

No. 41
2014.10

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

1. 難病の患者に対する医療等に関する法律の制定等について
厚生労働省健康局疾病対策課 2
2. 研究雑感「血液難病の治療の進歩—再生不良性貧血」 5
評 議 員 溝 口 秀 昭
3. 平成 24 年度医学研究奨励助成金受賞者の研究報告概要 6
4. 平成 26 年度医学研究奨励事業の応募状況について28
5. 平成 26 年度厚生労働科学研究（難治性疾患克服研究（難治性疾患等実用化研究））推進事業における研究発表会、シンポジウムの開催について28





難病の患者に対する医療等に関する法律の制定等について

厚生労働省健康局疾病対策課

難病対策の見直し

我が国の難病対策は、昭和47年10月に策定された難病対策要綱に基づき本格的に推進されるようになって40年以上が経過しました。その間、各種の事業を推進してきた結果、難病の実態把握や治療方法の開発、難病医療の水準の向上、患者の療養環境の改善及び難病に関する社会的認識の促進に一定の成果をあげてきました。

しかしながら、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い、現在の制度に対して、様々な課題が指摘されるようになりました。特に、都道府県における超過負担の問題は、制度自体の安定性をゆるがすものとされ、難病対策全般にわたる改革が強く求められるところとなりました。

このため、平成23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において、難病対策の改革について患者代表を含む有識者の間で活発な議論が行われ、平成25年12月には、「難病対策の改革に向けた取組について（報告書）」がとりまとめられました。

報告書等の内容に沿って、厚生労働省ではさらなる検討を進め、平成26年2月、第186回国会に、「難病の患者に対する医療等に関する法律」案を提出し、5月23日に成立、30日に公布されました（図1）。

今後の難病対策

法律に基づく措置として、難病の患者に対する医療費助成に関して、法定化によりその費用に消費税の収入を充てることができるようになりました。法律においては、難病の定義を「発病の機構が明らかでなく、治療方法が確立していない、希少な疾患であって、長期の療養を必要とするもの」としています。がん、生活習慣病等、別個の施策体系がない疾患が対象となります。基本理念にあるように、難病の克服を目指し、難病の患者の社会参加の機会が確保され、難病患者が地域社会において尊厳を保持しつつ他の人々と共生することができるように、総合的な取り組みを推進します。具体的には、難病に係る新たな公平かつ安定的な医療費助成の制度を確立するほか、難病に関する調査及び研究の推進、療養生活環境整備事業の実施を進めていきます。

医療費助成の対象疾病の拡大

難病の患者に対する医療費助成の見直しに伴い、新たに助成の対象となる指定難病を選定する指定難病検討委員会を7月28日に開催し、検討を進めてきました。委員会においては、まず、（１）発病の機構が明らかでない（２）治療方法が確立していない（３）長期の療養を必要とする（４）患者数が一定の人数に達していない（５）客観的な診断基準が確立している－などの要件を検討した上で、個

別の疾病が指定難病の要件を満たすかどうかについて検討を行いました。さらに、指定難病の要件を満たすと考えられる疾病の支給認定に係る基準について、それぞれ検討を行いとりまとめ、10月8日の厚生科学審議会疾病対策部会において、医療費助成の第一次実施分としては、110疾病を指定難病とすべきことが了承されました（図2）。

指定難病の要件等に関する学術的な整理や情報収集が不十分な疾病など、現時点で検討に時間を要する疾病については、第二次実施分（平成27年夏から医療費助成を予定）の検討に向けて基礎的資料の収集・整理を行った上で、平成27年1月より指定難病検討委員会で議論する予定であり、第二次実施分までで、医療費助成の対象は合計約300疾病となる見込みです。

結び

現在、平成27年1月1日施行に向けて、難病の総合対策を進めていくべく、関係各方面との調整を行っているところです。法律の基本理念、すなわち難病の克服を目指し、難病患者の社会参加の機会が確保され、難病の患者が地域社会において尊厳を保持しつつ他の人々と共生することができるよう、今後とも、難病対策の更なる充実に取り組んでいきます。

難病の患者に対する医療等に関する法律（平成26年5月23日成立） 図1

趣旨

持続可能な社会保障制度の確立を図るための改革の推進に関する法律に基づく措置として、難病の患者に対する医療費助成^(注)に関して、法定化によりその費用に消費税の収入を充てることができるようにするなど、公平かつ安定的な制度を確立するほか、基本方針の策定、調査及び研究の推進、療養生活環境整備事業の実施等の措置を講ずる。

(注)現在法律に基づかない予算事業(特定疾患治療研究事業)として実施している。

概要

(1) 基本方針の策定

- 厚生労働大臣は、難病に係る医療その他難病に関する施策の総合的な推進のための基本的な方針を策定。

(2) 難病に係る新たな公平かつ安定的な医療費助成の制度の確立

- 都道府県知事は、申請に基づき、医療費助成の対象難病（指定難病）の患者に対して、医療費を支給。
- 指定難病に係る医療を実施する医療機関を、都道府県知事が指定。
- 支給認定の申請に添付する診断書は、指定医が作成。
- 都道府県は、申請があった場合に支給認定をしないときは、指定難病審査会に審査を求めなければならない。
- 医療費の支給に要する費用は都道府県の支弁とし、国は、その2分の1を負担。

(3) 難病の医療に関する調査及び研究の推進

- 国は、難病の発病の機構、診断及び治療方法に関する調査及び研究を推進。

(4) 療養生活環境整備事業の実施

- 都道府県は、難病相談支援センターの設置や訪問看護の拡充実施等、療養生活環境整備事業を実施できる。

施行期日

平成27年1月1日

※児童福祉法の一部を改正する法律（小児慢性特定疾病の患児に対する医療費助成の法定化）と同日

難病の患者に対する医療等に関する法律第5条第1項に規定する指定難病 (図2)

番号	病名	番号	病名
1	球脊髄性筋萎縮症	56	ベーチェット病
2	筋萎縮性側索硬化症	57	特発性拡張型心筋症
3	脊髄性筋萎縮症	58	肥大型心筋症
4	原発性側索硬化症	59	拘束型心筋症
5	進行性核上性麻痺	60	再生不良性貧血
6	パーキンソン病	61	自己免疫性溶血性貧血
7	大脳皮質基底核変性症	62	発作性夜間ヘモグロビン尿症
8	ハンチントン病	63	特発性血小板減少性紫斑病
9	神経有棘赤血球症	64	血栓性血小板減少性紫斑病
10	シャルコー・マリー・トゥース病	65	原発性免疫不全症候群
11	重症筋無力症	66	Ig A 腎症
12	先天性筋無力症候群	67	多発性嚢胞腎
13	多発性硬化症／視神経脊髄炎	68	黄色靱帯骨化症
14	慢性炎症性脱髄性多発神経炎／多巣性運動ニューロパチー	69	後縦靱帯骨化症
15	封入体筋炎	70	広範脊柱管狭窄症
16	クロウ・深瀬症候群	71	特発性大腿骨頭壊死症
17	多系統萎縮症	72	下垂体性 ADH 分泌異常症
18	脊髄小脳変性症（多系統萎縮症を除く）	73	下垂体性 TSH 分泌亢進症
19	ライソゾーム病	74	下垂体性 PRL 分泌亢進症
20	副腎白質ジストロフィー	75	クッシング病
21	ミトコンドリア病	76	下垂体性ゴナドトロピン分泌亢進症
22	もやもや病	77	下垂体性成長ホルモン分泌亢進症
23	プリオン病	78	下垂体前葉機能低下症
24	亜急性硬化性全脳炎	79	家族性高コレステロール血症（ホモ接合体）
25	進行性多巣性白質脳症	80	甲状腺ホルモン不応症
26	HTLV-1 関連脊髄症	81	先天性副腎皮質酵素欠損症
27	特発性基底核石灰化症	82	先天性副腎低形成症
28	全身性アミロイドーシス	83	アジソン病
29	ウルリッヒ病	84	サルコイドーシス
30	遠位型ミオパチー	85	特発性間質性肺炎
31	ベスレムミオパチー	86	肺動脈性肺高血圧症
32	自己食空胞性ミオパチー	87	肺静脈閉塞症／肺毛細血管腫症
33	シュワルツ・ヤンペル症候群	88	慢性血栓塞栓性肺高血圧症
34	神経線維腫症	89	リンパ管筋腫症
35	天疱瘡	90	網膜色素変性症
36	表皮水疱症	91	バッド・キアリ症候群
37	膿疱性乾癬（汎発型）	92	特発性門脈圧亢進症
38	スティーヴンス・ジョンソン症候群	93	原発性胆汁性肝硬変
39	中毒性表皮壊死症	94	原発性硬化性胆管炎
40	高安動脈炎	95	自己免疫性肝炎
41	巨細胞性動脈炎	96	クローン病
42	結節性多発動脈炎	97	潰瘍性大腸炎
43	顕微鏡的多発血管炎	98	好酸球性消化管疾患
44	多発血管炎性肉芽腫症	99	慢性特発性偽性腸閉塞症
45	好酸球性多発血管炎性肉芽腫症	100	巨大膀胱短小結腸腸管蠕動不全症
46	悪性関節リウマチ	101	腸管神経節細胞僅少症
47	バージャー病	102	ルビンシュタイン・ティビ症候群
48	原発性抗リン脂質抗体症候群	103	CFC 症候群
49	全身性エリテマトーデス	104	コステロ症候群
50	皮膚筋炎／多発性筋炎	105	チャージ症候群
51	全身性強皮症	106	クリオピリン関連周期熱症候群
52	混合性結合組織病	107	全身型若年性特発性関節炎
53	シェーグレン症候群	108	TNF 受容体関連周期性症候群
54	成人スチル病	109	非典型性溶血性尿毒症症候群
55	再発性多発軟骨炎	110	ブラウ症候群

公益財団法人 難病医学研究財団

評議員 溝口 秀昭

(東京女子医科大学 名誉教授)

難病を広辞苑で調べてみますと「治り難い病気、難症」と書かれていますが、さらに、「厚生省が指定した特定疾患の俗称」とも書かれています。したがって、難病という言葉は以前からあったと思われますが、特に注目されたのは昭和47年（1972年）に当時の厚生省の「難病対策提要」に基づいて幾つかの疾患が特定疾患として決められたことがきっかけになり、以後広く用いられるようになったと思われます。特定疾患としては、まれな病気で、治りにくい病気が選ばれました。

血液の病気では、海外に比べてわが国で多いとされた「再生不良性貧血」がまず選ばれました。その結果、日比野進先生を班長とする研究班が作られ、全国のこの病気に関する専門医師が集まり、その頻度、病気の原因、症状、治療や予後などが調べられました。

私は当時、東大の中尾喜久教授が主宰される第三内科の血液疾患のグループに属し再生不良性貧血の患者さんの治療に当たっていました。高久史麿先生がグループのリーダーでその研究班に属しておられたので、班会議に参加させて頂いていました。

難病医学研究財団の前身である医学研究振興財団の支援で比叡山ホテルにおいて再生不良性貧血の国際会議も開かれ、論文でしか知らなかった海外の研究者と直接話ができることは刺激になりました。

班研究でまず行ったことは、当時メキシコのサンシェ・メダル氏が蛋白同化ホルモンが再生不良性貧血に効くということを発表されたのでそれを班として検討することでした。全国の患者さんたちに了解を得て治療研究を行い、有効であることがわかりました。

当時の患者さんの予後は、中等症と軽症では10年生存率が約40%でしたが、研究班が始まって5年たつと約70%に改善し、10年たつと約90%に改善しました。このような改善には蛋白同化ホルモンの使用と血小板輸血が可能になったことがあります。さらに班会議でこのような情報が共有され、全国の患者さんに同様の治療が行われるようになったこともあって考えています。

問題は重症の患者さんで、班研究の開始時に1年生存率が約50%で、10年生存率は約40%と低かったのですが、班研究が始まって5年たっても10年たっても改善しませんでした。

重症例の治療が改善したのはその後骨髄移植と免疫抑制療法が導入されたことによるものでした。骨髄が空に近くなる病気ですから骨髄移植は有効である可能性が考えられましたが、免疫抑制療法が骨髄移植と同程度に有効であるということがヨーロッパから発表されたときは、信じられませんでした。自分のリンパ球が自分の血液幹細胞を障害する一種の自己免疫疾患である可能性が示されたわけです。

わが国でも患者さんの協力を得て研究班で共同研究をし、重症の患者さんに免疫抑制療法としてシクロスポリンと抗胸腺細胞グロブリンを併用すると約90%の方が長期に生存できることが明らかになりました。

再生不良性貧血のように少ない病気については、全国的な組織を作って患者さんたちの協力を得ながら研究をすることが大切であると思っています。

➡ 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。なお、平成23年度より「臨床分野特別枠」を新設し、平成25年度からは「臨床枠」とした。

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、難治性疾患の診療を行っている医療機関・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24年度は、一般枠へ35名、臨床分野特別枠へ20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10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。

参考 第37回 贈呈式

平成25年1月17日（木）11時～

式次第

(1) 挨拶	会 長	高久 史麿
(2) 趣旨及び審査経過報告	評議員・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	厚生労働省健康局長	矢島 鉄也 殿
	上智大学 名誉教授	青木 清 殿
(5) 受賞者代表謝辞	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	
	メディカルフェロー	油井 史郎 殿

⇒ 医学研究奨励助成金受賞者の研究報告概要 ⇐

(註) 本研究成果報告は、平成24年度（第37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。

(一般枠)

- 神経活性化による多発性硬化症発症機構の解明
〔有馬 康伸 北海道大学遺伝子病制御研究所分子神経免疫学分野 特任助教〕
研究対象疾患：多発性硬化症
- 網膜色素変性におけるTGF- β signalingと新規治療ターゲット
〔上田 高志 東京大学大学院医学系研究科眼科学 助教〕
研究対象疾患：網膜色素変性
- TLRの局在破綻による炎症性疾患発症のメカニズムの解明
〔笹井 美和 大阪大学微生物病研究所感染病態分野 助教〕
研究対象疾患：原発性免疫不全症候群
- クロウン病に対する粘膜免疫分子ライプイメーシングシステムの構築
〔徳原 大介 大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学 講師〕
研究対象疾患：クロウン病
- クロウン病・潰瘍性大腸炎患者内視鏡検体を用いた初代培養系の確立とHath1発現解析
〔油井 史郎 東京医科歯科大学消化器内科〕
研究対象疾患：クロウン病・潰瘍性大腸炎
- 次世代シーケンサーを用いた骨髓異形成症候群の病態解明
〔吉田 健一 京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学 特定助教〕
研究対象疾患：不応性貧血（骨髓異形成症候群）

(臨床分野特別枠)

- 大型血管炎の血管病変分布と遺伝的背景に関する検討
〔内田 治仁 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 CKD・CVD地域連携・心腎血管病態解析学講座 准教授〕
研究対象疾患：大動脈炎症候群（高安動脈炎）
- 先天性魚鱗癬様紅皮症の新規治療法の開発
〔小川 靖 名古屋大学医学部皮膚科 助教〕
研究対象疾患：先天性魚鱗癬様紅皮症
- 骨髓異形成症候群の病態および病期進行に関与する異常幹細胞クローンの研究
〔菊繁 吉謙 九州大学医学部病態修復内科 日本学術振興会特別研究員〕
研究対象疾患：骨髓異形成症候群
- 特発性肺線維症における制御性T細胞の役割の解明
〔谷澤 公伸 京都大学大学院医学研究科呼吸管理睡眠制御学講座 特定助教〕
研究対象疾患：特発性間質性肺炎

神経活性化による多発性硬化症発症機構の解明

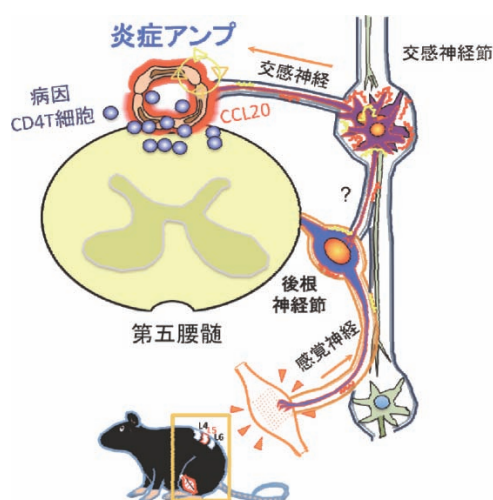
北海道大学遺伝子病制御研究所分子神経免疫学分野 特任助教 有馬 康伸



研究概要

中枢神経系の自己免疫疾患である多発性硬化症は、ヘルパーT細胞に依存して病気が発症することが示されてきたが、どのようにして中枢神経系へ細胞浸潤するのかは不明であった。私は多発性硬化症の動物モデルであるEAE（Experimental autoimmune encephalomyelitis）を用いて、神経の活性化によって中枢神経系へ侵入口が形成されることを報告した（Arima et al, 2012 *Cell*）（図1）。神経活性化は、重力刺激以外にも誘導されることがわかっており、種々の神経活性化モデルを立ち上げ多発性硬化症の動物モデルであるEAEの病態が変化するかどうかの解析を行った。

