

脊髄性筋萎縮症におけるバイオマーカー開発

研究分担者： 齋藤加代子

東京女子医科大学 ゲノム診療科

研究要旨

脊髄性筋萎縮症(SMA)は、機能的 SMN 障害に起因する遺伝性神経筋疾患である。過去より SMN 定量を元にしたバイオマーカーの提案がされてきたが有効とは言い難い。我々は 2018 年にイメージングフローサイトメトリによる SMN スポット解析法を樹立し新たなバイオマーカーの提案を行った。本法の有用性を明らかにするために疾患修飾治療前の SMA 群の解析を試みた。その結果、解析値と SMA 病型あるいは SMN2 コピー数間に正の相関性が認められた。これにより SMA の重症度を反映するバイオマーカーとして、本法の有用性が検証された。

研究協力者

大月典子、加藤環

東京女子医科大学ゲノム診療科

A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症(SMA)の疾患修飾治療薬(DMT)として 2017 年アンチセンス核酸薬、2020 年遺伝子治療薬、2021 年低分子薬が保険収載された。その適応、有効性の指標、無効例の決定などの評価が十分になされているとはいいがたい。適切な治療の選択と安全性・有効性の向上のために、臨床実態の評価と解析、運動機能評価指標の分析と共に、バイオマーカーの開発が重要である。我々が開発したイメージングフローサイトメトリ(IFC)法により未治療 SMA 患者で病型別解析を行い、SMA モニタリングの有効性を検討した。

B. 研究方法

遺伝学的解析により確定診断かつ DMT 未使用の SMA 群 37 例の末梢血 1.5 mL を採血し、末梢血単核球(PBMC)を分離した。蛍光標識した抗ヒト CD33 抗体と抗ヒト SMN 抗体で染色し、IFC による画像解析を行った。CD33 強陽性細胞画分の SMN スポットを算出し、SMN スポット陽性細胞率(%)を解析値とした。37 例の内訳は Ia:5 例、Ib:5 例、IIa:5 例、IIb:9 例、IIIa:5 例、IIIb:8 例である。また SMN2 コピー数は 2 コピー13 例、3 コピー18 例、4 コピー6 例である。

(倫理面への配慮)

全ての対象者に本研究の趣旨と内容、データの利用に関する説明を行い、書面にて同意を得た。本研究はヘルシンキ宣言に基づいて

計画され、東京女子医科大学倫理委員会にて承認を得た(承認番号: 4786 および 5639)。

C. 研究結果

各群の中央値は I 型: 2.9%、II 型: 6.9%、III 型: 14.7%を示し、スピアマンの順位相関検定によると、相関係数: $r=0.376$ ($p<0.01$)の正の相関性が認められた。サブタイプで分類すると、Ia 型: 1.2%、Ib 型: 12.3%、IIa 型: 8.9%、IIb 型: 6.1%、IIIa 型: 8.3%、IIIb 型: 15.0%で、 $r=0.399$ ($p<0.01$)でほぼ同等の相関性が認められた。さらに SMN2 コピー数で分類すると、2 コピー: 4.3%、3 コピー: 8.6%、4 コピー: 15.6%、で $r=0.425$ ($p<0.01$)とより強い相関が認められた。

D. 考察

統計解析により、3 病型別、細分化した病型別の両方にも解析値との有意な正の相関性が認められた。さらに SMN2 コピー数と解析値にやや強い相関性が認められた。コピー数により高い相関性が得られたことから、病型分類の問題点が示唆された。病型は周囲の認識や診察環境など不確定要因が影響する可能性がある。一方、コピー数情報は SMN 産生能力に直接関連する。病型とコピー数はほぼ相関することから、スポット解析法によりコピー数に応じて病態の改善がモニタリングできる可能性が示唆された。

E. 結論

本研究により IFC による SMN スポット解析

法は SMN2 コピー数および SMA タイピングと相関しており、SMA の重症度を反映するバイオマーカーとしての有用性が検証された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 脊髄性筋萎縮症 (SMA) 診療の手引き編集委員会 (編) (代表: 齋藤加代子). 脊髄性筋萎縮症 (SMA) 診療の手引き. メディカルレビュー社, 東京, 2022
- 2) Ito M, Yamauchi A, Urano M, Kato T, Matsuo M, Nakashima K, & Saito K. Epidemiological investigation of spinal muscular atrophy in Japan. *Brain Dev.*2022; 44(1), 2-16.
- 3) Kato T, Urano M, Matsuo M, Saito K. An Overview of the Clinical Characteristics of Japanese Patients with Spinal Muscular Atrophy: Data from SMART Consortium. *TWMUJ.* 2021; 5, 93-102
- 4) Takano K, Uchiyama T, Otsuki N, Nishio H, Kubo Y, Arakawa R, Saito T, Yasuhiro Takeshima Y, Yuge K, Ikeda T, Kato Z, Nakajima T, Saito K. Effective Valproic Acid Treatment in Motor Function is Caused by Possible Mechanism of Elevated Survival Motor Neuron Protein Related with Splicing Factor Gene Expression in Spinal Muscular Atrophy. *TWMUJ.* 2022
<https://doi.org/10.24488/twmuj.2021020>

2. 学会発表

- 1) Saito K, Nagao R, Tsuchida K, Teshima R, Kawase K. Real-World Assessment of Onasemnogene Asepargovec Treatment in Patients with Spinal Muscular Atrophy: RESTORE/Post-Marketing Surveillance in Japan. *World Muscle Society 2022*, 10.11-15. Halifax, Nova Scotia, Canada
- 2) 齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症における治療の進歩—遺伝子治療の臨床試験から見えてくること. 第 45 回日本小児遺伝学会学術集会. 2023.1.28. 東京
- 3) 齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症の新たな時代—疾患修飾治療による進行抑制そして発症抑制. 難病アドバイザー事業難病医療講演会. 2023.1.22, 徳島
- 4) 齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症の早期診断のポイント—遺伝子治療臨床試験成績. 第 58 回日本周産期・新生児医学会学術集会. 2022.7.11. 東京
- 5) 齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症の治療の進歩

—新生児スクリーニングが必要です. 2022 年度都医学研第 2 回都民講座. 2022.6.20. 東京

- 6) 齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症における治療の進歩. 教育講演. 第 38 回小児神経筋懇話会. 2022.8.27. 東京
- 7) 齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症における創始診断・早期治療の重要性. 第 9 回産婦人科小児科合同講演会. 2022.4.27. 福岡
- 8) 加藤環, 横村守, 浦野真理, 佐藤裕子, 芦原有美, 伊藤万由里, 松尾真理, 米衛ちひろ, 児玉一男, 小俣卓, 大久保幸宗, 富樫紀子, 萩野谷和裕, 室月淳, 齋藤加代子. 出生前診断実施後に多施設多職種連携を推進したことで早期治療と予後改善に結び付いた脊髄性筋萎縮症 I 型の 2 例, 第 46 回遺伝カウンセリング学会学術集会 2022.7.1. 東京
- 9) 加藤環, 横村守, 大澤裕, 松尾憲典, 久保祐二, 本間泰平, 齋藤加代子. 臨床的に脊髄性筋萎縮症と診断される患者の SMN1 遺伝子領域のゲノム解析研究. 第 67 回日本人類遺伝学会学術集会 2022.12.15. 横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む.)

1. 特許取得

出願番号: 2021-040682

本学番号: TW0347

シスメックス株式会社番号: PTM-16816

出願年月日: 2021 年 3 月 12 日

権特許出願人: 学校法人東京女子医科大学、シスメックス株式会社

発明人: 齋藤加代子、大月典子、前川貴則

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし