

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患政策研究事業)
神経変性疾患領域の基盤的調査研究 分担研究報告書

JaCALS を基盤とした研究開発

研究分担者： 祖父江 元
学校法人愛知医科大学

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

中枿昌弘²、JaCALS

1. 愛知医科大学、2. 名古屋大学

研究要旨

2006 年から登録を継続している ALS 患者大規模レジストリ (JaCALS) は参加施設を 41 施設に拡大し、合計 2235 例の ALS 患者を登録している。登録患者の縦断的臨床情報に加えて遺伝子検体、不死化リンパ球および不死化リンパ球からの患者由来 iPS 細胞パネルを蓄積している。この研究リソースを活用し、孤発性 ALS の多様な表現型に関連するゲノム因子を明らかにし、患者 iPS 細胞由来運動ニューロンの表現型評価から創薬に向けた薬剤検証を試みている。これらは孤発性 ALS の heterogeneity を克服し、画期的な病態解析、創薬を推進する重要基盤になりうると考えられる。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の治療法開発は悲願であるが、近年 ALS の病態に関連する遺伝子が多数同定され、中枢神経に介入する技術の進歩もあり、治療開発のチャンスが広がっている。孤発例においても発症に関わる遺伝子に加えて、個別の患者で異なる多様な疾患修飾遺伝子(modifier gene)・分子の存在が想定され、これらを同定したうえで、標的遺伝子、分子に介入する治療開発を行う必要がある。しかし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、ALS に対する革新的な治療開発を目指す。

B. 研究方法

2006 年から登録を開始した ALS 患者レジストリ (JaCALS) の参加施設を 41 施設に拡大し、ALS 患者 2235 例の前向き臨床情報、ゲノム DNA、不死化リンパ球、SNP アレイ、エクソーム、全ゲノムデータを蓄積した。また不死化リンパ球から患者由来 iPS 細胞を作成し、運動ニューロンを分化誘導し、薬剤スクリーニングや各種オミックス解析を行う基盤を構築し、100 例以上の iPS 細胞パネルを構築した。

(倫理面への配慮)

人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針に従い、倫理審査承認と参加施設の長による実施許可を得て、参加者の文書

によるインフォームドコンセントを取得して実施した。

C. 研究結果

孤発性 ALS 患者と正常コントロールとのゲノムワイド関連解析 (GWAS) により得られたリスク遺伝子多型情報を用いて、遺伝子多型と遺伝子発現との関連データベース、化合物ライブラリーと遺伝子発現との関連データベースを使った統合解析により、孤発性 ALS における遺伝子発現変化を逆転、正常化させる化合物候補を抽出した。これらの治療候補化合物を ALS 患者 iPS 細胞由来運動ニューロンの経時的神経突起長の変化パターンを用いて、有効性の検証を行ったところ、5 種類の薬剤で表現型の改善が得られた。

長期のフォローアップが得られている孤発性 ALS 患者 1076 例の生存期間と関連する遺伝子多型を GWAS にて同定し、それが患者 iPS 細胞由来運動ニューロンで再現されることを示した。さらに ALS 患者の発症年齢と関わるゲノム因子を探索する GWAS を実施した。JaCALS の 1807 例で、線形回帰分析を用いて SNP と発症年齢の関連を検討し、ゲノムワイド有意($P < 5 \times 10^{-8}$)な関連を示す SNP を同定した。得られた回帰係数から、この SNP の T アレルを一つ持つ場合、持たない場合と比べて 4.1 歳早く発症することが示された。この SNP について、独立したサンプル(ALS 患者) 203 例で再現性を確認することができた。

D. 考察

孤発性 ALS の発症に加えて、発症年齢や発症後の予後など多様な表現型に対してゲノム因子が関連していることが示された。

孤発性 ALS においても患者 iPS 細胞由来運動ニューロンの表現型評価により、薬剤の

検証に活用できる可能性が示された。

E. 結論

孤発性 ALS の発症、phenotype、予後に関わる遺伝子、分子の同定、検証から創薬に結び付ける研究コンセプトが大きく進展した。孤発性 ALS の heterogeneity を克服し、画期的な病態解析、創薬を推進する重要基盤であると考えられる。

F. 健康危険情報

特記なし。

G. 研究発表 (2022/4/1~2023/3/31 発表)

1. 論文発表

Riku Y, Iwasaki Y, Ishigaki S, Akagi A, Hasegawa M, Nishioka K, Li Y, Riku M, Ikeuchi T, Fujioka Y, Miyahara H, Sone J, Hattori N, Yoshida M, Katsuno M, Sobue G. Motor neuron TDP-43 proteinopathy in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *Brain* 145(8) 2769-2784. 2022

Yokoi S, Ito T, Sahashi K, Nakatochi M, Nakamura R, Tohnai G, Fujioka Y, Ishigaki S, Udagawa T, Izumi Y, Morita M, Kano O, Oda M, Sone T, Okano H, Atsuta N, Katsuno M, Okada Y, Sobue G. The SYNGAP1 3'UTR Variant in ALS Patients Causes Aberrant SYNGAP1 Splicing and Dendritic Spine Loss by Recruiting HNRNPK. *J Neurosci.* 42(47) 8881-8896. 2022

Ohdake R, Watanabe H, Kawabata K, Ogura A, Sato M, Tanaka Y, Imai K, Masuda M, Kato T, Yokoi T, Hara K, Nakamura R, Atsuta N, Nakagawa M, Katsuno M, Sobue G. Convenient Auditory-Based Language and Executive Function Test for Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Pilot Study. *Arch Clin*

2. 学会発表

特別講演「神経変性疾患の治療法開発の時代へ」、祖父江元、次世代を担う若手のための創薬・医療薬理シンポジウム
2022、2022/8/27、国内、口頭

ALS に対する precision medicine に向けて、熱田直樹、中村亮一、藤内玄規、祖父江元、第 63 回日本神経学会学術大会シンポジウム、2022/5/21、国内、口頭

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記なし。