図1

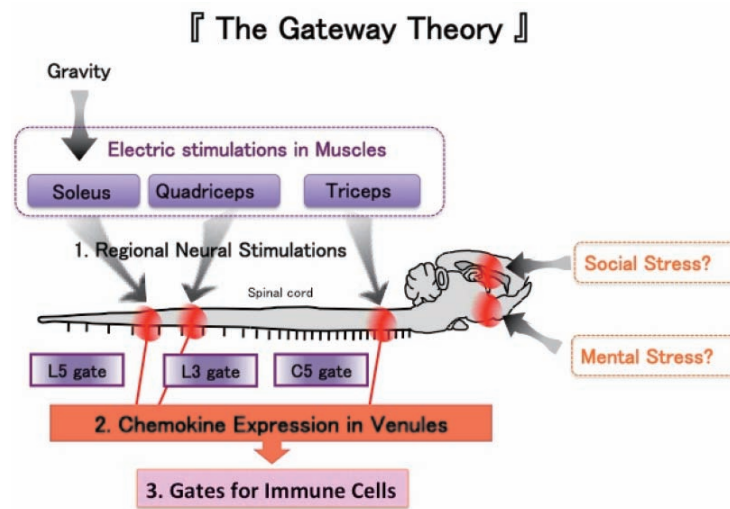


研究成果

ストレスや痛みによって引き起こされる神経の活性化が、EAE病態にどのように寄与するかを検討するために社会的孤立モデルと慢性疼痛モデルを確立し、そのモデルマウスにEAEを発症させる病因T細胞を移入するとその病態はコントロール群と比較して、増悪もしくは症状が長期にわたり持続されることが明らかとなった。今後はこれらのメカニズムを解明することで、神経活動がどのように多発性硬化症に関与するかを明らかとして、新規治療法の確立を目指す予定である。

また、各神経活性化により、中枢神経系への侵入口が変化することを考え、実験を行った結果、ヒラメ筋からの刺激で第五腰髄、大腿四頭筋からの刺激で第三腰髄、上腕三頭筋からの刺激で第五頸髄の背側血管でケモカインの発現が上昇することが明らかとなった。これは各神経の活性化により中枢神経系への侵入口が規定されていることを示唆するものであり、この概念を『ゲート理論』として提唱した（Arima et al. *Mediators of Inflammation* 2013）（図2）。

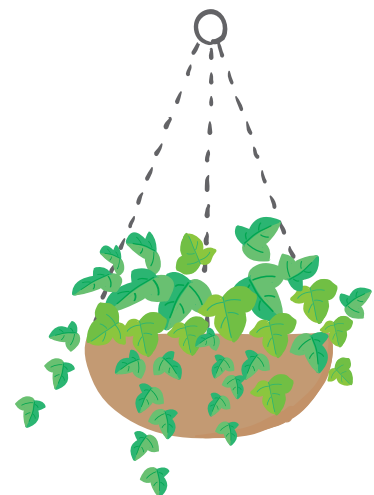
図2 ゲート理論



成果論文

Arima Y., D. Kamimura, L. Sabharwal, M. Yamada, H. Bando, H. Ogura, T. Atsumi and M. Murakami.
Regulation of Immune Cell Infiltration into the CNS by Regional Neural Inputs Explained by the Gate Theory.

Mediators of Inflammation. vol. 2013, Article ID 898165, 8 pages, 2013



網膜色素変性におけるTGF- β signalingと 新規治療ターゲット

東京大学大学院医学系研究科眼科学 助教 上田 高志



【背景】

遺伝性網膜変性はヒトにとって重大な失明原因ですが、未だ有効な治療法は実現していないのが現状です。遺伝性網膜変性は遺伝子異常によって視細胞死がおこる病態であり、隣接する網膜色素上皮（RPE）にも二次的に変性がおこると考えられていますが、RPEでの変化についての詳細な検討はこれまでになされてきませんでした。しかし、RPEについての検討を行うことは、昨今脚光をあびている遺伝子治療や再生医療の実現においても意味のあることと考えられます。つまり、変性が進行している視細胞に正常遺伝子を導入したり、再生した視細胞を移植することで治療できるのではないかと期待されていますが、暗黙の前提になっていることは、RPEが正常に温存されていることです。視細胞とRPEは隣接する細胞で、互いに密接に応答しながら視機能を維持しているため、正常なRPEがなければ視細胞を維持することはできない可能性が考えられます。また、本研究課題では、RPEでの形質変化が視細胞死という網膜変性の病態本体へ影響を及ぼす可能性についても検証しました。

【目的】

網膜色素変性における網膜色素上皮（RPE）の形質変化を明らかにし、網膜色素変性におけるTGF- β シグナルの役割について検証すること。また、網膜色素変性の新規の治療ターゲットを明らかにすること。

【結果】

本研究では、ヒト遺伝性網膜変性と同じ病態であるマウス遺伝性網膜変性の一つであるRD1マウスを実験検討に用いました。まず、遺伝性網膜変性におけるRPE細胞の形質変化を検討しました。mRNA、タンパク質レベルで、進行した網膜変性マウスのRPEでは、上皮系マーカーの発現はむしろ亢進していました、一方で、間葉系マーカー（alpha SMA, Vimentin, Myosin1等）の発現も顕著に上昇していることが分かりました。一般的に、上皮間葉移行の現象にはTGF- β やBMPなどのTGF- β スーパーファミリーが重要な役割を担っていますが、RD1マウスにおけるRPEでの変化においてもTGF- β やBMPの発現亢進を確認しました。また、また、RPE細胞は視細胞外節を貪食することによって視細胞の機能維持を補助していますが、RD1マウスのRPE細胞は視細胞外節の貪食能を喪失していることも確認されました（図1）。

このRD1マウスRPE細胞でのTGF- β やBMPの発現上昇は視細胞死が顕著になる生後13日目以降に認めました。そこで、TGF- β やBMPを含むTGF- β スーパーファミリーによるシグナルが視細胞死という病態の本体に影響を与えている可能性について検討するため、TGF- β シグナルの阻害剤（SB431542, DMH1）を生後13日目以降にRD1マウスの眼内に投与（硝子体注射）し、生後16日目に網

膜変性の進行程度を検討しました。すると、図2に示すように、SB431542やDMH1を投与したRD1マウスでは視細胞層の減少が抑制されていました。さらに、遺伝性網膜変性において視機能の予後を左右する錐体視細胞の残存程度についても検討したところ、これらの阻害剤を投与したRD1マウスでは錐体視細胞の外節がより長く残存していることを確認しました。今後さらに視機能の改善の有無があるかどうか電気生理学的な検討を行い、研究報告を行っていく予定です。

【謝 辞】

本研究は公益財団法人難病医学研究財団による研究助成によって遂行することができましたことを心より感謝申し上げます。

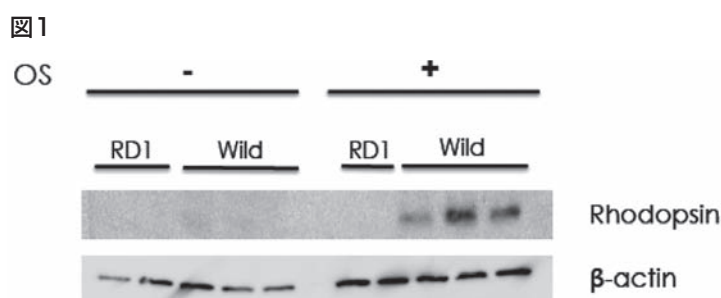


図1 RD1マウス、wild-typeマウスのRPEを含む組織（eye cup）をex vivo培養し、視細胞外節（OS）を付加した。組織を洗浄後、homogenizeしてwestern blotを行った。RPEがOSを貪食したことは、western blotでrhodopsinのバンドが観察できるかどうかで判定した。RD1マウスRPEではOSを付加してもrhodopsinのバンドは観察されず、RD1マウスRPEがOSを貪食する機能を失っていることが分かる。

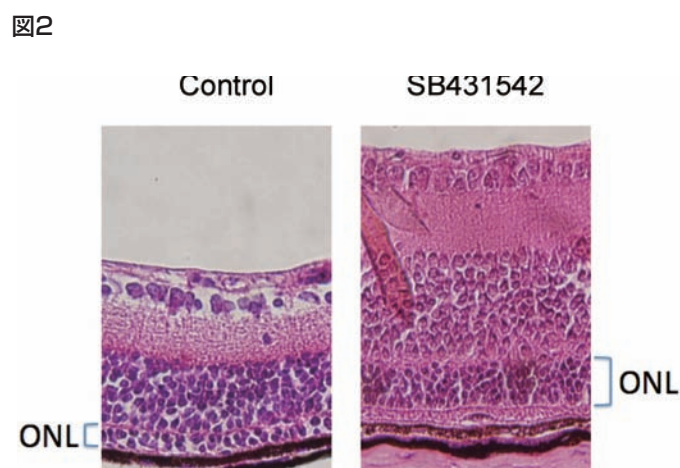


図2 視細胞は網膜ONL層に核が観察されるが、SB431542を眼内投与したRD1マウスでは視細胞死が抑制されていることが分かる。

TLRの局在破綻による炎症性疾患発症のメカニズムの解明

大阪大学微生物病研究所感染病態分野 助教 笹井 美和



【研究背景】

チェディアック・東症候群（Chediak-Higashi Syndrome）は常染色体変異によって引き起こされる遺伝性疾患の一つであり、その臨床所見として眼皮膚白皮症や穏やかな出血性素因などがあるが、最も重篤な症状として種々の感染症に対して易罹患性を示す。チェディアック・東症候群の原因遺伝子として細胞内の膜小胞輸送に関与する分子の一つであるLysosomal trafficking regulator（Lyst）が1996年に同定されており、欠損細胞では膜輸送機能の低下から巨大な細胞内小胞が形成される。チェディアック・東症候群患者は免疫細胞のナチュラルキラー細胞や細胞障害性T細胞の数の減少を伴う血球貪食症候群の発症、好中球では遊走能の低下や巨大リソソーム顆粒が生じてリソソーム内の顆粒が病原体を含むファゴソームと融合できないために引き起こされる病原体の消化能の低下など、種々の免疫細胞の機能欠損が報告されている。チェディアック・東症候群の患者は様々な病原体に易感染性を示すが、中でもヘルペスウイルス科に属するEpstein-Barr virus（EBV）に対して非常に高い抗体価を示した患者は肝脾肥大とリンパ節腫脹が認められ、肝脾腫大症により死亡した事が報告されており、ウイルス感染を起因とする慢性炎症が原因で患者が死に至った可能性が考えられるが、この遺伝疾患の分子レベルでの十分な病理学的原因究明は行われていない。

近年、病原体の構成成分を認識する生体防御機構として自然免疫が発見され、自然免疫の活性化がその後の病原体の排除や生体の恒常性維持に密接に関与している事が報告されつつある。自然免疫を担う受容体の一つであるToll様受容体（Toll-like receptors, TLRs）はI型の膜貫通受容体であり、活性化されると様々なサイトカイン産生を誘導する事が知られているが、膜受容体である事から細胞膜上での局在を制御する事ができ、TLRの細胞膜上での局在と活性化からのサイトカイン産生が密接に関与している事が報告されている。細胞内小胞膜上に局在するTLRであるTLR7ならびにTLR9は核酸を認識するTLRであり、その活性化機構の恒常性が破綻すると自己核抗原を認識する自己免疫疾患を誘発する事が知られており、TLR7ならびにTLR9の活性化機構は慢性炎症疾患を理解する上でも非常に重要である。TLR9の細胞内局在に関与する分子を同定する事を目的として、リガンド刺激後のTLR9に相互作用を示す分子群を、質量分析装置を用いて網羅的に同定した所、Lystが相互作用分子として単離された。

【研究目的】

本研究は、チェディアック・東症候群の原因遺伝子であるLystによるTLRを介した炎症の制御メカニズムの解析を通じて、チェディアック・東症候群の新たな疾患原因の解明と効果的な治療戦略の確立を目指すと共に、Lystによるサイトカイン産生制御機構を応用したTLR依存的自己免疫疾患の新規治療法の確立を目指す。

【方法と結果】

TLR familyの中でもTLR7とTLR9は形質様樹状細胞（Plasmacytoid dendritic cells, pDCs）に非常に高く発現しており、そのリガンドを認識すると、炎症性サイトカインと共に非常に高濃度のI型インターフェロン（IFN- α ）の産生が誘導される事が知られているが、血液中に存在するpDCsは非常に数が少なく、解析には適していない細胞である。pDCsの細胞生物学的な解析を行う場合、骨髓細胞をFlt3Lと呼ばれるサイトカインを細胞培養液に添加し、分化を誘導したFlt3LpDCsを使用するのが一般的である。

TLR7またはTLR9のリガンドを認識した際に誘導されるpDCsからのサイトカイン産生へのLystの関与を明らかにする目的で、野生型またはLyst変異マウス由来のFlt3LpDCsをTLR9のリガンドであるCpG-Aで24時間刺激した際に産生されるIFN- α とIL-12p40について検討した所、Lyst変異マウス由来の細胞群でこれらのサイトカイン産生は顕著に増加が認められた（図1）。

また、実際の病原体として単純ヘルペスウイルスII型（TLR9により認識）または水疱性口内炎ウイルス（TLR7により認識される）感染に対するサイトカイン産生へのLyst関与についても同様に検討した所、どちらのウイルス感染に対するサイトカイン産生も顕著にその産生の亢進が認められた（図2）。

【まとめと今後の展望】

Lyst変異マウスより単離・分化させた骨髓由来Flt3LpDCsでは、野生型由来のFlt3LpDCsよりもTLR7またはTLR9リガンド刺激によるサイトカイン産生が顕著に亢進する結果が得られた。この結果は、様々な病原体に対して易感染性を示すチェディアック・東症候群の患者において、TLR依存的なサイトカイン産生が増幅し、慢性炎症が引き起されている可能性を強く暗示している。同疾患の重篤者に高頻度に感染が確認されているEBVはTLR9を活性化する事が知られている事からも、TLRを介したサイトカインストームが同疾患の肝腎肥大からの死因となっている可能性が高い。今後、Lyst遺伝子欠損マウスに反復感染させる事による慢性炎症の誘導と、TLRシグナルを阻害する事によるその慢性炎症の制御について検討していきたい。

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益財団法人 難病医学研究財団の関係者の方々に深く御礼申し上げます。

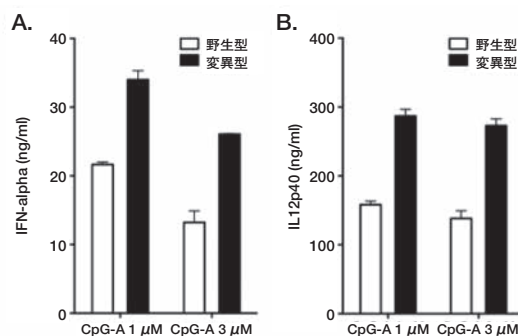


図1 TLR9リガンドによるサイトカイン産生はLyst変異マウス由来Flt3LpDCsで亢進するマウス骨髓由来Flt3LpDCをTLR9のリガンドであるCpG-Aで24時間刺激した際の、I型インターフェロン（IFN- α , A）と炎症性サイトカイン（IL-12p40, B）の産生量についてELISA法を用いて解析を行った。それぞれの実験は少なくとも三回以上の独立した実験を行い、代表例を示している。

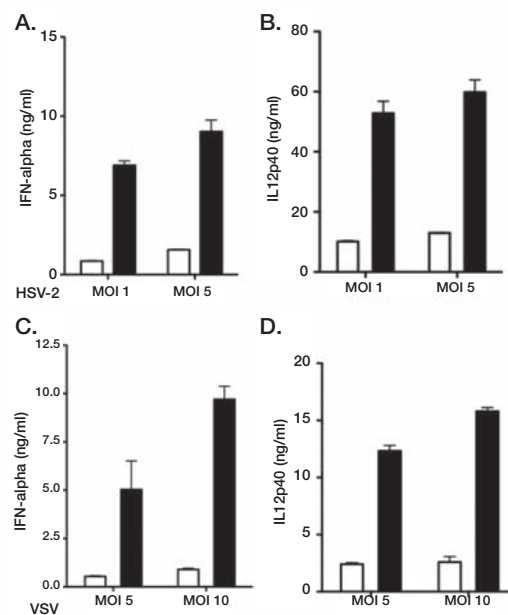


図2 ウイルスによるサイトカイン産生はLyst変異マウス由来Flt3LpDCsで亢進するマウス骨髓由来Flt3LpDC（白:野生型,黒:Lyst変異型）をII型単純ヘルペスウイルス（Herpes simplex virus, HSV-2）（A, B）または水疱性口内炎ウイルス（Vesicular stomatitis virus, VSV）（C, D）で感染させた際の、I型インターフェロン（IFN- α , AとC）と炎症性サイトカイン（IL-12p40, BとD）の産生量についてELISA法を用いて解析を行った。それぞれの実験は少なくとも三回以上の独立した実験を行い、代表例を示している。

クローン病に対する粘膜免疫分子ライブイメージングシステムの構築

大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学 講師 徳原 大介



【目 的】

クローン病の診療システムでは、①臨床所見、②血液・便検査、③内視鏡や消化管造影などの画像検査をもとに診断・治療が行われているが、診断・治療のステップを進歩させるためには、従来の検査手法に加えて個々の罹患者の病態をダイナミックに迅速かつ詳細に把握できるシステム開発が必要であり、クローン病の病態形成に関わるTNF- α やIL-6、IL-12といった炎症性サイトカインやそれらの分子のリガンドの消化管粘膜組織内における動態を評価できるライブイメージング技術の開発が望まれる。本研究では、クローン病モデルマウスを用いて腸管粘膜組織中の炎症性分子ならびにそのリガンドの動態をMicro-PET技術を用いて解析するシステムの開発を目指す。

【結 果】

①クローン病モデルマウスの作成

本研究ではイメージング解析の対象となるクローン病モデル動物が必要であり、トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）投与により誘発した大腸炎モデルを作成した。具体的には、SJJLマウスを8週齢から飼育し、10週齢からTNBSと50%エタノールの大腸内に投与し大腸炎を誘発した。対照群として50%エタノールのみを投与した。投与後4日目の時点で、対照群のマウスの死亡率は0%であり、全例で大腸炎の発症は肉眼的に認めず、体重は投与0日目より $5.2 \pm 2.1\%$ 増加した。一方、TNBS投与群のマウスの死亡率は65%であり、全例で大腸炎の発症を肉眼的および一部は組織学的に確認でき、体重は投与0日目より $13.4 \pm 4.6\%$ 減少した。

②血液および大腸粘膜組織中の炎症性サイトカインの評価

投与0、2、4日目の対照群とTNBS投与群の血液および大腸粘膜組織中の炎症性サイトカイン（IL-6、IL-12、TNF- α ）濃度の比較を行った。その結果、TNBS群における血液・大腸粘膜組織中の炎症性サイトカイン濃度は対照群よりも投与2日目で有意に高値であり、投与4日目では、大腸粘膜組織中の炎症性サイトカイン濃度がTNBS群で対照群よりも有意に高値であった。また、TNBS群の大腸において、肉眼的に発赤・腫脹の高度な粘膜組織と肉眼的に有意な所見のない粘膜組織とに分けて粘膜組織中の炎症性サイトカイン濃度を比較したところ、肉眼的に発赤・腫脹の高度な粘膜組織において炎症性サ

イトカイン濃度が有意に高値であった。

以上のことから、クローン病モデル動物において局所粘膜の炎症所見を評価するためには血液検査よりも粘膜組織中の評価が重要であり、局所粘膜の炎症性サイトカインを評価することが同粘膜部位の肉眼的な炎症所見を評価することに相当することがわかった。

③Micro-PET用抗TNF- α 抗体の選別

Micro-PETに使用するために最適な抗体の選別をおこなった。粘膜組織中でTNF- α を産生する樹状細胞をMicro-PETで捉える事が有用であると考えており、細胞表面に発現する膜型のTNF- α と結合する抗TNF- α 抗体の選別をフローサイトメトリーを用いて進めている。

【今後の展望】

クローン病モデル動物において、粘膜組織の肉眼的炎症部位を評価するためには、血液中ではなく粘膜局所の炎症性サイトカインを測定する事が必要であり、粘膜局所のサイトカインの動態をPETイメージングで捉えるというコンセプトは理にかなっていると考えられた。Micro-PET用に適した抗TNF- α 抗体の選別が終了すれば、同抗TNF- α 抗体にCuを標識し、クローン病モデルマウスを用いて粘膜組織中の集積を観察する研究をすすめていく。



クローン病・潰瘍性大腸炎患者内視鏡検体を用いた 初代培養系の確立とHath1発現解析

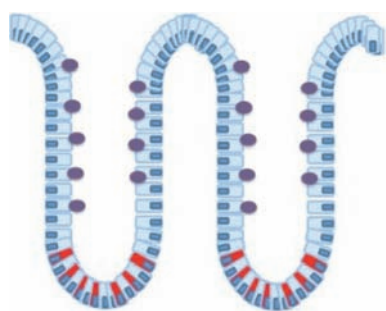
東京医科歯科大学消化器内科 油井 史郎



背景

クローン病・潰瘍性大腸炎に代表される炎症性腸疾患は、複雑な病態や患者数の増加などから代表的な難治性疾患のひとつと考えられています。発症には腸管の恒常性維持機構の異常が関与していると考えられており、最近では間質における炎症反応だけではなく、腸管内腔と我々の個体との境界である上皮に関する研究も疾患理解に大事であると考えられています。長期罹患後に発がんを認める点も臨床的に大きな問題であり、癌の発生母地が上皮であることから、この点においても上皮研究は重要なテーマです。

図1



腸管上皮はクリプトと呼ばれる陥凹構造をしています。粘液分泌の機能を有する杯細胞などの複数の種類の細胞からなる単層の上皮で構成されています。これら全ての上皮細胞はクリプトのもっとも深い部分にある特殊な細胞から発生しており、この細胞を幹細胞といいます（図1；赤・幹細胞・紫・杯細胞）。Atoh1というたんぱく質は、この幹細胞が杯細胞に変化する際に必要な遺伝子群の発現を誘導する役割を持っています。炎症性腸疾患では、杯細胞を含めた分泌系細胞への分化に異常が確認されることが多く、また粘液産生能・増殖活性ともに決して低くはない特異な癌の合併が知られています。この背景にある因果関係は十分に

解明されていないものの、その解明は炎症性腸疾患の上皮研究の大きなテーマの一つです。

基礎生物学の世界での腸管上皮研究は近年大変な進展をしています。上皮幹細胞で発現の高い遺伝子や転写因子が同定され始め、幹細胞の理解が進んでいます。幹細胞を体外で培養する技術も開発されました。東京医科歯科大学消化器内科でも、独自の培養技術を用いて体外で増やしたマウスの培養大腸上皮細胞を用いて個体内で大腸の上皮が再生できることを報告しました。これらの新しい知見・技術を背景として、炎症性腸疾患に対する再生医療の可能性を検証し、また炎症性腸疾患を上皮の側面から再検討する国際的な研究の枠組みが出来つつあります。

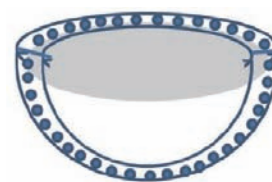
成果と展望

① 胎生期を含めたヒトの正常・疾患腸管上皮の体外培養法

昨年東京医科歯科大学消化器内科では、イギリスのケンブリッジ大学・デンマークのコペンハーゲン大学との共同研究において、胎児期の腸管上皮の体外培養法に関する研究を遂行し、胎児期の

マウス腸管上皮が球状体として培養可能なことを示しました。この球状体は上皮細胞が単層に配列することで形成されています（図2）。この実験において、ヒト胎児腸管上皮も同様の球状体として培養できるものの、マウスのそれとは異なる環境での培養が必要であること、すなわちヒトとマウスの胎生期腸管上皮は似ているが異なる部分もあること、が示唆されました。さらに胎児期の腸管上皮細胞にも、個体内で腸管組織を再生する能力があることを示すことができました。東京医科歯科大学消化器内科では、マウス腸管上皮培養技術で得られたノウハウを成人ヒトの腸管上皮細胞の培養に活かして、効率的な培養方法の確立を目指し、その技術を炎症性腸疾患患者さんの腸管上皮の培養法の開発にも応用をする予定でいます。これらの技術は炎症性腸疾患の上皮研究の遂行に当たり大変重要なツールになると考えています。また多様なマテリアルの再生医療への応用可能性の検証も進めていく予定でいます。

図2



② Athol遺伝子、特に癌の悪性化との関連

東京医科歯科大学消化器内科では、以前よりAthol遺伝子に注目してきました。本研究では大腸癌由来の細胞を用いた分子生物学的な手法を用いて、Athol遺伝子の変異が癌細胞に与える影響を解析しました。Atholタンパクが安定化する変異を持った遺伝子を作成する独自の技術を駆使し、変異型タンパクの出現により大腸癌の悪性度を反映する遺伝子であるLgr5という遺伝子の発現が増えること、そして、それはこの遺伝子の発現を調整するプロモーターと呼ばれる領域にAtholタンパクが作用して生じていることを明らかにすることができました。炎症性腸疾患の長期罹患後に悪性度の決して低くはない癌が出現する機序の全容はまだ不明ですが、今回の発見をその全容の解明に向けて発展させ、将来的にはヒト腸管上皮細胞の培養技術とも組み合わせて、新規の診断法や治療法に結びつくような成果にしていきたいと考えています。

結 語

炎症性腸疾患には様々な種類があり、なかなか画一的には理解のできない疾患群です。病態の理解のための研究と、再生医療などの新規治療の開発を並行して行い、最終的に少しでも多くの患者さんに成果を還元できるように、東京医科歯科大学消化器内科ではその独自の技術の普及にも努めながら、今後とも頑張っていく予定でいます。

謝 辞

本研究の推進にあたり、東京医科歯科大学消化器内科、渡辺守先生・中村哲也先生・土屋輝一郎先生に多大なるご指導・ご支援を頂きました。御礼を申し上げます。本研究を採択しご支援を頂きました難病医学研究財団にも厚く御礼を申し上げます。

次世代シーケンサーを用いた骨髓異形成症候群の病態解明

京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学 特定助教 吉田 健一



背景

骨髓異形成症候群（MDS）は、治療抵抗性の血球減少、急性骨髓性白血病（AML）への移行を特徴とする難治性の血液疾患である。高齢者に好発することから、人口の急速な高齢化に伴って今後発症頻度の大きな上昇が予測されている。現時点では造血幹細胞移植以外に治療が期待できる治療方法がないが、高齢な患者へは副作用の観点から適応が制限されることから、有効かつ副作用の少ない治療薬剤の開発が求められていた。そのため、MDSの治療成績向上のために、MDSにおける遺伝学的基盤を明らかにし、治療標的となる遺伝子異常や予後予測を可能にする分子マーカーを明らかにすることが必要であった。

これまでに私たちの研究室では次世代シーケンサーを用いた全エクソンシーケンスによりMDSにおいて高頻度にRNAスプライシング因子の遺伝子変異がみられ、変異がMDSなどの骨髓細胞の異形成を特徴とする骨髓性腫瘍に特徴的であることを報告し、その後MDSの分子病態の理解が急速に進むことになった。さらに、MDSにおいては遺伝子変異の有無が予後と相関することが明らかになってきた。一方、従来MDSにおいて予後予測に用いられていたIPSS（International Prognostic Scoring System：国際予後判定システム）および改定されたIPSS-Rでは骨髓中の芽球の割合、染色体異常、血球減少という臨床データのみでリスク分類を行っており、そこでは遺伝子変異の情報は組み込まれていなかった。従って、多数例においてRNAスプライシング因子などの遺伝子変異を解析し、さらに変異と予後との関係などは明らかにする必要があった。

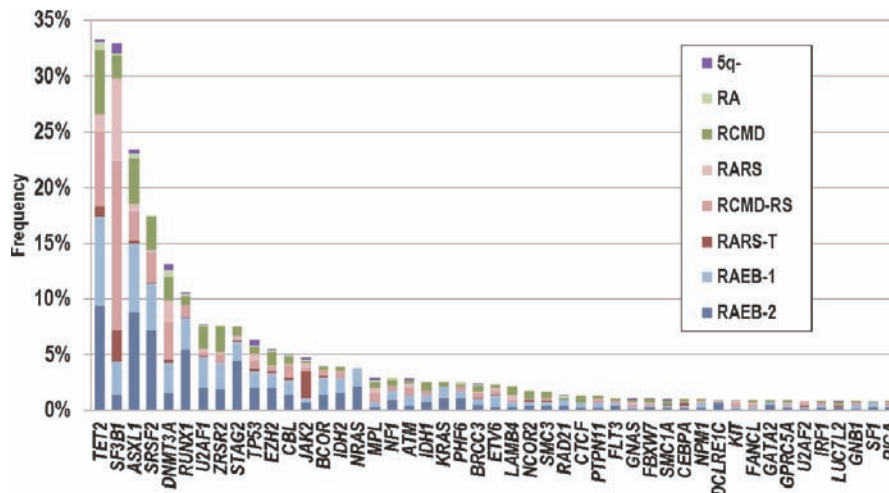
研究方法

944症例のMDSおよび関連する骨髓性腫瘍についてMDSで変異の報告のある遺伝子など104個の遺伝子について、次世代シーケンサーを用いた標的遺伝子シーケンスを行った。具体的には腫瘍検体由来のDNAを、アジレント社のSureSelectを用いて標的とした104遺伝子のエクソン領域を含むDNA断片を濃縮し、次世代シーケンサーで遺伝子変異を解析した。

研究成果

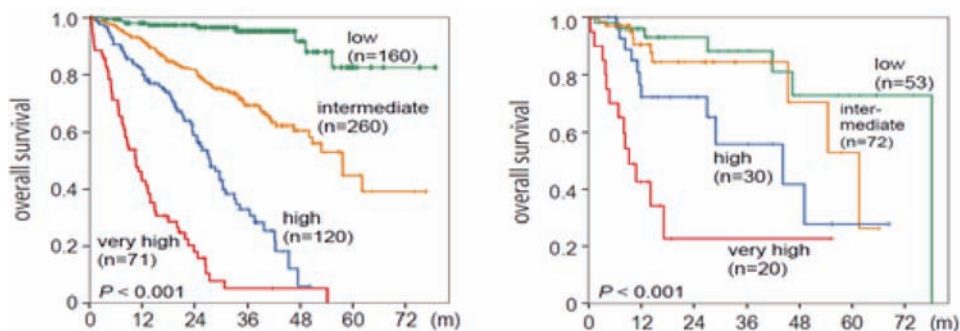
解析の結果、96遺伝子で2764個の遺伝子変異が同定され、また、解析を行った944症例中の845例（89.5%）で少なくとも1個の遺伝子異常が同定された（中央値：3個、0-12個）。47個の遺伝子は偶然起こるよりも有意に遺伝子変異が多いと考えられ、特に*TET2*、*SF3B1*、*ASXL1*、*SRSF2*、*DNMT3A*、*RUNX1*遺伝子は10%以上の症例で変異がみられた（図1）。変異の数は進行した病型のMDSで多い傾向があり、変異の獲得とともにMDSが進行していると考えられた。変異はRNAスプライシング経路の遺伝子の変異が64%と最も高頻度に認められ、続いてDNAメチル化、クロマチン修飾、転写などに関わる遺伝子の変異が認められた。

図1 MDS944例における遺伝子異常



情報が得られた875症例について予後解析を行ったところ、25個の遺伝子が予後に影響することが明らかになった。このうち、14個の遺伝子と年齢、性別などの臨床データを組み合わせた予後解析モデル（“Model-1”）を作成したところ、低リスク、中間リスク、高リスク、超高リスクで3年の生存率は95.2%、69.3%、32.8%、5.3%と有意に全生存率の異なるリスクに分かれた（図2）。また、“Model-1”は従来のIPSS-Rに比べても優れた予後予測が可能であり、遺伝子変異の情報を組み合わせることで予後予測が改善すると考えられた。

図2 遺伝子変異と臨床データを組み合わせた予後予測モデル



まとめ

MDSにおいては多くの症例で遺伝子変異がみとめられ、特にRNAスプライシングに関わる遺伝子の変異などがMDSの発症に関わっていることが明らかになった。さらに、複数の遺伝子変異の情報を臨床データとあわせれば従来よりも優れた予後予測が可能であり、治療方針の決定などに有用であると考えられた。現在、国際的なワーキンググループでも遺伝子変異の情報を組み込んだ予後予測モデルについて検討され、今後実際に臨床の現場でも役立つことが期待されている。

大型血管炎の血管病変分布と遺伝的背景に関する検討

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
CKD・CVD地域連携・心腎血管病態解析学講座 准教授
内田 治仁



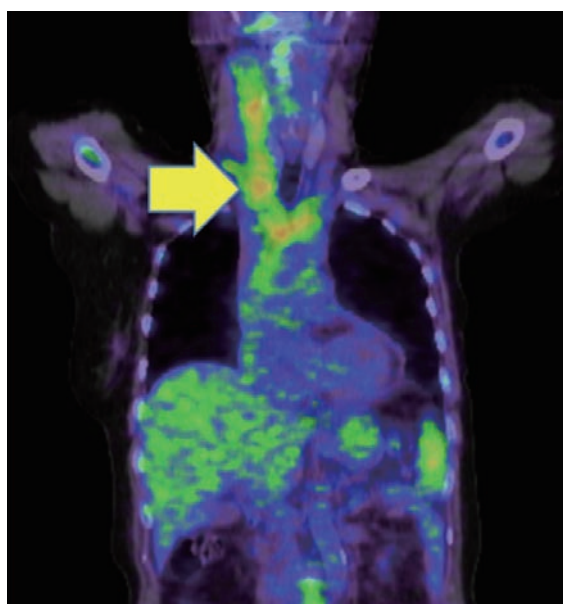
難病といわれる多数の疾患の中には、血管に炎症がおこる難治性血管炎という疾患があります。血管と一口にいいましても、大型の血管から中型あるいは小型までの様々な太さの血管が体中をめぐっています。どの太さの血管に炎症が起こるかによって、症状や傷害される臓器が変わってきます。このうち、大型血管に起こる大型血管炎には、高安病（高安動脈炎）と巨細胞性動脈炎という2大疾患が含まれています。高安病とは、大動脈およびその主要分枝などの比較的太い血管におきる炎症の結果、血管の狭窄や拡張を生じ多様な症状を示す疾患であり、国の特定疾患に指定されていますが、その遺伝的背景はあまり明らかになっていませんでした。巨細胞性動脈炎とは中・大動脈の動脈炎で頸動脈とその分枝、特に側頭動脈炎を主病変とする血管炎であるという概念から日本では側頭動脈炎とも呼ばれる疾患です。名前は側頭動脈炎ではありますが、頸部以外の病変も存在し、大動脈およびその主要分枝などの比較的太い血管に巨細胞を伴う炎症がおこり、血管の狭窄や拡張を生じ多様な症状を示すことが特徴ですが、高安病と同じように多彩な症状を示すことが特徴の疾患です。この疾患は国の特定疾患ではないため、遺伝的背景についてはほとんどわかっていないのが現状です。ですから、この2つの疾患は、どちらも大型の血管に炎症がおこるという共通点があり、また治療においては副腎皮質ホルモン剤を用いた治療に反応が良好であるという点においても同様なのですが、別の疾患と考えられてきました。アメリカリウマチ学会においても、その分類が区別されてきました。ところが、最近になってかなりの部分が共通した病態を呈することから、発症年齢が違っただけで同じ疾患である、というような議論がおこってきました。実際にこの2つの疾患の臨床像を直接比較したエビデンスは少なく、特に高安病を世界で最も多く抱える日本人におけるデータはないのが現状です。さらに、日本には高安病の患者が多く、海外では巨細胞性動脈炎が多い、という現状があり、人種差であるとか、遺伝子的要因ではないかということが言われておりました。とはいえ、高安病は日本ではわずか5000人程度しかおらず、毎年の新規発症患者はわずか約200名程度と非常に稀な疾患であり、なかなか検討が進まないのが現状です。

今回の研究では、この2疾患における臨床像、特に血管病変の分布を比較し、遺伝的背景との関連を検討することで2つの疾患の相同差異を明らかにすることを目的に計画をたてました。血管病変の分布に差異がある可能性がいわれておりますが、それを示した報告はいまだありません。我々の検討では、

現時点ではまだご同意いただいた患者数が少なく、2疾患を詳細な検討ができる段階ではありませんが、引き続き症例を集めて検討していきたいと思っております。

最近、興味深い患者に出会いました。この患者は骨髄異形成症候群という血液疾患と、大型血管炎を同時に発症した患者です。この患者さんは、図のようにPET-CT（左図）やMRI（右図）、造影CTなどにて大型血管炎を疑わせる所見でした。ご高齢であることから、臨床的には巨細胞性動脈炎が疑われたのですが、側頭動脈の血管組織を調べてみたところ、巨細胞の存在が確認できませんでした。高安病も巨細胞性動脈炎も、どちらも検査結果となることがあります。高安病か巨細胞性動脈炎かは、臨床的には鑑別ができませんでした。この骨髄異形成症候群はお年を召されてから発症することが多い病気ですが、染色体異常が言われており、この方のHLAのタイプはA2, B35, B61と、一般に高安病や巨細胞性動脈炎で言われているものとは違うタイプでありました。（Intern Med 53: 63-66, 2014）この症例からも、大型血管炎と遺伝的背景を探索するにはさらなる症例の積み重ねが重要であることを改めて認識いたしました。今後も、難治性血管炎の、特に大型血管炎の患者さまのために、日々精進してまいりたいと思います。

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益財団法人 難病医学研究財団関係者の皆様、ご寄付をいただいた方々に深く感謝を申し上げます。



先天性魚鱗癬様紅皮症の新規治療法の開発

名古屋大学医学部皮膚科 助教 小川 靖



【研究の背景】

私達はこの度、難病医学研究財団から、貴重なご支援を賜り、「先天性魚鱗癬様紅皮症」という皮膚の難病の新しい治療法の開発に取り組んでおります。

この疾患では、生まれたときから全身に紅斑、水疱とびらんが現れたり、または皮膚が膜のように変化します。乳児期をすぎると、全身の皮膚が乾燥した鱗状に変化し、この症状が終生続きます。遺伝子の変異により起きる病期である事が分かっており、全国に100-300人の患者さんがいると推定されています。様々な対症療法が行われていますが、まだ病気の原因に基づく根本的な治療法は有りません。この疾患を引き起こす原因となる遺伝子は幾つか知られていますが、日本人ではABCA12という遺伝子の変異が原因となる事が一番多い事が知られています。

これまでも私達の研究室では患者さん達の診療に携わる中で、ABCA12の様々な変異を同定してきました。そのなかで、この病気を治療する新しい方法を探してきました。

【研究の目的】

私達は現在、ABCA12の変異の中をもつ方達の一部において、「分子シャペロン薬」という新しい薬剤が治療効果をもたらすのではないかと考えています。ABCA12という蛋白質は皮膚の表面のケラチノサイトという細胞の中で、皮膚のバリアを作る脂質を適切な場所に輸送するという、重要な役割を果たしています。先天性魚鱗癬様紅皮症ではABCA12が十分機能しない事で、適切に皮膚の角層が作られなくことが、疾患を引き起こす原因となります。

遺伝子変異も蛋白質の決まった場所に起きる訳ではなく、いろいろな場所に起きます。このため、ABCA12の機能が低下する原因は様々です。ある種の変異はABCA12蛋白質を正しい形に折り畳まれることを阻害し、その結果、大部分のABCA12蛋白質が細胞の中で本来有るべき場所に移動できなくすることで、疾患を起こすと考えられます。人間の体にはABCA12と近い構造と機能を持った蛋白質が他にも多数あるのですが、これら類縁の蛋白質でも同じように折りたたみを阻害する遺伝子変異が知られており、その結果様々な病気が起きている事が近年分かってきています。

「分子シャペロン薬」という薬剤はこれらの蛋白質が本来の形に正しく折り畳まれる事を助ける効果があります。ABCA12の他のファミリー蛋白質では、この「分子シャペロン薬」が変異のあるタンパクを実際に正しく折り畳むことを示した研究が幾つか報告されています。

もし、実際に、ABCA12の遺伝子変異をもつ患者さんの中で、このようなタンパクの折りたたみの障害により病気が起きている方がいる事を証明できれば、この様な薬剤を皮膚に塗ったり、内服したりする事で症状を和らげることができるかもしれません。「分子シャペロン薬」にもいろいろな種類がありますが、その中には実際に内服する事が可能な薬剤も含まれています。従って私達は、この研究を進める事で、将来的に、患者さんごとの遺伝子変異の内容に合わせた、新しい治療法を実現できる可能性があるかと期待しています。

【研究の計画と方法】

今回の研究では、次の3つのプロジェクトを進める事で、新しい治療法の開発に結びつける事を目指しています。

- ① 先天性魚鱗癬様紅皮症での実例から分子シャペロン薬が効く可能性のある変異を見いだす。
- ② 実際の病気のメカニズムを精確に反映した、先天性魚鱗癬様紅皮症モデルマウスを作成する。
- ③ 分子標的薬により、モデルマウスの症状が改善する事を確認する。

