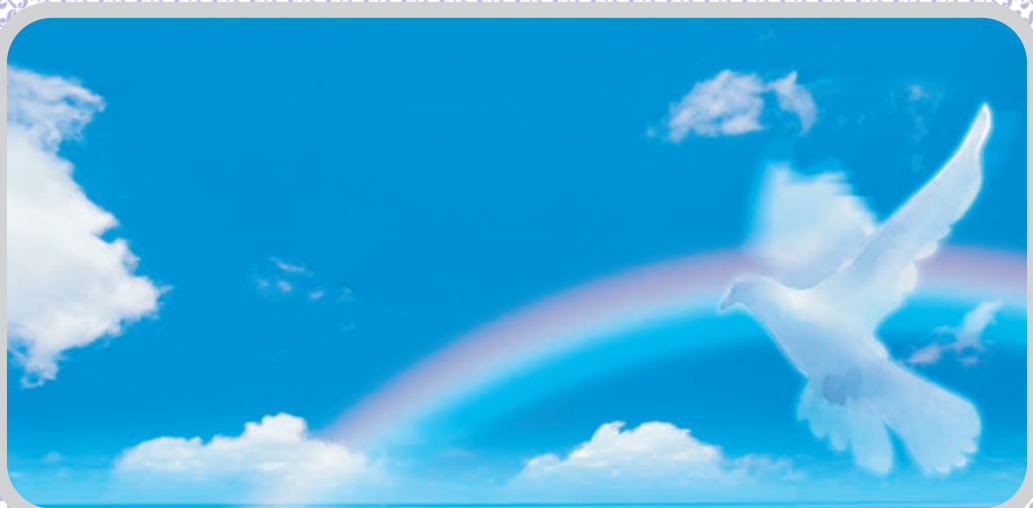


No. 37
2012.10

難病研究財団ニュース



公益財団法人 難病医学研究財団
Japan Intractable Diseases Research Foundation



目 次

巻頭の言葉「グローバル化の時代を迎えて」

専 務 理 事 遠 藤 弘 良 1

1. 難病対策の見直し及び障害者総合支援法の状況について

厚生労働省健康局疾病対策課 2

2. 平成 22 年度医学研究奨励助成金受賞者の研究報告概要 6

3. 平成 24 年度医学研究奨励助成事業の応募状況について24

4. 平成 24 年度国際シンポジウム事業計画概要24

5. 研究雑感「難病の研究と医療における生命倫理」

評 議 員 青 木 清25

6. 新着情報26

厚生労働省の難病対策に関する動向

厚生労働省難治性疾患克服研究事業（研究班）の動向

7. 疾患ミニ解説「黄色靱帯骨化症」について27

8. 賛助会員へのご加入及びご寄付のお願い28



「グローバル化の時代を迎えて」

公益財団法人難病医学研究財団

専務理事 遠藤 弘良

(東京女子医科大学 教授)

15世紀から17世紀の世相を表す言葉のひとつが「大航海時代」とすると、21世紀のそれは「グローバル化」と言えるのではないのでしょうか。単なる「国際化」という訳語では十分とは言えず、政治、経済、文化あらゆる面での「大交流時代」あるいは「大競争時代」と訳すのがより適切ではないかと思います。

医学研究の分野では多くの日本人研究者が欧米の大学や研究施設で活躍してきました。難病医学研究財団の事業である研究助成金により、これまで多くの若手の研究者が海外の研究者と共同研究を進めてきました。また国際シンポジウムも長年にわたり開催され、日本の研究者と海外の研究者との交流が盛んに行われてきました。こうしたことが日本の難病研究の進展や治療法の開発に大きく貢献しています。他の分野と比べて医学研究の分野は早い時期から国際化が進んでいたと言えますが、今では英語論文による国際誌への投稿は常識となり、さらにインターネットによる一分一秒を争う投稿という「大競争時代」に入っています。

一方、「大交流時代」を迎え、これまで研究者や臨床医の間だけのグローバル化が、患者さんの間にも起こっています。そのひとつの現象がいわゆる「メディカルツーリズム」と言われるものです。インターネットの発達により専門家のみならず、一般人でも簡単に世界の医学情報を手にすることができるようになりました。またLCCと呼ばれる格安航空会社の出現により、気軽に海外にも出かけられるようになりました。そこで途上国の患者さんはより良い医療を求め、一方先進国の患者さんはより経済的な医療を求めて、気軽に海外に出かける時代となっています。世界中で1年間に何十万人もの患者さんが海外で医療を受けているという推計もあります。こうした患者さんの中には多くの難病患者さんもいらっしゃるはずです。

ご存知のように現在、厚生労働省は今後の日本の難病対策の在り方に関する抜本的な見直しを行っています。医療費助成・研究事業の対象疾患の在り方のみならず、福祉サービスの在り方や就労支援等まで含めた総合的な検討がなされています。その検討項目の中に難病研究の国際連携の在り方や難病情報の国際化の在り方も含まれています。例えば、世界と地域の希少・難治性疾患の患者さんとその家族の健康状況を改善することを目的としたICORD (International Conference of Orphan Drugs and Rare Diseases) と呼ばれる国際的な組織がありますが、こうした組織との連携促進も検討されています。

20世紀までは途上国の健康問題は感染症と栄養障害が中心でした。しかし21世紀に入り、グローバル化により途上国にもファーストフード等、物質的な豊かさがもたらされるようになり、それに伴いNCD (Non Communicable Diseases) と呼ばれるがん、脳卒中、心臓病をはじめとした非感染性疾患が急増しています。難病疾患も増加することは間違いないでしょう。グローバル化には功罪ありますが、これにより日本における難病対策が一層進むばかりでなく、日本の難病医学の研究の成果やこれまでの様々な対策の経験が、世界の難病患者さんのためにも大いに役立つようになることを期待しています。



難病対策の見直し及び障害者総合支援法の状況について

—障害福祉サービスを含めた総合的な難病対策の構築を目指して—

厚生労働省健康局疾病対策課

1. 難病対策の見直しについて

難病対策については、昭和47年に「難病対策要綱」が策定されて以来、

- ① 原因不明、治療法が未確立であり、かつ後遺症を残すおそれが多い疾患
- ② 経過が慢性にわたり、単に経済的な問題だけでなく介護等に著しく人手を要するために家庭の負担が重く、また精神的にも負担の大きい疾患に対して、次の5本柱の施策を実施してきた。

- ① 調査研究の推進
- ② 医療施設等の整備
- ③ 医療費の自己負担の軽減
- ④ 地域の保健福祉医療の充実・連携
- ⑤ QOLの向上を目指した福祉施策の推進

平成24年度においては、研究対象疾患が364疾患（臨床調査研究事業130疾患、研究奨励事業234疾患）、医療費助成（特定疾患治療研究事業）対象疾患が56疾患となっている。

これらの施策により、難病の実態把握や治療法の開発、難病医療の水準の向上、患者の療養環境の改善、難病に関する社会的認識の促進に一定の成果をあげることができた。しかしながら、制度創設から約40年が経過し、医療の進歩や患者及びその家族のニーズの多様化、社会・経済状況の変化に伴う様々な制度疲労が指摘されており、現在抜本的な見直しが求められている状況である。主な課題は次のとおりである。

- 現在の医療費助成（特定疾患治療研究事業）は、治療法の研究開発等に結びつけるのが難しく、事業の対象となる疾患と対象とならない疾患の間の不均衡や、事業実施主体である都道府県の超過負担が存在し（平成24年度：交付率54.8%、△289億円（予測））、事業の公平性や安定性の確保が求められている。
- 医療イノベーションにより、難病の成因を解明するとともに、症状軽減や進行抑制、QOLの改善、さらには治癒につながる効果的治療法を開発する研究の推進と、その成果の患者への還元が求められている。
- 難病にかかっても尊厳をもって日常生活や社会生活を営むことができるよう、難病と難病患者に対する国民の理解を深め、就労支援を含め社会参加を進める総合的な対策が求められている。

こうした課題を克服し、総合的な難病対策を構築するため、昨年9月から、厚生科学審議会疾病対策部会難病対策委員会や厚生労働副大臣を座長とする「新たな難治性疾患対策の在り方検討チーム」で検討を進めている。

その検討の成果として、昨年12月には難病対策委員会で中間的な整理が取りまとめられ、本年2

月に閣議決定された社会保障・税一体改革大綱¹には、難病の医療費助成について法制化も視野に入れて検討するとともに、総合的な施策の実施を目指すことが盛り込まれた。さらに、8月には難病対策委員会で中間報告が取りまとめられ、親会議である疾病対策部会です承された。中間報告の概要は次のとおりである。

- ① 難病対策の必要性と理念：難病の治療研究を進め、疾患の克服を目指すとともに、難病患者の社会参加を支援し、難病にかかっても地域で尊厳を持って生きられる共生社会の実現を目指す。また、患者の長期かつ重度の精神的・身体的・経済的負担を社会全体で支えることを目指す。
- ② 「難病」の定義、範囲の在り方：総合的な難病対策の外縁となる「難病」の定義については、「難病対策要綱」をも参考にしつつ、できるだけ幅広くとらえるべきである。一方で、個別施策の対象となる疾病の範囲については、広く国民の理解を得られるよう、それぞれの施策の趣旨・目的等も踏まえ、比較的多い疾病を基本に選定すべきである。
- ③ 医療費助成の在り方：対象疾患については、これまでの4要素（①症例が比較的少ないために全国的な規模で研究を行わなければ対策が進まない、②原因不明、③効果的な治療法未確立、④生活面への長期にわたる支障）を基本的に踏襲することが適当であり、また、定期的な見直しや、重症度等の基準を設定することが必要。具体的な疾患の範囲については、難治性疾患克服研究事業「今後の難病対策のあり方に関する研究班」の調査結果等も参考に今後検討する。さらに、対象患者の認定にあたっては、専門医の診断や指定医療機関での受診を要件とする。給付水準についても見直しを検討する。
- ④ 福祉サービスの在り方（次頁の「2. 障害者総合支援法について」で説明）
- ⑤ 難病相談・支援センターの在り方：医療機関、保健所、就労支援機関、子どもの相談支援機関等との連携の強化を図る。どの都道府県でも基本的な機能を果たせるよう、必要な体制を確保する。
- ⑥ 難病手帳（カード）（仮称）の在り方：目的、効果、事務負担等を他制度の例も参考にしつつ、今後更に検討する。
- ⑦ 難病研究の在り方：診断基準の作成や病態解明等に加え、治療法開発、創薬の研究を重点的に目指す。研究の成果を患者等にわかりやすく伝える。²
- ⑧ 難病医療の質の向上のための医療・看護・介護サービスの提供体制の在り方：新・難病医療拠点病院（仮称）、難病医療地域基幹病院（仮称）等の整備により、適切な医療・介護サービスが受けられるようにする。
- ⑨ 就労支援の在り方：難病に関する知識（通院への配慮等）や既存の支援策（助成金等）の普及啓発が重要。既存の支援策の充実や、難病相談・支援センターと就労支援機関等との連携体制の強化を行う。
- ⑩ 難病を持つ子どもへの支援の在り方：相談支援、治療研究、小児期の担当医師と成人疾患の担当医師との連携、総合的な自立支援が必要。
- ⑪ 小児慢性特定疾患治療研究事業の対象者等小児期から難病に罹患している者が成人移行（トランジション）する場合の支援の在り方：切れ目のない支援、小児期の担当医師と成人疾患の担当医師との連携、総合的な自立支援が必要。

