsuno M, Izumi Y, Taniguchi A, Kanai K, Morita M, Kano O, Kuwabara S, Oda M, Abe K, Aoki M, Aiba I, Okamoto K, Mizoguchi K, Ishihara T, Kawata A, Yokota T, Hasegawa K, Nagano I, Yabe I, Tanaka F, Kuru S, Hattori N, Nakashima K, Kaji R, Sobue G; Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis Research (JaCALS). *Neurobiol Aging*. 2021 Dec 11:S0197-4580(21)00358-4. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2021.12.002.

Fiber-specific white matter analysis reflects upper motor neuron impairment in amyotrophic lateral sclerosis. Ogura A, Kawabata K, Watanabe H, Choy SW, Bagarinao E, Kato T, Imai K, Masuda M, Ohdake R, Hara K, Nakamura R, Atsuta N, Nakamura T, Katsuno M, Sobue G. *Eur J Neurol*. 2022 Feb;29(2):432-440.

2. 学会発表

第 62 回日本神経学会学術大会シンポジウム、2021 年 5 月 21 日、京都、ムーンショット型研究開発：疾患の予測・予防を目指す革新的イノベーション創出、祖父江元

第 62 回日本神経学会学術大会、2021 年 5 月 21

日、京都、A multi-ethnic meta-analysis identifies novel genes, including ACSL5, associated with ALS、中村亮一、熱田直樹、藤内玄規、中枋昌弘、林直毅、渡辺宏久、勝野雅央、和泉唯信、服部信孝、森田光哉、谷口彰、狩野修、織田雅也、桑原聡、梶龍児、桃沢幸秀、三澤計治、長崎正朗、祖父江元、JaCALS

第 62 回日本神経学会学術大会シンポジウム、2021 年 5 月 22 日、京都、ALS のゲノム研究、熱田直樹、中村亮一、藤内玄規、祖父江元

PACTALS 2021 NAGOYA 2021 年 9 月 17 日～18 日 web 開催 An ALS patient SynGAP 3' UTR variant at the FUS binding site causes aberrant SynGAP splicing and spine abnormalities by recruiting hnRNPK. Satoshi Yokoi, Takuji Ito, Kentaro Sahashi, Ryoichi Nakamura, Shinsuke Ishigaki, Naoki Atsuta, Katsuno Masahisa, Yohei Okada, Gen Sobue.

PACTALS 2021 NAGOYA 2021 年 9 月 17 日～18 日 web 開催 Genome-wide meta-analysis identifies novel genes, including ACSL5 , associated with amyotrophic lateral sclerosis. Ryoichi Nakamura, Kazuharu Misawa, Genki Tohnai, Masahiro Nakatochi, Naoki Atsuta, Naoki Hayashi, Masahisa Katsuno, Yuishin Izumi, Nobutaka Hattori, Mitsuya Morita, Akira Taniguchi, Osamu Kano, Masaya Oda, Satoshi Kuwabara, Ryuji Kaji, Jun-ichi Niwa, Manabu Doyu, Masao Nagasaki, Gen Sobue, the Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research : JaCALS

PACTALS 2021 NAGOYA 2021 年 9 月 17 日～18 日 web 開催 Genetic analysis of KIF5A gene in Japanese patients with sporadic ALS. Ryoichi Nakamura, Naoki Atsuta, Genki Tohnai,

Masahiro Nakatochi, Naoki Hayashi, Masahisa Katsuno, Yuishin Izumi, Akira Taniguchi, Nobutaka Hattori, Mitsuya Morita, Osamu Kano, Satoshi Kuwabara, Masaya Oda, Koji Abe, Kouichi Mizoguchi, Ryuji Kaji, Jun-ichi Niwa, Manabu Doyu, Gen Sobue, the Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research : JaCALS

PACTALS 2021 NAGOYA 2021 年 9 月 17 日～18 日 web 開催 Mutation screening of the DNAJC7 gene in Japanese patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. Genki Tohnai, Ryoichi Nakamura, Naoki Atsuta, Masahiro Nakatochi, Naoki Hayashi, Masahisa Katsuno, Yuishin Izumi, Akira Taniguchi, Nobutaka Hattori, Mitsuya Morita, Osamu Kano, Satoshi Kuwabara, Masaya Oda, Koji Abe, Kouichi Mizoguchi, Ryuji Kaji, Gen Sobue.

H.知的所有権の取得状況

特記なし。