今後は、中間報告も踏まえ、難病対策委員会でさらに検討を進め、最終報告を取りまとめる予定である。

2. 障害者総合支援法について

障害福祉施策の見直しについては、平成22年4月から、障害者などを中心に構成された「障がい者制度改革推進会議」の下にある「総合福祉部会」において検討が進められ、平成23年8月には「障害者総合福祉法の骨格に関する総合福祉部会の提言」が取りまとめられた。その後、平成24年3月に「地域社会における共生の実現に向けて新たな障害保健福祉施策を講ずるための関係法律の整備に関する法律案」（障害者総合支援法を含む。）が国会に提出され、同年6月に成立した。この法律において、「治療方法が確立していない疾病その他の特殊の疾病であって政令で定めるものによる障害の程度が厚生労働大臣が定める程度である者」（いわゆる難病の人等）が、障害児・者の範囲に加えられたことから、平成25年4月以降、障害者総合支援法に基づく障害福祉サービスに係る給付対象となる。

難病対策委員会の中間報告においては、障害者総合支援法について、次のように記載されている。

- 障害者総合支援法の対象疾患の範囲については、難治性疾患克服研究事業「今後の難病対策のあり方に関する研究班」の調査・分析結果の他、新たな難病対策における医療費助成の対象疾患の範囲も参考にしつつ、検討する。
- 障害程度区分の認定に当たっては、難病ごとの特性についてきめ細かく配慮する必要がある。

今後は、中間報告を踏まえ、研究班の調査・分析結果や新たな医療費助成の対象疾患を参考に障害者総合支援法の対象疾患について検討するとともに、障害程度区分の運用について検討していく予定である。

¹ 社会保障・税一体改革大綱（抄）〔平成24年2月17日閣議決定〕

3. 医療・介護等②

（12）難病対策

（3）の長期高額医療の高額療養費の見直しのほか、難病患者の長期かつ重度の精神的・身体的・経済的負担を社会全体で支えるため、医療費助成について、法制化も視野に入れ、助成対象の希少・難治性疾患の範囲の拡大を含め、より公平・安定的な支援の仕組みの構築を目指す。

また、治療研究、医療体制、福祉サービス、就労支援等の総合的な施策の実施や支援の仕組みの構築を目指す。

☆ 引き続き検討する。

² 研究成果の還元については、これまでは難病情報センターにより研究成果がHPに掲載されており、一定の成果が上げられているが、今後は、より幅広い層に分かりやすく伝えていく必要がある。

難治性疾患に対する研究・医療費助成事業の概要

特定疾患治療研究事業

〈医療費助成〉
(56／130疾患)
(350億円)

臨床調査研究分野のち、治療が極めて困難で、かつ医療費が高額な疾患について、医療の確立、普及を図るとともに、患者の医療費負担の軽減を図る。

[自治体への補助金] (平成24年度)
国負担・県負担 各 1／2
総事業費 1,278億円 (予測)
自治体の超過負担額 △289億円
交付率 54.8% (予測)

難治性疾患克服研究事業

〈研究費助成〉
(100億円)

臨床調査研究分野 (130疾患)

- ・希少性 (患者数 5 万人未満)
 - ・原因不明
 - ・治療方法未確立
 - ・生活面への長期の支障
- の4要素を満たす疾患から選定し原因究明などを行う。

研究奨励分野 (234疾患)

4 要素を満たす疾患のうち臨床調査研究分野に含まれないものであって、これまで研究が行われていない疾患について、実態把握や診断基準の作成、疾患概念の確立等を目指す。

重点研究分野 (革新的診断・治療法を開発)

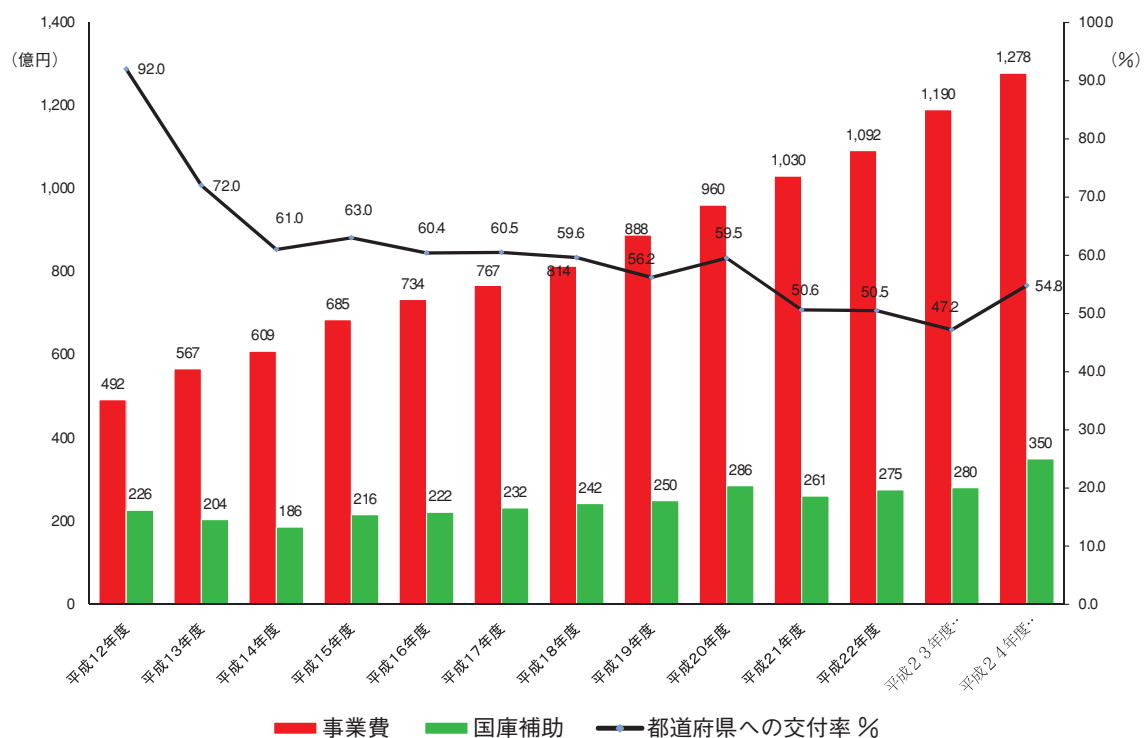
横断的基盤研究分野
(疾患横断的に病因・病態解明)

指定研究
(難病対策に関する行政的課題に関する研究)

難病、がん、肝炎等の疾患の克服 (難治性疾患克服研究関連分野)

難病患者の全遺伝子を極めて短期間に解析し、早期に原因解明及び新たな治療法・開発を推進する。

特定疾患治療研究事業の予算額と都道府県への交付率の推移



⇒ 医学研究奨励助成金の概要 ⇐

1. 趣 旨

めざましい医学の進歩にもかかわらず、なお原因が解明されず治療方法も確立されていないいわゆる難病の研究を推進するため、昭和51年度から当財団が独自で40才未満の若手研究者を対象とし、一般公募により研究内容が将来有用と期待される研究について医学研究奨励助成金を交付し、研究の支援を行っている。

2. 公募対象

難病の専門分野における40才未満の研究者や現に難病の診療に携わっている40才未満の医師で、厚生労働省難治性疾患克服研究班研究代表者、総合大学及び医科大学の医学部長または附属病院長、難治性疾患研究を行っている研究機関の長のいずれかの推薦を受けた者を対象としている。

3. 公募状況

平成22年度においては、43名の応募があり、7名の専門審査委員による厳正な審査を経て8名の方が受賞することとなった。

4. 助 成 金

1名につき200万円

5. 研究報告概要等

研究報告概要は後記の通りであり、これらの研究を基に難病に対する医学研究が益々推進され、難病患者とそのご家族や関係者に有用となることを期待している。

⇒ 医学研究奨励助成金受賞者の研究報告概要 ⇐

(注) 本研究報告は、平成22年度（第35回）に当財団が助成した医学研究奨励助成金受賞者の研究報告概要を取り纏めたものです。

- 加齢黄斑変性の原因・発症メカニズムの解明
〔神田 敦宏 北海道大学大学院医学研究科炎症眼科学講座 特任助教〕
- アクチンの構造制御による特発性両側性感音難聴治療法の開発
〔北尻 真一郎 京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科 助教〕
- パーキンソン病遺伝子の同定と個別化医療の開発
〔佐竹 渉 神戸大学大学院医学研究科神経内科分子脳科学 学術研究員〕
- 先端ゲノミクスによる骨髄異形成症候群（MDS）の病態解明と新規医療技術の開発
〔真田 昌 東京大学医学部附属病院がんセンターボード 特任助教〕
- 疾患記憶をリセットする病原性メモリーT細胞をターゲットとした炎症性腸疾患根治療法の開発
〔根本 泰宏 東京医科歯科大学消化器内科 GCOE特任助教〕
- 自己免疫性難聴モデル遺伝子改変動物の樹立と新規難聴治療法探索への応用研究
〔藤岡 正人 慶應大学医学部耳鼻咽喉科学教室 助教〕
- 自己免疫疾患発症における活性化制御性 T 細胞（T-reg）特異的細胞表面蛋白GARPの関与とその作用機構の解明
〔藤田 敏次 大阪大学微生物病研究所感染症学免疫学融合プログラム推進室 助教〕
- 患者由来人工多能性幹細胞を用いたFabry病の臓器特異的障害機序の解明
〔吉満 誠 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科心筋症病態制御講座 特任助教〕

参考 第35回 贈呈式

平成23年1月18日（火）11時～

式次第

- | | | |
|-----------------|------------------------|---------------|
| (1) 挨拶 | 会 長 | 高久 史磨 |
| (2) 趣旨及び審査経過報告 | 理事・企画委員長 | 金澤 一郎 |
| (3) 医学研究奨励助成金贈呈 | 理事長 | 吉原 健二 |
| (4) 祝 辞 | 厚生労働大臣 | 細川 律夫 殿（代理出席） |
| | 上智大学名誉教授 | 青木 清 殿 |
| (5) 受賞者代表謝辞 | 神戸大学大学院 | |
| | 神経内科分子脳科学 学術研究員 佐竹 渉 殿 | |

加齢黄斑変性の原因・発症メカニズムの解明

北海道大学大学院医学研究科 炎症眼科学講座 特任助教 神田 敦宏



近年、超高齢社会を迎えた我が国は、生活習慣病や加齢を含む要因により発症・進行する疾患を罹患する患者数は急増している。加齢黄斑変性（Age-related macular degeneration, AMD）は、加齢を含む複数の要因により眼の網膜にある黄斑部が変性を起こす加齢神経変性疾患の一つで、世界中では5千万人以上が罹患している。アメリカでは途中失明の原因第一位となり、日本においては第4位であるがその罹患患者数は年々増加している。AMDでは網膜の中心部（視覚の最も鋭敏な部分である黄斑）が傷害され、物が歪んで見え、視力低下、そして最終的には失明する。初期兆候は、網膜色素上皮細胞とブルッフ膜間に老廃物が凝集・沈着して出来るドルーゼン（Drusen）の形成と色素沈着過剰もしくは低下が起こる。後期には、脈絡膜新生血管（choroidal neovascularization）の形成、光受容体と網膜色素上皮の萎縮が認められる。白人ではDrusen形成が主体で脈絡膜新生血管がない萎縮型AMDと呼ばれる病型が主流であるのに対して、日本人では脈絡膜新生血管を伴う滲出型AMDの病型（図1）が主流である。しかしながら、未だAMDの発症の原因・メカニズムもわかっておらず、加齢、遺伝的素因（polymorphism）、環境因子（喫煙、食事）などが主要危険因子として上げられている。

これまでに数多くの遺伝学研究により、染色体1q31と10q26上の遺伝子多型が遺伝的危険因子として強く関連していることが立証されている。染色体1q31は、複数グループによりComplement factor H遺伝子上での一塩基多型（SNP、single nucleotide polymorphism）のY402Hが初のAMD関連対立遺伝子として同定された。さらなる遺伝学研究の結果、染色体10q26上の新規遺伝子ARMS2（age-related maculopathy susceptibility 2）のExon1上に位置するSNP rs10490924が主要なAMD関連遺伝的要因であることを我々は報告した。これまでの多くの研究報告により、遺伝子多型を解析することで各個人の疾患へのリスクを予想することは可能であるが、病状の進行や予後予測などに関しては明らかとはなっていない。このため、早期加入する治療戦略の確立や疾患早期発見に繋がるバイオマーカーの同定は、失明や重度の視力障害を回避するための社会的急務である。

本研究では、AMD発症に関連する新規バイオマーカーを探索するために、疾患進行ステージごとのAMD患者より採取した血液、または術中に摘出した組織などを収集した。そして、それらにおける遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイ解析に供することで網羅的遺伝子発現解析を行った。表1と2に一部検体を用いて行った遺伝子発現解析結果を示す。



図1 加齢黄斑変性 眼底写真

表1 AMD発症により増加していた遺伝子

遺伝子名	発現変動率	機 能
DNAJC12	1.848	タンパク輸送など
LOC646791	1.715	未知
NHP2	1.650	RNAタンパク質
LOC388813	1.623	未知
OR5M8	1.528	Gタンパク質共役レセプター

表2 AMD発症により減少していた遺伝子

遺伝子名	発現変動率	機 能
LOC100129139	1.537	未知
LOC728724	1.517	未知
LOC728003	1.39	未知
LOC100128524	1.375	未知
ALS2CR10	1.339	未知

今回の解析で遺伝子発現変動がAMDにおいて認められた上記の遺伝子は、これまでにAMD関連遺伝子として報告されているものとは異なる新規遺伝子であった。現在、統計学的解析を含め、今後はさらに検体数を増やし、遺伝子多型解析とも重ね合わせて、早期疾患発症・予後のマーカー同定や新規治療ターゲット分子の発見を試みる。

加齢黄斑変性の根本的な治療法は見つかっておらず、感覚器の健康という観点から、この疾患の原因解明・治療法の開発は超高齢社会を迎えた国民のQuality of Lifeの向上に寄与することが期待される。予防的介入につながる新規分子標的治療の開発が当該分野の最重要課題となっており、本症の視力予後改善は眼科学分野の責務である。最後に、本研究を遂行するにあたり多大なご支援を賜りました公益財団法人 難病医学研究財団に深く感謝致します。

アクチンの構造制御による 特発性両側性感音難聴治療法の開発

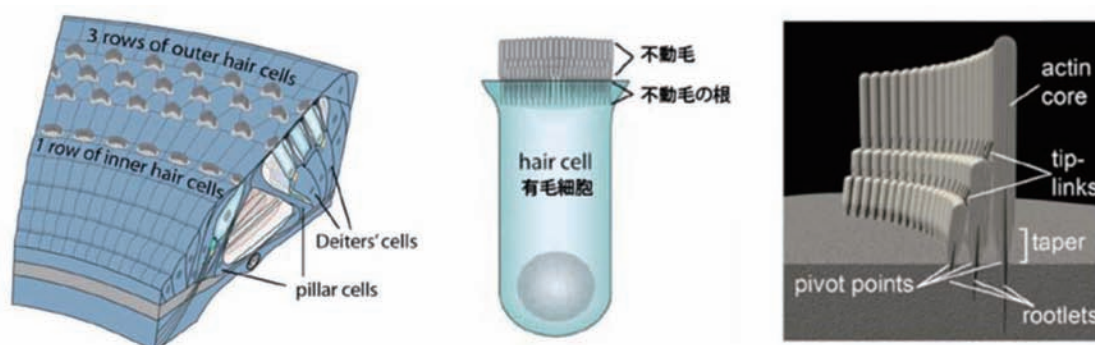
京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 助教 北尻 真一郎



【研究の背景】

聴覚は言語コミュニケーションの根幹をなし、その障害はQOL（生活の質）の著しい低下をまねく。感音難聴は最も頻度の高い身体障害で、その有病率は20%にもものぼり、大きな社会的問題となっている。にもかかわらず、感音難聴は根本的治療法が確立されていないばかりか、構造上、内耳組織は生検できないため、その病態すら十分に解明されていないのが現状である。しかし、ヒト特発性両側性感音難聴患者では、有毛細胞機能の指標である耳音響放射が障害されていること、蝸牛神経を刺激すると音感が得られることから、特発性両側性感音難聴が神経系の異常ではなく、内耳の中でも有毛細胞の障害であることが強く示唆されている。我々はこれまでに遺伝性難聴からアプローチするという戦略で、難聴をきたす遺伝子変異を同定した。その遺伝子、TRIOBPの解析を行い、TRIOBPタンパク質が細胞骨格の1つであるアクチンを束化して、図1にあるような内耳有毛細胞の不動毛の根を形成し、この根が機械的なストレスによる不動毛変性を防いでいることを見いだした。内耳有毛細胞の不動毛は、音刺激で振動し電気信号を発生するという聴覚受容で鍵となる機能を有する構造で、長期あるいは過剰な音振動による機械的ストレスによって損傷を受けると変成していき、一度変性してしまった不動毛は回復しない。

図1 内耳の構造、および有毛細胞不動毛とその根の概略図



【研究の目的】

多くの感音難聴において、内耳障害は不動毛変性から始まるため、不動毛の変成防止は感音難聴の克服に繋がると期待できる。本研究では、TRIOBPを始めとしたアクチン制御による有毛細胞における根の強化や不動毛の保護効果によって、不動毛変性の抑制、また変性した不動毛の再生を促すことを目指す。そのためにまず、根を形成するアクチン束化分子TRIOBP分子自体の性質の解析と、器官培養細胞上へ遺伝子の導入によるTRIOBPの不動毛保護効果の検証および、根を強化する化学物質のスクリーニング等、治療・創薬へ繋げるための評価実験システムの構築を目的とした。

【研究の方法】

TRIOBP分子の、アクチン細胞骨格との相互作用および、不動毛のような細胞構造への作用の解析はTRIOBPタンパク質の部位欠損変異体等を用いて、生化学的、細胞生物学的な解析によって検証を進めた。

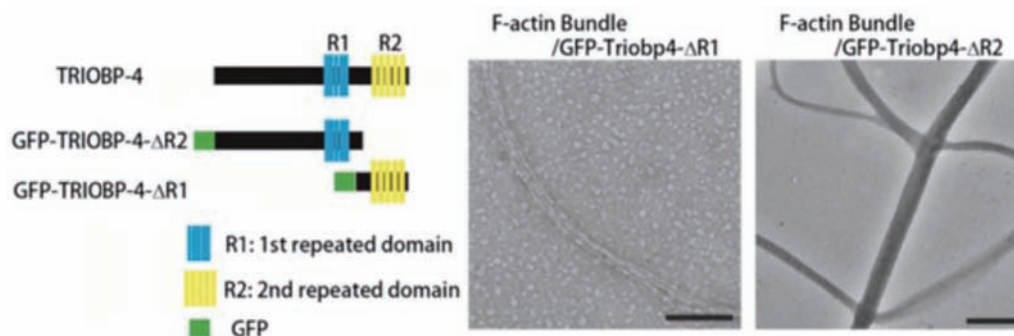
TRIOBPの不動毛保持、保護効果の検証は、モデル動物内耳の器官培養等を用いた、音響外傷、内

耳毒性薬物投与、加齢等の不動毛変性の障害モデル実験系を構築し行う。障害のモデルは、培養上清にアミノグリコシド系抗生剤を混入することや、培養デッシュを震盪する機械刺激等を加えることによって作り、その実験系上でTRIOBPの遺伝子導入を行い、根の強化やその保護効果を検証する。そのために、蛍光タンパク質GFP融合TRIOBPをマウス内耳器官培養細胞へ導入する方法の確立、およびTRIOBP遺伝子を組み込んだモデル動物の作製、さらには根を強化する化学物質をスクリーニングできる実験系の構築を進めている。

【研究の結果】

TRIOBPのアクチン束化機構の解析を、アイソフォームの1つであるTRIOBP-4 (T4) の部位欠損変異体を用いて行い、図2のようにこれまでにT4に2つある特徴的な反復配列 (R1ならびにR2) がそれぞれアクチン束化能を持っているという結果を得た。面白いことに、R1はイオン結合、R2は疎水結合と、それぞれ異なる様式でアクチンと結合しており、R1がアクチン束に新たなアクチンを捕捉して束を太くするのに対し、R2はその束の中でのアクチン間接着を強めるという機構が明らかとなった。これはTRIOBPによる不動毛の根の形成に複数のステップが存在することを示唆しており、この分子メカニズムの解析を進めることによって、より効果的な不動毛の根の形成や強化の誘導が可能になると期待できる。

図2 TRIOBPドメインはそれぞれ異なるアクチン束化活性を持つ



TRIOBPによる不動毛の維持、保護効果を検証するため、蛍光タンパク質GFPを融合させたTRIOBPを器官培養組織上の内耳有毛細胞へ遺伝子導入する実験系を構築した。複数の遺伝子導入法を検討した結果、遺伝子銃を用いた導入方法がもっとも安定しており、現在これを用いて解析を進めている。また理化学研究所（神戸）と共同で、GFP-TRIOBP-4遺伝子を全身で発現するトランスジェニックマウスを作製した。このトランスジェニックマウスからは、常時GFPによって可視化されたTRIOBPを発現している内耳組織が得られるため、今後の障害モデルでのTRIOBPの機能評価や、不動毛の変成を防ぐ化学物質のスクリーニング、さらにはTRIOBP自身の細胞内動態を安定的に解析することが可能となった。

【まとめ】

以上のように、内耳有毛細胞において不動毛の根を形成に重要な役割を果たしているTRIOBP分子に焦点を当てた、アクチンの構造制御による感音難聴治療法の開発を進めている。これまでにTRIOBPのアクチン制御機構の一端と、器官培養を用いた評価実験のシステムの基礎が構築できた。これにより、今後、治療・創薬へと繋がるであろう、根を強化する化学物質のスクリーニングやTRIOBPを始めとするアクチン制御分子の不動毛保護効果を、この実験系を用いて検証することが可能となった。次いで、そこで得られた知見を元に、根を強化するコンパウンドの投与やTRIOBP等遺伝子導入モデル動物での音響外傷・内耳毒性薬物投与・加齢を行い、聴性脳幹反応による聴力機能評価と内耳形態評価により*vivo*での治療効果を検証する。不動毛変性は遺伝性難聴家系から発見されたものであるが、生理的なものであり、本研究で得られる知見は遺伝性難聴にかぎらず感音難聴に広く応用できると考えられる。

パーキンソン病遺伝子の同定と個別化医療の開発

神戸大学大学院医学研究科神経内科分子脳科学 学術研究員 佐竹 渉



パーキンソン病は、人生の中～晩年期に、振るえや筋肉の固縮、無動、姿勢反射障害などの運動障害症状を中心として、自律神経障害、認知症などをともなって発症する、神経難病である。パーキンソン病症例の90-95%は孤発性発症であるが、5-10%は家族歴がある（その一部はメンデル遺伝性）。パーキンソン病多発家系の連鎖解析などから少なくとも6つのメンデル遺伝性パーキンソン病原因遺伝子が明らかにされ、ミトコンドリア障害、酸化ストレス障害の病態への関与に加え、新たにユビキチン・プロテアソーム系の機能低下、つまり蛋白分解異常からドパミン細胞死に至る経路の重要性が示されている。

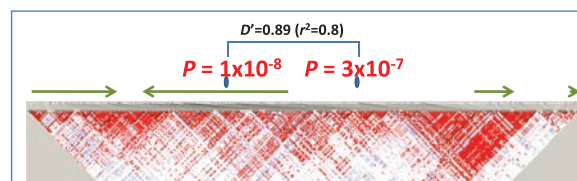
一方で、21世紀のゲノム科学の進展にともなって、孤発性に発症する多因子疾患の疾患リスク遺伝子の探索が実現可能となった。多因子疾患とは、ゲノム上のたった1つの変異で発症するいわゆる遺伝病とは異なり、ゲノムの多数の変化が積みかさなることにより発症する疾患である。パーキンソン病においても、患者の大多数を占める孤発性パーキンソン病は多因子疾患であると考えられ、孤発性パーキンソン病の疾患リスク遺伝子の発見を目指した研究が行われている。我々は孤発性パーキンソン病の大規模なゲノムワイド関連解析（GWAS）を行い、パーキンソン病を引き起こす、4つの遺伝子リスクを同定、世界に先駆けて報告してきた（Satake et al, Nature genetics 2009）。そこで、本研究では、この研究をさらに発展させ、さらなる孤発性パーキンソン病リスク遺伝子を同定するため、＜A＞第2期ゲノムワイド関連解析をおこなう、と同時に、家族性パーキンソン病遺伝子を同定するため、＜B＞近親婚家系のパーキンソン病患者ゲノムを用いたホモ接合性マッピングをおこない、パーキンソン病を引き起こす遺伝子の多型や変異を、さらに明らかにしようとした。

＜A＞ 孤発性パーキンソン病リスク遺伝子発見のための、第2期ゲノムワイド関連解析

先述のゲノムワイド関連解析（Satake et al, Nature genetics）では、パーキンソン病の新たな発症メカニズムを提示する発見をすることができたものの、一方で、国際競争に勝つため速報性を重視したため、再現実験の対象とした一塩基多型（SNP）数が全く不十分（わずか337個）であり、未だ、ゲノムスクリーニングとして完成していない。よって、本研究で、自験のゲノムワイドな55万個のSNPデータから、患者・対照間でアレル頻度に差があり、パーキンソン病リスク遺伝子として有望とかがえられる上位9,000個のSNPについて、新たなパーキンソン病1,100人の患者ゲノムでの関連解析を追加しておこない、さらなる孤発性パーキンソン病遺伝子の同定をおこなった。中間解析ではあるが、白人のゲノムワイド関連解析で孤発性パーキンソン病のリスク遺伝子と報告された（Lancet 2011）、ロイシン代謝に関わるMCCC1（Methylcrotonyl CoA carboxylase）に、アジア人で初めて強い疾患関連を検出し（trend検定のP値 = 1×10^{-7} ）、MCCC1が、アジア・白人共通の孤発性パーキンソン病リスク遺伝子であることをしめした。さらに、ゲノムワイド有意水準を突破するまったく新規の孤発性パ

ーキンソン病遺伝子を発見することができた（図1、trend検定のP値 = 1×10^{-8} ）。さらに、このタンパクの抗体による患者黒質パラフィン標本の免疫組織染色により、このタンパクは、パーキンソン病の病理学的hallmarkであるLewy小体に局在することをあきらかにし、患者のゲノム・脳病理の両面から、この遺伝子が、新規の孤発性パーキンソン病遺伝子であることをしめすことができた。

図1 第2期ゲノムワイド関連解析（中間解析）で発見された新規のパーキンソン病リスク遺伝子座



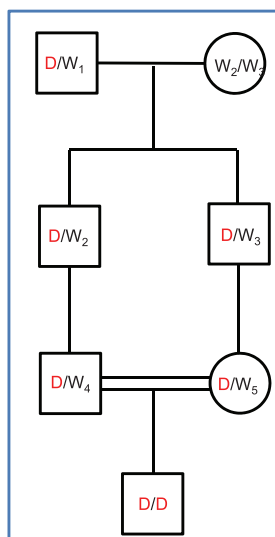
中間解析ですでに統計的にゲノムワイド有意水準を突破しており、新規の孤発性パーキンソン病リスク遺伝子座を発見することができた。

 家族性パーキンソン病遺伝子を同定するための、近親婚家系のパーキンソン病患者ゲノムを用いたホモ接合性マッピング

パーキンソン病症例の5-10%は家族歴をもつ。こういった方々の一部は、たったひとつの塩基の変異によって疾患を発症する遺伝性疾患、つまり、家族性パーキンソン病、であると考えられる。そこで、本研究では、家族性パーキンソン病遺伝子を発見するため、血族婚のパーキンソン病患者ゲノムをもちいたホモ接合性マッピングをおこなった。

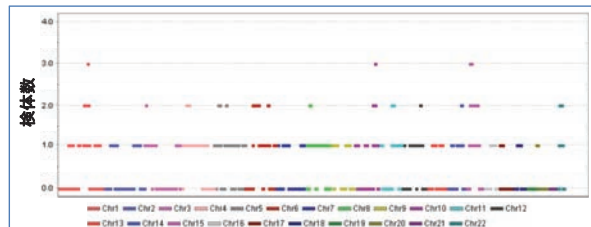
両親が近親婚（たとえば、いとこ婚）の患者では、全ゲノムの1/16がホモ接合となっており（つまり、たった1症例で、原因遺伝子の位置を全ゲノムの1/16にまで絞り込める）、この領域に、常染色体劣性遺伝性の疾患遺伝子変異が存在していると考えられ、常染色体劣性遺伝性の疾患遺伝子の同定に効果的である（図2）。そこで、本研究では、近親婚家系のパーキンソン病患者10人のゲノムに対して一塩基多型（SNP）アレイでゲノム全体をSNP型判定し、高品質で多型性の高い260,915 SNPのSNP型データを得た。そして、このデータを用いて、8メガ塩基以上連続するホモ接合の領域を抽出し、複数検体で共通してホモ接合である遺伝子座を同定した（図3）。これら領域は、常染色体劣性パーキンソン病遺伝子座の有望な候補であり、今後次世代シーケンサーをもちいた疾患変異同定へすすめていく。

図2 血族婚患者ゲノムを用いたホモ接合性マッピング



血族婚でみられる劣性遺伝病患者では、疾患遺伝子領域は共通祖先から由来しており、ホモ接合性になっている。

図3 近親婚パーキンソン病患者のホモ接合性マッピング



両親が近親婚であるパーキンソン病患者10名のゲノムに於いて、ゲノムワイドに分布する260,915個の一塩基多型を用いて、各検体で8メガ塩基以上つづくホモ接合のつながりを検出した。横軸が染色体上の物理位置、縦軸がその領域においてホモ接合のつながりが検出された検体数、ひとつの点は一塩基多型を示す。染色体1、10、15において、3検体で重複してホモ接合性を示す領域が観察された。複数検体でホモ接合性が検出された領域は、有望な常染色体劣性パーキンソン病遺伝子座の候補と考えられる。

先端ゲノミクスによる骨髄異形成症候群（MDS）の 病態解明と新規医療技術の開発

東京大学医学部附属病院がんセンター 特任助教 真田 昌



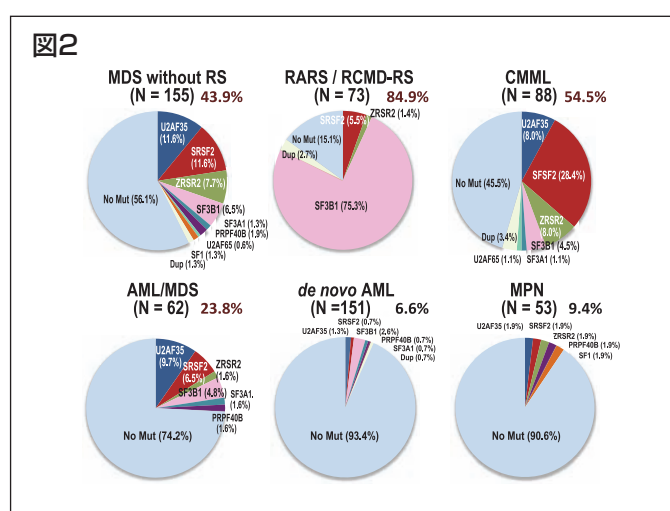
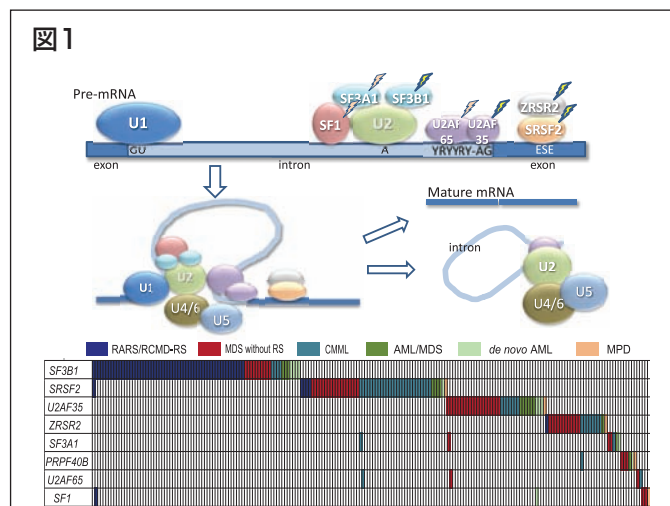
背景・目的

骨髄異形成症候群（MDS、不応性貧血）は血球減少と急性骨髄性白血病（AML）への移行を特徴とする難治性血液疾患である。高齢者を中心として近年増加傾向にあるが、骨髄移植などの造血幹細胞移植以外に根治的治療手段がなく、本症に有効かつ高齢者にも適応可能な治療手段の開発が強く望まれている。造血幹細胞に生じた後天的な遺伝子異常がMDSの原因と考えられ、一部は予後予測マーカーとして、臨床でも用いられているが、MDSの分子病態は依然として不明な点が多く残されている。一方、近年、遺伝子解析技術は革新的な進歩を遂げており、研究室レベルでヒトの全ゲノム配列を解読することが可能となり、疾患研究に応用されつつある。本研究では、先端的な遺伝子解析技術を用いた網羅的な変異解析研究によるMDSの原因分子の探索・同定を通じて、MDSの多様な分子病態を明らかにし、これらの分子を標的とした新たな分子創薬の基盤を構築することを目指した。

方法・結果

本研究への協力の同意が得られた29例のMDS（MDSから移行した白血病も含む）と診断された患者さんから骨髄穿刺液および正常対照として末梢血（Tリンパ球）または口腔粘膜を採取し、遺伝子解析研究に使用した。なお、研究の実施に際しては、事前にヒトゲノム遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を受け、試料の匿名化など個人情報の保護に努めた。試料からゲノムDNAを抽出し、アジレント社Sure Select® kitを用いて、タンパク質の構造情報が含まれる翻訳領域（エクソン、全ゲノムの約1%）を選択的に濃縮し、イルミナ社の高速シーケンサーで配列決定を行った。正常細胞も合わせて解析し、MDS細胞（骨髄）に特異的に観察される後天的遺伝子変異を見出した。

解析の結果、29例に計268個のタンパク質の構造変化を生じさせる後天的変異が認められ、うち235個は変異遺伝子の報告がない新規変異遺伝子であった。複数例に共通して観察された変異の多くは既知の変異遺伝子であったが、16例にU2AF35、SRSF2、ZRSR2、SF3B1などのRNAスプライシングに重要な遺伝子群に変異が生じていることが明らかとなった。遺伝子変異はスプライシング時にイントロンの3'側を認識するU2複合体に集中しており、多数例の解析では排他的に認められた（図1）。様々な骨髄系腫瘍における変異頻度を調べたところ、本異常はMDS症例の半数以上に観察され、他の骨髄系腫瘍においては稀であった。中でもSF3B1遺伝子の変異は、環状鉄芽球を有するMDS病型の約75%と高頻度かつ特徴的に認められた（図2）。今回の解析で同定された代表的な変異遺伝子を細胞株に遺伝子導入を行うと、変異体を導入した細胞ではRNAスプライシングに異常が生じていることが観察された。（Yoshida K., Sanada M., et al. Nature 2011）



考 察

ゲノム解析技術は近年著しい進歩を遂げ、様々な疾患研究に用いられ、未知の遺伝子異常が急速に明らかとなりつつある。本研究により、MDSにおいてRNAスプライシングに関わる一連の遺伝子群に後天的変異が高頻度に生じていることを明らかとした。これまでに、いくつかの遺伝子変異がMDS症例において生じていることが報告されてきたが、その多くはAMLなど他の骨髄系腫瘍でも観察され、また変異頻度も低かった。本異常はMDSにおいて頻度が高いのみならず、特徴的であり、本成果によりMDSの病態研究が大きく進展することが期待される。

RNAスプライシングは、我々の身体的设计図であるDNAからRNAとして情報が読まれ、タンパク質合成に至る過程において重要な機構である。癌や一部の難病で、通常では観察されないスプライシングをされたRNAが検出されることが知られているが、スプライシングを司る分子の変異が報告されたのは初めてである。今回見出された変異によりスプライシングに変化が生じることは確認されたが、RNAスプライシング分子に異常を来すことにより何故MDSになるのか、現時点では不明であり、更なる病態解析を目的に本変異を標的としたモデルマウスを作成中である。RNAスプライシング分子の阻害剤が抗腫瘍効果を呈することが報告されており、基礎研究が進められている。後天的変異によりスプライシング機能の低下した異常細胞は、本薬剤に対して感受性が高い可能性が期待され、難治性疾患であるMDSに有効な治療薬となるかもしれない。

疾患記憶をリセットする病原性メモリーT細胞をターゲットとした炎症性腸疾患根治療法の開発

東京医科歯科大学消化器内科 GCOE特任助教 根本 泰宏



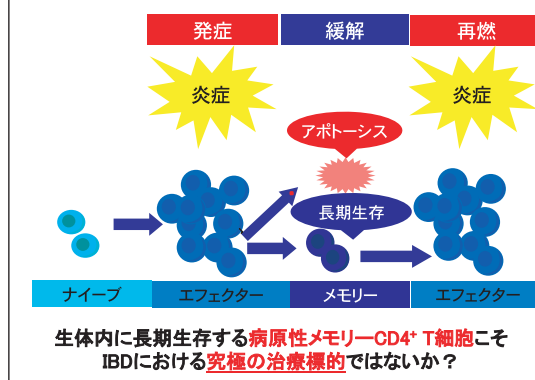
研究の背景

炎症性腸疾患は主として若年者に発症する慢性的な消化管の炎症を主体とする疾患である。未だ根治療法が存在しないため、多くの場合、難治性・再発性の経過をたどり、生涯にわたる治療の継続が必要となる。これまでの多くの研究結果から、本疾患は免疫システムにおける遺伝的脆弱性を背景に、何らかの環境因子が加わった結果、腸管免疫恒常性が破綻し、腸内細菌に対して発症した過剰な免疫反応がその本態と考えられている。

このような病態に対してこれまで、本疾患には腸内細菌の是正や抗炎症、あるいはマクロファージやエフェクターT細胞など活性化した細胞を標的とした治療が行われてきた。一方我々は全く独自の視点から本疾患の慢性化メカニズムにおけるメモリーT細胞の重要性に注目してきた。緩解期に短命なエフェクターT細胞がアポトーシスを起こし、消滅したのちもメモリーT細胞は生体内に長期にわたり残存し、再燃時には速やかにエフェクターT細胞に分化し炎症を惹起する。すなわちエフェクターT細胞を標的とした治療法によって、一時的に緩解状態に持ち込むことが可能であっ

たととしても、メモリーT細胞による疾患の“記憶”が存在する限りは再燃を繰り返すことになる（図1）。そこで我々は疾患の記憶を“リセット”する、メモリーT細胞を標的とした画期的な炎症性腸疾患根治療法の開発のために、慢性大腸炎マウスモデルを用いて、メモリーT細胞の維持機構を解析した。

図1 なぜ炎症性腸疾患に根治療法は存在しない？



研究成果

1. 腸炎モデルマウスにはメモリーCD4⁺ T細胞が多数浸潤していた。

CD4⁺CD45RB^{high} T細胞移入大腸炎モデルマウスにおいて大腸粘膜固有層にCD127⁺CD44⁺CD62L⁻であるメモリータイプのCD4⁺ T細胞が多数浸潤していた。本細胞を新たなSCIDあるいはRAG欠損マウスに再移入することにより同様の大腸炎を発症することから我々はこの細胞を病原性メモリーT細胞と定義づけた。

2. 病原性メモリーT細胞の維持にはIL-7が必須であった。

次に我々は病原性メモリーT細胞の維持因子としてサイトカインIL-7に注目した。大腸炎モデルマウスの病原性メモリーT細胞をRAG欠損マウスに移入すると再び慢性大腸炎を発症持続するのに対して、IL-7、RAG1欠損マウスへの移入では腸炎の発症認めなかったことから病原性メモリーT細胞の維持にはIL-7が必須であることが分かった。

3. 病原性メモリーT細胞の維持において腸管局所のIL-7の存在は必須ではない

一方で、ヒト潰瘍性大腸炎をはじめとする慢性大腸炎では、IL-7の主たる産生細胞である杯細胞

の減少に伴い腸管局所でのIL-7発現が低下することが知られている。そこで我々は炎症性腸疾患慢性期には腸管局所のIL-7は必須ではなく、IL-7を恒常的に産生する腸管外のリザーバー臓器において維持されると仮定した。IL-7,RAG1欠損マウスと腸炎マウスとを並体結合したところ、4週後にIL-7, RAG1欠損マウスにも大腸炎が発症し、炎症性腸疾患慢性期には腸管局所のIL-7の存在が必須ではないことが証明された。

4. 病原性メモリーT細胞は腸管粘膜から全身血流に再循環した

そこで我々は腸炎の慢性期には病原性メモリーT細胞はIL-7が減少した腸管粘膜から全身血流に再循環し、IL-7が豊富なりザーバー臓器に移入して維持されると仮定した。一方これまで消化管粘膜内CD4⁺ T細胞は腸管粘膜から再循環することなく、局所においてアポトーシスに至ると考えられてきた。そこで我々は腸管局所へのCD4⁺ T細胞投与法を開発し、CD4⁺ T細胞が腸管から全身循環を経て、骨髄に至る再循環経路が存在するかを検討した。

我々が新たに開発した大腸粘膜への局所投与法である細胞注腸投与法を用いて、大腸炎マウス病原性由来メモリーCD4⁺ T細胞をSCIDマウスに投与したところ、10週間後に各臓器においてCD4⁺ T細胞増殖を伴う腸炎の発症が確認された。GFPマウス由来CD4⁺ T細胞をRAG2^{-/-}マウスに注腸あるいは静注によって移入し、各臓器における6、24時間、7日後のGFP⁺CD4⁺細胞数を検討したところ、静注群では脾臓、腸間膜リンパ節→腸管と細胞の移動が見られたのに対して、注腸群では腸管→腸間膜リンパ節→脾臓の順にホーミングが見られた。以上の結果から病原性メモリーT細胞は腸管粘膜から全身血流に再循環することが証明された。

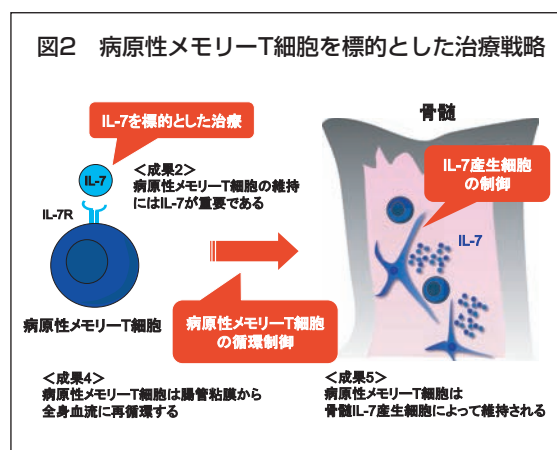
5. 病原性メモリーT細胞は骨髄IL-7によって維持された

次に我々は全身血流に再循環した病原性T細胞が脾臓や所属リンパ節などの二次リンパ装置によって維持されると仮定した。そこで全てのリンパ節を欠損するLT α , RAG2欠損マウスの脾臓を摘出し、腸炎マウス由来病原性メモリーT細胞を投与したところRAG2欠損マウスと同等の腸炎および細胞の増殖を認め、リンパ節、脾臓は病原性メモリーT細胞の維持に必須ではないことが証明された。

最後に我々はIL-7の主たる産生部位である骨髄に着目し、骨髄が腸炎における病原性メモリーT細胞を維持するリザーバー臓器であると仮定した。CD4⁺CD45RB^{high} T細胞移入大腸炎マウスにおいて骨髄中CD4⁺ T細胞はIL-7産生細胞に隣接して維持されていた。同細胞はCD44^{high} CD62L⁻IL-7R α ^{high}のエフェクターメモリータイプであり、一部腸管へのhoming receptorであるインテグリン $\alpha 4\beta 7$ を発現した。腸炎マウスの骨髄CD4⁺ T細胞を新たなSCIDマウスに再移入することにより慢性大腸炎を再び発症した。骨髄移植を用いて骨髄特異的にIL-7を発現させたIL-7, RAG1欠損マウスにCD4⁺CD45RB^{high} T細胞を移入したところ大腸炎の発症が誘導され、骨髄IL-7産生細胞は慢性大腸炎の発症において十分因子であることが分かった。

結 語

炎症性腸疾患慢性難治性の重要な要因として、病原性メモリーT細胞のIL-7産生性骨髄リザーバーへの再循環経路の存在が示唆された。炎症性腸疾患の治療戦略として本機構を標的とした治療法の有効性が示唆された(図2)。



自己免疫性難聴モデル遺伝子改変動物の樹立と 新規難聴治療法探索への応用研究



慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室 助教 藤岡 正人

WHOの調査によると、難聴は中等度以上の方だけでも世界で1億2千万人を越える三大疾病のひとつで、近視・乱視や、白内障、うつ病などよりも頻度の高い障害です（Global Burden of Disease 2004）。難聴の原因は多岐に渡りますが、中でもきこえのセンサーがある内耳が障害されておこる感音難聴は特にさまざまで、老化による加齢性難聴、過大音による音響外傷性難聴、耳毒性薬剤の副作用でおきる薬剤性難聴などがあります。働きざかり世代を中心に本邦でも毎年35,000人もが突然襲われる突発性難聴もそのひとつです。難聴は単に「きこえづらくて不便」というだけにとどまらず、同僚や家族とのコミュニケーション障害から、失職したり、うつになったりと、患者さんと周囲の人々に多くの問題を引き起こします。

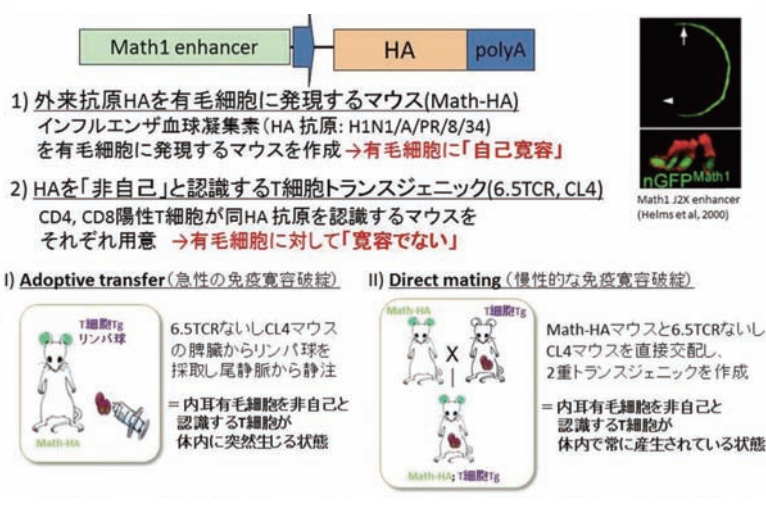
このように難聴はとても身近で深刻な病気ですが、原因が明らかな一部の例を除くと、感音難聴を中心にほとんどの場合はなぜ難聴になったかわからず治療も手探りの難病（難治性疾患）です。一番の問題に、がんなどの他の臓器の病気と違い、感音難聴では直接に病気の細胞や組織を取ってこないことができないことがあがります（内耳は頭蓋骨の奥深くでリンパ液に包まれた臓器で、採取しようとすると逆にひどい難聴を引き起こしてしまいます）。ですので、難聴の本性を調べるためにはどうしても実験動物を用意して難聴を作り（実験動物モデル）、原因を調べたり治療方法を考えたりする必要があります。

今回我々は、原因のひとつとして昔から推定されてきた「自己免疫」による感音難聴が実際に起きることを動物モデルで証明しました。このシステムは新しい治療法の探索に役立つ遺伝子改変動物モデルとして、将来広く応用できるものと期待されます。

【研究方法】

わたしたちの身体の中では「自己」と「非自己」の構造を見分ける細胞（T細胞に代表される免疫担当細胞）がつねに巡回していて、身体に害があると思われる「非自己」を見つけると攻撃する機構を持っています（免疫系）。このシステムによって我々は感染症やがんなどから身を守っているのですが、何かの拍子にこの「自己」の峻別機構が破綻してしまうと、免疫系が「自己」を「非自己」とみなして攻撃を始めてしまい

実験デザイン：自己免疫の発動＝免疫寛容の破綻のモデル



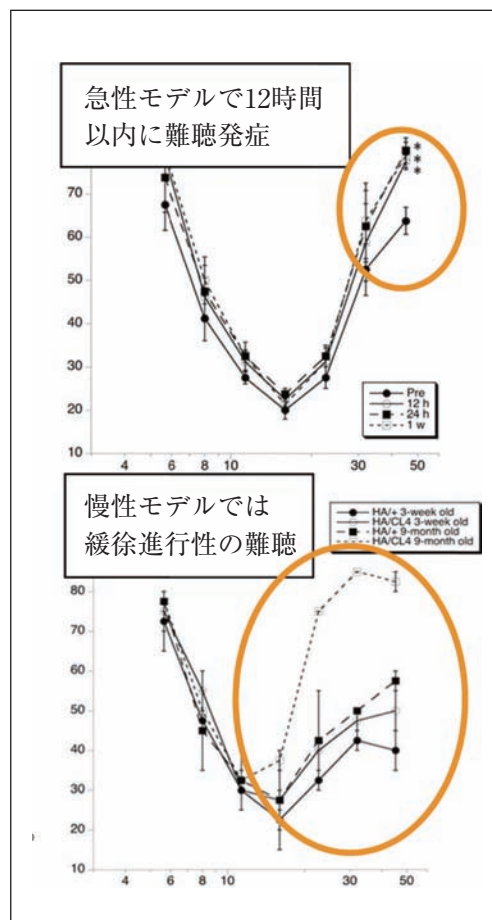
ます。この現象を自己免疫といい、その結果生じる病気が『自己免疫疾患』と呼ばれるものです。

ある臓器における自己免疫を*in vivo*で再現する手法に、インフルエンザ血球凝集素（HA）強制発現系があります。見たい臓器にHA分子を「自己」の一部として先天的に発現させておき、後でHA分子を「非自己」と認識する遺伝子改変T細胞を強制的に身体の中に入れてやることで「自己」を「非自己」と見做す状態＝「自己免疫」を誘導させるシステムです。我々はハーバード大学との共同研究で、この分子を内耳感覚上皮特異的に発現する遺伝子改変マウス(Math-HA)を作成し、ノースウェスタン大学に研究協力を仰いで体内のT細胞がHAを非自己と認識する遺伝子改変マウスを用意しました。これらのマウスを用い、以下の結果を得ました。

【研究成果】

- 1) T細胞遺伝子改変マウスよりリンパ球を採取し尾静脈からMath-HAマウスへ投与することで、突然に内耳有毛細胞を「非自己」と認識するT細胞が出現するモデル＝急性の自己免疫性内耳傷害モデルを作成しました。このマウスの聴力を調べたところ、わずか12時間以内に聴力が落ちはじめ、自己免疫の発動で難聴が誘導されることが証明されました。また興味深いことに難聴になった個体においても有毛細胞数には変化はなく、急性自己免疫性難聴の初期においては残存有毛細胞を保護することが新規治療戦略となる可能性が示唆されました。
- 2) 2種のマウスを直接交配して二重遺伝子改変動物を作成し、内耳有毛細胞を「非自己」と認識するT細胞が生涯常に産生され続けるモデル＝慢性の自己免疫性内耳傷害モデルを作成しました。このマウスの聴力を長期にわたって調べたところ、若いうちは異常がありませんでしたが、歳が進むにつれ徐々に難聴になっていきました。

この病状は両側特発性難聴などの臨床像に酷似しており、原因不明の進行性感音難聴の一部が自己免疫疾患である可能性が示唆されました。



従来より、感音難聴の中の一部は自己免疫で生じていることを示唆するさまざまな状況証拠が報告されてきました。今回の研究はそのことを前向き（prospective）に証明したはじめての報告になります。我々はこの成果により、さまざまな原因がヘテロに混ざっている感音難聴の一部についてを調べる『ツール』が得られたものと考えています。今後は他の免疫担当細胞による自己免疫で難聴が生じるかを検討するとともに、得られた自己免疫性難聴モデルの詳細な解析を通して難聴の病態生理（機序）を調べることで、原因がはっきりしない感音難聴の患者さんから自己免疫が原因であるケースを判別する方法＝診断法の確立と、その新規治療法を探索していきたいと考えています。

本研究は、平成22年度医学研究奨励助成金のサポートで行うことができました。貴重な援助をいただきました公益財団法人 難病医学研究財団の関係者の皆様、ご寄付をいただいた方々に深く感謝を申し上げます。

自己免疫疾患発症における活性化制御性T細胞（T-reg） 特異的細胞表面蛋白GARPの関与とその作用機構の解明

大阪大学 微生物病研究所 感染症学免疫学融合プログラム推進室 助教
藤田 敏次



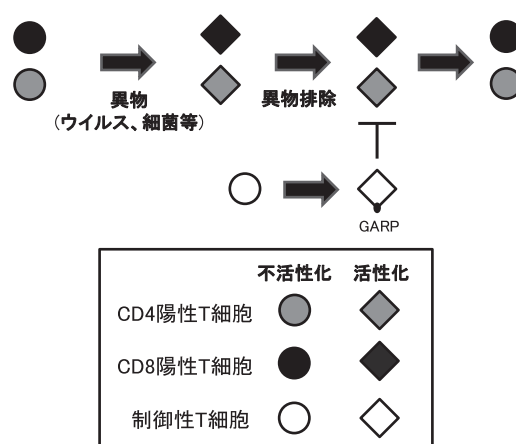
関節リウマチに代表される自己免疫疾患は未だ原因が不明なものが多く、厚生労働省の難治性疾患として指定されているものも少なくない。免疫システムは、通常、免疫細胞が体外からの病原菌やウイルス等の異物を認識・排除するシステムであるが、自己免疫疾患は、免疫細胞が自身の細胞・組織を異物として認識することが原因と考えられている。免疫システムにおいて重要な働きをしているのがT細胞であり、CD4陽性 T 細胞はサイトカインを分泌することで、他のT細胞の機能発現やB細胞の抗体生産を誘導し、CD8陽性T細胞はウイルスに感染した細胞や癌細胞を攻撃する。一方、これらT細胞の過剰な活性化は、自己細胞への過剰反応

に繋がり、その結果、自己免疫疾患が引き起こされると考えられる。近年の研究により、T細胞の1つである制御性T細胞（T-reg）がCD4陽性T細胞やCD8陽性T細胞といったT細胞の活性化を抑制することで、免疫システムの恒常性を維持することが報告されている（図1）。実際、T-reg分化・機能の異常によって自己免疫疾患や感染症に対する脆弱性が引き起こされる。また、近年では、T-regを移入することで、自己免疫疾患の治療を行う試みも検討されている。一方、T-regによる免疫抑制機構の詳細は完全に解明されているとはいいがたく、免疫システムの恒常性維持機構の解明および自己免疫疾患治療でのT-regの利用には、T-regによる免疫抑制機構を完全に解明する必要がある。

T-regは、CD4陽性 CD25陽性のリンパ球として同定された細胞集団であり、T-reg特異的転写因子Foxp3が必須である。実際、マウスのナイーブCD4陽性T細胞に抗原刺激とTGF- β を加えると、Foxp3の発現が誘導され、機能的なT-regが分化することが知られている。しかし、興味深いことに、ヒトの場合には、ナイーブ CD4陽性T細胞に抗原刺激とTGF- β を加えると、Foxp3の発現は誘導されるものの、免疫抑制能を持たないことが示されている。従って、少なくともヒトの場合には、Foxp3の発現と機能的なT-regの存在とが相関しないと考えられ、機能的T-regのより良いマーカーが求められてきた。

我々の研究グループは、これまでに、活性化T-reg特異的に細胞表面に発現する蛋白質としてGARPを同定した。試験管内で、GARPをナイーブCD4陽性T細胞に発現させると、T細胞受容体刺激による増殖やサイトカインの分泌が抑制された。また、T-regでGARPの発現を減少させると、T-regの抑制

図1 制御性T細胞による免疫システムの維持



制御性T細胞が正常に活性化・機能することで、エフェクターT細胞の過剰な活性化を制御している。

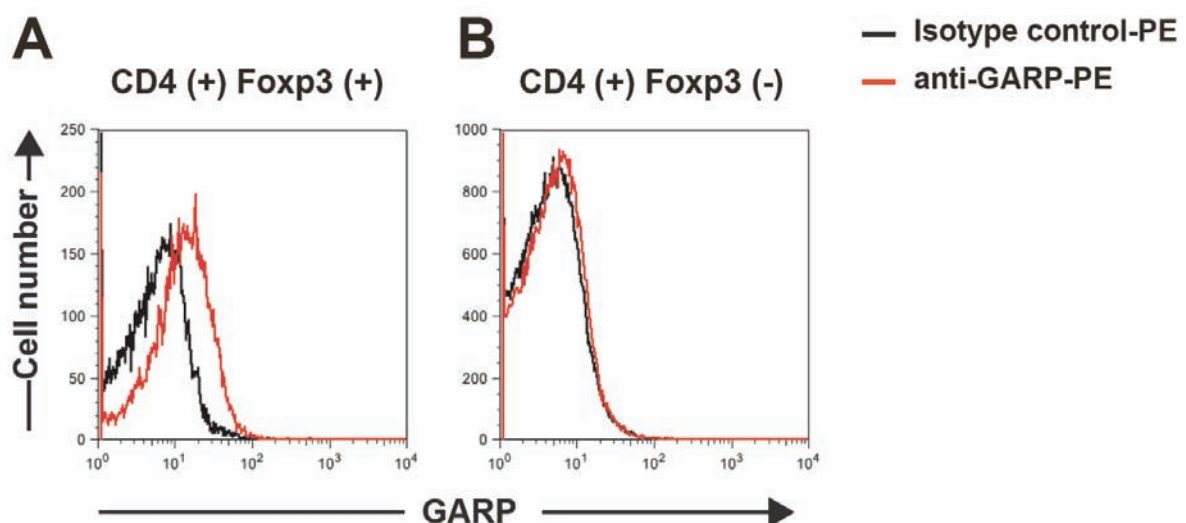
能が減弱した。これらの結果から、GARPがT-regの機能発現に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。また、GARPの発現と、T-regの抑制能とは良く相関しており、GARPが他のT細胞サブセットで発現していないことから、GARPが機能的活性化T-regの特異的のマーカーであることを示してきた。これらの結果は、ヒト細胞を用いた試験管内での実験結果であるが、生体内での免疫反応や自己免疫疾患における機能的活性化 T-reg の動態を解明するために重要な知見である。

次に、生体内における活性化T-regによる免疫抑制機構を解明するため、T細胞特異的にGARPを強制発現させたトランスジェニックマウスと、CD4陽性T細胞特異的にGARP遺伝子を欠損させた遺伝子組み換えマウスを作製し、生体内でGARPがT-regの発生を介してどのように免疫システムの維持に関与するか解析した。まず、マウスの脾臓からT-reg集団を単離し、抗GARP抗体の反応性について調べた。その結果、マウスにおいても、活性化T-regにおいてGARPが発現していることを確認した（図2）。次に、T細胞特異的にGARPを強制発現させたトランスジェニックマウスを解析したところ、T-regの細胞数の上昇がみられた一方で、CD4陽性T細胞およびCD8陽性T細胞等のエフェクターT細胞の数が減少していた。興味深いことに、野生型に比べて、エフェクターT細胞の存在比率にも変化がみられた。これら結果から、生体内において、GARPの発現がT-regの分化を誘導し、その結果、エフェクターT細胞の分化が制御されることが示唆された。現在、CD4陽性T細胞特異的にGARP遺伝子を欠損させた組み換えマウスを解析中である。

今後、厚生労働省の難治性疾患として指定されている自己免疫疾患のモデルである、コラーゲン誘導関節炎マウス（悪性リウマチ）、実験的自己免疫脳脊髄炎マウス（多発性硬化症）および薬剤誘導腸炎マウス（炎症性腸疾患）を利用することで、GARPが自己免疫疾患発症にどのように関与するか解析を進めていきたい。本研究を続けることで、将来、GARPを標的としたT-regの機能制御を行うことで、自己免疫疾患の効果的な治療法の確立につなげていきたい。

最後になりましたが、本研究を遂行するにあたり多大なご支援を賜りました、（公財）難病医学研究財団関係者の方々に深く感謝いたします。

図2 活性化制御性T細胞でのGARPの発現



患者由来人工多能性幹細胞を用いた Fabry病の臓器特異的障害機序の解明

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科心筋症病態制御講座 特任助教
吉満 誠



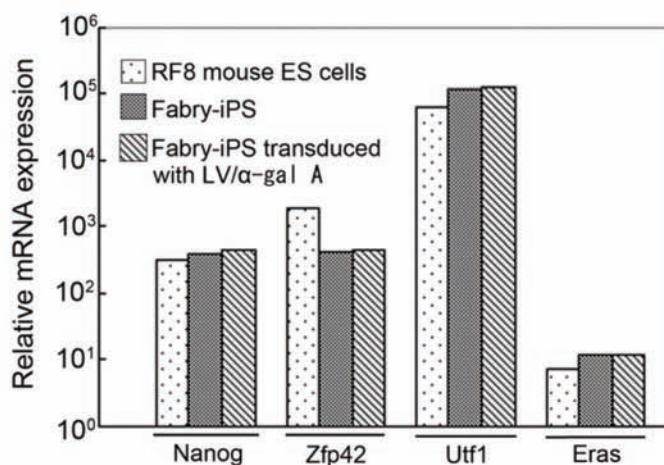
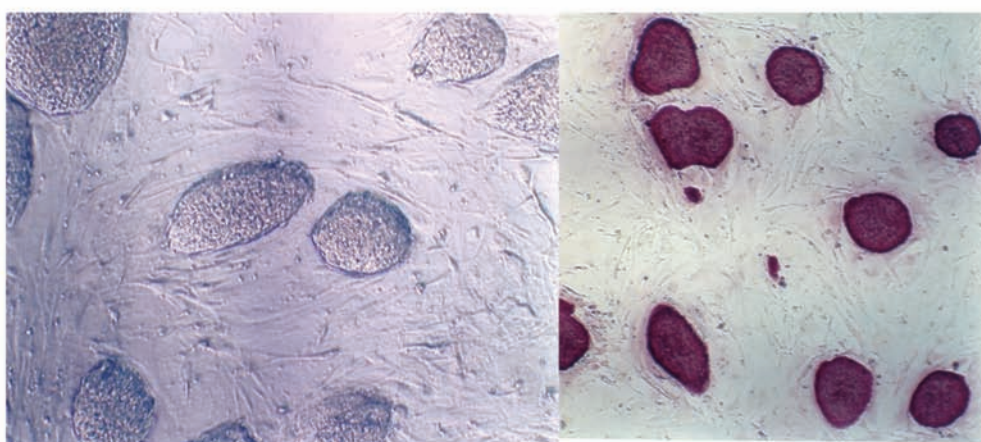
【研究の目的・意義】

本研究はFabry患者由来iPS細胞を用い、心筋細胞、神経細胞を含めた様々な組織細胞への分化誘導を試みることで、これまで技術的・倫理的に困難であった組織細胞別 α -gal A遺伝子の発現、酵素活性、基質の蓄積を詳細に検討し、その臓器特異的障害の病態解明を目指すものである。

【研究経成果】

<FabryマウスでのiPS細胞樹立・遺伝子治療法の検討>

Fabry病マウスモデルより樹立した線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いてリプログラム因子であるOct3/4, Sox2, Klf4を導入し、iPS細胞を樹立した（図a）。その細胞におけるES細胞特異的遺伝子の発現（図c）や免疫不全マウスを用いた奇形腫の形成も確認した。さらに心筋細胞や造血細胞への分化誘導にも成功し、Fabry病マウスモデルを用いた安全な遺伝子治療法の開発を目指している。



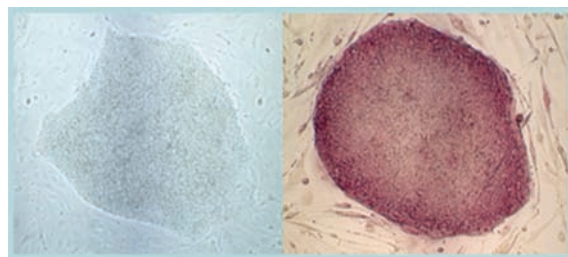
a. Fabryマウス由来iPS

b. アルカリフォスファターゼ染色

c. FabryマウスiPS細胞での幹細胞特異的遺伝子（Nanog, zfp42, utf1, eras）発現の確認

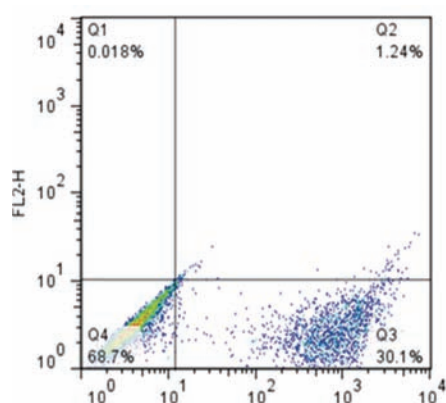
<Fabry病iPS細胞樹立>

まず正常ヒト皮膚線維芽細胞よりiPS細胞を樹立することを試みた。右図のようにヒトES細胞様で、アルカリフォスファターゼ染色陽性となる細胞を樹立することができた。



当講座では、比較的稀な疾患とされる心Fabryを含むFabry病患者の酵素補充療法を含めた診療を日常的に行っている。課題名“ファブリー病及び心ファブリー患者由来細胞からのiPS細胞の樹立、iPS細胞を用いたファブリー病の病態解明・細胞／遺伝子治療法の確立”で鹿児島大学臨床倫理審査申請を行い、承認を得た。また遺伝子組み換え技術を用いるため第二種使用等拡散防止措置機関承認を得た。上記倫理委員会承認後、これまで高齢者心Fabry病患者1名より同意を得た後、皮膚生検を行い、皮膚線維芽細胞を樹立できた。

Fabry iPS細胞の樹立にあたり、ヒトOct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4 cDNAをレトロウイルスベクターを用いて導入した。遺伝子導入効率確認のために用いたGFP発現を確認した。



左に示すようにGFP発現効率は30%程度と、正常ヒト皮膚線維芽細胞での発現効率（～80%）と比較し著しく低下していた。心Fabry病発症患者は高齢であることが多く、皮膚線維芽細胞増殖能も低下していることが多い。本症例でも増殖能の低下が遺伝子導入効率の低下を招いていると考えられる。

本細胞を用いて心Fabry iPS細胞の樹立を試みたが、樹立できなかった。

近年iPSの樹立にあたり、樹立効率を改善するさまざまな試薬が試みられている。PD0325901, CHIR99021, Thiazovivin, SB431542を組み合わせる試みしたが樹立できなかった。さらにはレンチウイルスベクターを用いてp53の発現をノックダウンすることで樹立効率の改善を試みたが、樹立することができなかった。

【本研究の意義／今後の展望】

本研究はFabry病及び心Fabry病疾患特異的iPS細胞樹立を目指した初めての試みであった。本研究はFabry病における臓器特異的障害の発症機序の解明を目指した研究であった。心臓のみに障害を起こす心Fabry病患者由来iPS細胞を用い、心筋への分化誘導を促すことで、典型的Fabry病との違いについて検討予定であった。正常皮膚線維芽細胞からはiPS細胞を樹立することができたが、心Fabry病患者由来線維芽細胞からの樹立は、さまざまな条件で検討したが、できていない。Fanconi貧血のような先天性疾病疾患ではiPS細胞樹立が極めて困難なことが知られているが、Fabry病では明らかでない。今後引き続き他の心Fabry病、ないしは典型的Fabry病患者由来の線維芽細胞からのiPS細胞樹立を試みる。さらにはiPS細胞樹立に必要な因子の検討も併せて行っていきたい。

3

平成24年度医学研究奨励助成事業の応募状況について

- (1) 一般枠 35件
- (2) 臨床分野特別枠 20件
- (3) 採択予定件数 一般枠と臨床分野特別枠合わせて10件
- (4) 受賞者選考結果は平成24年11月上旬申請者等に通知する。
- (5) 贈呈式 平成25年1月17日(木)

4

平成24年度国際シンポジウム事業計画概要

■ 会 議 名：橋本病百周年記念国際シンポジウム

「自己免疫疾患の病因解明と治療法開発への挑戦」

■ シンポジウム開催の趣旨：

1912年、橋本策博士はそれまで知られていなかった著しいリンパ球浸潤を伴う甲状腺炎を発表し、のちに橋本病と呼ばれ、日本人の名が記された数少ない疾患の一つである。近代免疫学においても、自己免疫疾患の多くは発症機序の解明に至らず難治性であり、QOLも著しく損なわれるなど、多くの課題が未解決のまま残されている。橋本病百周年を記念し、発見の地である福岡にて、最先端の知識と識見を交換し、自己免疫疾患克服へ向けた新しいパラダイムを探る。

■ 主 催：公益財団法人難病医学研究財団ほか

■ 後 援：厚生労働省ほか



橋本病百周年記念国際シンポジウム
九州大学生体防御研究所80周年記念国際シンポジウム
第22回九州大学生体防御医学研究所 ホットスプリング・ハーバリーシンポジウム
九州大学ポストグローバルCOE国際シンポジウム

自己免疫疾患の病因解明と 治療法開発への挑戦

Autoimmune Diseases-Etiology and Therapeutics

Date: Dec.2nd Sun - 4th Tue, 2012
Venue: ACROS Fukuoka, Japan

Admission Free,
No Registration
Required

Speakers:

Shizuo Akira (Japan)	James McCluskey (Australia)	Kai W. Wucherpfennig (USA)
Stephan Beck (UK)	Yasuo Morishima (Japan)	Kazuhiko Yamamoto (Japan)
Walter Bodmer (UK)	Gerald T. Nepom (USA)	Sho Yamasaki (Japan)
Mark M. Davis (USA)	Yasuharu Nishimura (Japan)	Yasunobu Yoshikai (Japan)
Yoshinori Fukui (Japan)	Colm S. O' Huigin (USA)	
Günter J. Hämmerling (Germany)	Shimon Sakaguchi (Japan)	
Hidetoshi Inoko (Japan)	Takehiko Sasazuki (Japan)	
Hajime Karasuyama (Japan)	Yoko Satta (Japan)	
Tadamitsu Kishimoto (Japan)	Mikako Shirouzu (Japan)	
Hiroshi Kiyono (Japan)	Yousuke Takahama (Japan)	
Philippe Kourilsky (France)	Toshiyuki Takai (Japan)	
Xiaoxia Li (USA)	Keiji Tanaka (Japan)	
Tak W Mak (Canada)	Masaru Taniguchi (Japan)	
Diane J. Mathis (USA)	Katsushi Tokunaga (Japan)	
Mitsuru Matsumoto (Japan)	Yaron Tomer (USA)	

主催 公益財団法人 難病医学研究財団
文部科学省新学術領域研究「HLA多様性と疾病」総務班
九州大学生体防御医学研究所全国共同利用・共同研究拠点
九州大学ポストグローバルCOE支援プログラム

後援 九州大学医学部附属病院 / 財団法人 福岡健康コンベンションビューロー / 日本基金
厚生労働省 / 九州大学医学部附属病院

協賛 橋本病百周年記念国際シンポジウム「自己免疫疾患の病因解明と治療法開発への挑戦」実行委員会
TEL:092-642-6962 FAX:092-642-6973 E-mail:omajiki@bioreg.kyushu-u.ac.jp

<http://www.cengre.co.jp/hashimoto100>

公益財団法人 難病医学研究財団

評議員 青木 清

(上智大学生命倫理研究所 所長)

私が難病医学研究財団の前身の医学研究振興財団と関係を持つことが出来たのは、故渡辺格（慶応大学医学部教授）先生と故武見太郎（日本医師会会長）先生との出会いがあつてのことである。今から約35年前のことである。当時は日本の世の中で生命倫理の用語がまだ知られてなかった。難病の研究の標的は遺伝子DNAにかかわる遺伝的疾患であった。その時に研究者、医師、患者、家族など生命倫理の理解なく始まらなと渡辺先生と私の間の議論で出てきた課題である。武見先生もこれには賛同して医学研究振興財団での1月にあるシンポジウムに来て話しなさいと誘ってくださったのがこの財団とのかかわりであった。

1970年の後半になると生命科学の急速な進展に伴って医学のあり方がかわってきた。医学医療の目標はこれまであまり手の付けられていなかった難病、その中でも遺伝病の治療に向けられたのである。ちょうどこのころ日本は技術革新によってエレクトロニクスや新素材が登場して生活もよくなり国際的にも技術面で高い位置にあった。医療の現場においてもCT（コンピューター断層装置）やMRI（磁気共鳴装置）といった高度の診断技術が現れるようになり、また遺伝子では大型コンピューターによる解析技術が出現したのである。従来試みられていたさまざまな治療法の改良に加えて組み換えDNA技術を用いた「遺伝子治療」が登場してきて、それに関する研究が活発に進められていた。

1985年に他に治療法のない重い遺伝病には遺伝子治療の臨床応用を認める方向で、ガイドラインがアメリカのNIHで患者一代限りの生殖細胞には影響を与えないという条件を付けたうえで策定されたのであった。日本でも1996年に当時の厚生省と文部省で遺伝子治療臨床研究に関する倫理指針が作成されたのであった。遺伝子の研究には指針があるが遺伝子診断には公的なルールはなかった。そこでの生命倫理の問題は、1）治療の可能性のない疾患についての遺伝子診断、2）遺伝情報の保護、遺伝情報は本人にとどまらず、家族、家計に影響をもたらす、ことなどである。これらはインフォームド・コンセントについての課題である。当時でも問題があつたが、今日のようにヒトゲノム研究やゲノム解析の急速な発展は、2012年6月21日号のNatureに掲載された「曲がり角に立つインフォームド・コンセントのあり方」という記事にあつたように、インフォームド・コンセントのあり方にまで及んでいる。生命倫理も医療の進歩についていけなくなる恐れがあるのを知ると35年前を懐かしく思い出すのである。難病の研究と治療にあたっては医療としての生命倫理は不可欠なことである。

⇒ 厚生労働省の難病対策に関する動向 ⇐

註) 詳細については、厚生労働省ホームページを参照してください。

(1) 制度関係

＜障害者総合支援法＞

平成24年3月に閣法として閣議決定され、国会において一部修正のうえ可決、成立し同年6月27日に公布された。本法は、障害者自立支援法の改正として平成25年4月1日から、障害者の日常生活及び社会生活を総合的に支援するための法律（障害者総合支援法）となる。新たな基本理念として、法に基づく日常生活・社会生活の支援が、共生社会を実現するため、社会参加の機会の確保及び地域社会における共生、社会的障壁の除去に資するよう、総合的かつ計画的に行われることを掲げている。障害者の定義にいわゆる難病等が追加され、平成26年4月1日からは、重度訪問介護の対象者の拡大、ケアホームのグループホームへの一元化などが実施される。

(2) 難病対策

①以下の通り、厚生科学審議会疾病対策部会難病対策委員会が開催された。

- 第21回厚生科学審議会疾病対策部会難病対策委員会（平成24年7月3日）
- 第22回厚生科学審議会疾病対策部会難病対策委員会（平成24年7月17日）
- 第23回厚生科学審議会疾病対策部会難病対策委員会（平成24年8月16日）

②第23回難病対策委員会では、「難病対策の必要性と理念」「『難病』の定義、範囲の在り方」「医療費助成の在り方」「福祉サービスの在り方」などの議論を踏まえた「今後の難病対策の在り方（中間報告）」がまとめられた。

③難病患者の意見を施策に反映する目的で、「難病対策に関する意見交換会」が開催された。
（平成24年8月18日）

④平成24年8月22日 厚生科学審議会疾病対策部会（平成24年度第1回）が開催され、上記の「今後の難病対策の在り方」（中間報告）が了承された。

⇒ 厚生労働省難治性疾患克服研究事業（研究班）の動向 ⇐

○ミトコンドリア病ハンドブックの発行

平成24年5月、「ミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究班」の活動の一環として、ミトコンドリア病ハンドブック（医師が患者に病気について説明するための資料として）が発行された。詳細は、当財団難病情報センターホームページ

(http://www.nanbyou.or.jp/upload_files/mt_handbook.pdf) 参照。



疾患ミニ解説「黄色靱帯骨化症」について

註）難病情報センターホームページへのアクセスが多かった疾患の一つを取り上げました。

1. 疾患の概要

脊柱管の後方にある椎弓の間を結ぶ靱帯、すなわち黄色靱帯が骨化増大し、脊髄が背側から圧迫され感覚障害や運動障害などの神経症状をきたす疾患である。平成23年3月31日現在の特定疾患医療受給者証交付件数は993件であるが、日本人における無症状を含めたX線上の有病率は約4～5%、CTを用いた有病率は19%である。患者数の性差はなく、年齢的には20歳以降に認めているが、40歳以上が一般的である。

2. 原因

後縦靱帯骨化症と合併しやすく、脊柱靱帯骨化症の一部分症と捉えられているが、疾患関連遺伝子を含めて真の病因は不明である。

3. 症状

胸腰移行部（下位胸椎）に好発するため、脊髄または神経根圧迫による下肢のしびれ、脱力やこわばり、腰背部痛や下肢痛が出現してくるが、痛みがない場合もある。進行すると深部腱反射異常、歩行障害、膀胱直腸障害がみられ、重症になると日常生活に障害を来す状態になる。

全身の他部位にも骨化が認められることがあり、脊椎椎体の後縁を連結する後縦靱帯が骨化する後縦靱帯骨化症や、びまん性特発性骨格骨化症を合併しやすい。

4. 治療法

安静臥床や消炎鎮痛剤の内服を行う。痛みが強い場合は硬膜外ブロックを行うこともあり、種々の治療を組み合わせ経過をみる。進行性に神経症状が増悪した場合、骨化巣を切除して神経の圧迫を取るなど手術療法が選択され、大半の患者に効果がある。

経過としては、全く症状を来さない人もいれば、徐々に下肢症状が悪化する人もいる。症状がなくても脊柱靱帯骨化症の一部分の病気と考えられますので頸椎、胸椎、腰椎のレントゲン検査を行うことが望ましい。

当財団は、主に難治性疾患等に関する調査研究及び研究奨励助成並びに関係情報の提供などを行っている公益財団法人であり、事業運営は、主に賛助会員による会費、一般の方々及び法人からのご寄付並びに国庫補助金及び資産運用益によって賄われております。

円滑な事業運営により、難病で御苦勞をされておられる患者さん及びご家族のご期待にお応えするべく極力努力しております。

つきましては、皆様方のご理解とご支援、ご協力をお願い申し上げます。

■ご寄付について

ご寄付はすべて公益事業に使用いたします。

金額は問いませんので、当財団へご連絡をお願いいたします。

また、規程に基づき厚生労働大臣又は当財団理事長からの感謝状の贈呈があります。

■寄付等に関する所得税、法人税、相続税の取り扱いについて

当財団は、公益財団法人となっており、寄付金及び賛助会費については、所得税、法人税、相続税の優遇措置が受けられます。なお、個人の所得税に関しては「所得控除」または「税額控除」を選択適用することが出来ます。

※詳しくは、納税地の税務署にお尋ね下さい。

■手続きについて

		寄付等の種類	申込手続き	お振込先
賛助会員 (年間)	法人 (団体)	1口 10万円 (1口以上何口でも結構です)	入会申込書 (ご送付いたします) ※当財団ホームページ からも申込書を ダウンロードできます	【三井住友銀行】 麹町支店 普通預金 No. 0141426 【みずほ銀行】 神田支店 普通預金 No. 1286266 【三菱東京 UFJ 銀行】 神田駅前支店 普通預金 No. 1125491 【郵便振替口座】 00140-1-261434 ≪口座名義人≫ コウセイケンリョク 公益財団法人 ナルビョウケンリョクケンキョウケン 難病医学研究財団
	個人	1口 1万円 (1口以上何口でも結構です)		
寄付 (随時)		金額は問いません	寄付申込書 (ご送付いたします) ※当財団ホームページ からも申込書を ダウンロードできます	

◎ご不明の点は、財団事務局までお問い合わせ下さい。

発行所 公益財団法人 難病医学研究財団

〒101-0052 東京都千代田区神田小川町1-6-3

B.D.A 神田小川町ビル

電話 03-3257-9021

<http://www.nanbyou.jp>

【難病情報センター】

<http://www.nanbyou.or.jp>