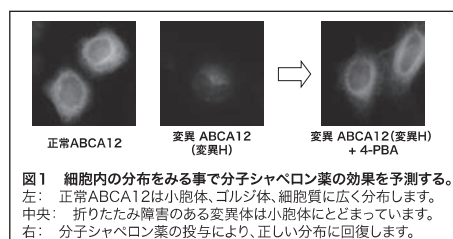
これから下の文章で、現在の進行状態を説明致しますが、現在は②の途中まで進行しています。

【これまでの研究成果】

- ① 先天性魚鱗癬様紅皮症での実例から分子シャペロン薬が効く可能性のある変異を見いだす。

私達は今までに知られている全てのABCA12の変異について、折り畳み異常により機能障害が起きるものとそうでないものを区別することに成功しました。

ABCA12の蛋白質が正常に折り畳まれないとき、未完成の蛋白質は細胞内の小胞体という器官にとどまり、正常な蛋白質と比べて、細胞内での分布が異なって観察されます(図1)。これにより、私達は分子シャペロン薬により治療できる可能性のある遺伝子変異を複数確認しました。



一方で、同じ*ABCA12*の変異でも、細胞内分布が変化しないものもありました。これらの遺伝子変異は*ABCA12*の折りたたみは障害しないものの、タンパクの重要な機能部位そのものが変化して機能が失われていると考えられました。このような場合は、残念ながら今回の研究テーマである分子シャペロン薬での治療は困難と考えられます。しかし、折りたたみ異常による機能障害の場合は、分子シャペロン薬により折りたたみを正しくすれば、蛋白質は元の機能を発揮する事がこれまでの研究により示唆されています。

折りたたみ異常を起こして、小胞体にとどまっていた変異*ABCA12*に、分子シャペロン薬の一つである4PBAを投与すると、細胞内での分布が正常化する事が分かりました(図2)。

現在我々は、4-PBAの投与により分布が正常化した変異*ABCA12*が、実際に本来の機能を果たしている事を証明する実験を進めています。*ABCA12*の機能は細胞内での脂質の輸送ですが、この輸送が正しく行われている事を、人工的に失われたマウスのケラチノサイトと蛍光を発する色素を用いて、確認する実験系を作成しました(図3)。変異*ABCA12*の機能が分子シャペロン薬で回復する事を、この実験方法によって確認している所です。

② 実際の病気のメカニズムを精確に反映した、先天性魚鱗癬様紅皮症モデルマウスを作成する。

③ 分子標的薬により、モデルマウスの症状が改善する事を確認する。

新しい治療法を開発する為には、病気のメカニズムを精確に反映した動物モデルが欠かせません。残念ながら、先天性魚鱗癬様紅皮症においては、このようなモデルが存在しない為、治療に関する研究が進んでいないのが現状です。私達はこの状況を打破するため、独自のモデルマウス作製を行っています。

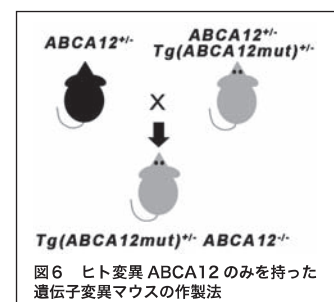
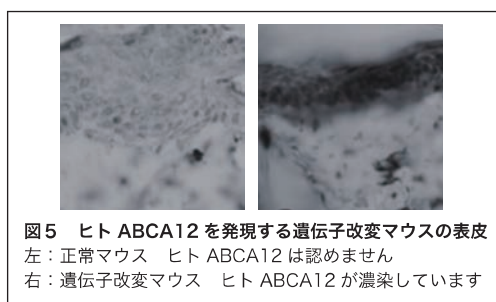
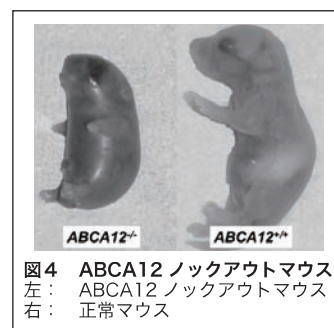
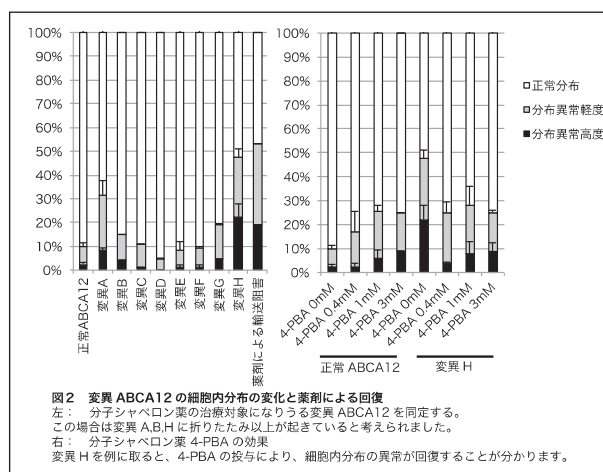
マウスの*ABCA12*を遺伝子操作により破壊して、*ABCA12*が完全に失われたマウス(*ABCA12*ノックアウトマウス)を作製しました。このマウスは最重症の遺伝性角化異常症である、道化師様魚鱗癬という疾患のモデルマウスとなるのですが、生後すぐに死んでしまいます(図4)。一方で私達は遺伝子操作により、人の*ABCA12*を人工的に発現するマウスも作製しております。これらのマウスを掛け合わせることで、ヒトの*ABCA12*がマウスの*ABCA12*の代わりに機能して、生き続けるマウスを作る事を作ります。既に一度このような実験を試みたのですが、人工的に発現させたヒト*ABCA12*の発現量が少なく、うまく行きませんでした。幸いなことに、新たにヒト*ABCA12*の発現の強いマウスを作成することができ、これにより次のステップに進むことができると考えています(図5)。

今後は、①で分子シャペロン薬の治療対象として可能性のある遺伝子変異のある*ABCA12*を発現する遺伝子改変マウスを作り、同じような実験をします(図6)。先天性魚鱗癬様紅皮症の遺伝子変異では、*ABCA12*の機能異常は有るのですが完全に失われている訳ではないため、生まれてくるマウスも生存する事を予想しています。このように実際の患者さんと全く同じ皮膚病態をもつマウスを用いて分子標的薬の効果を確かめる予定です。

【今後の課題と展望】

一般にモデルマウスを用いた実験は時間がかかりますが、この研究が、実際に患者さんの利益になる日が来る事を信じて今後も研究を進めていきます。4PBAを始め、分子シャペロン薬には実際に薬として使用できそうな薬剤がありますので、私達も期待を持って研究に進進しております。

また、この研究に関わらず、私達の研究室では広く先天性魚鱗癬の臨床的、基礎的研究を行っています。難病にお悩みの患者様のご期待に添えるよう、今後とも尽力いたします。



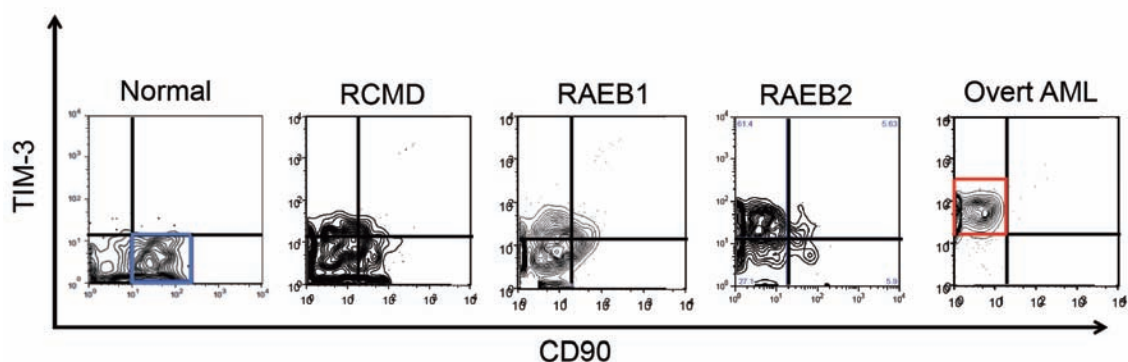
骨髓異形成症候群の病態および病期進行に関与する 異常幹細胞クローンの研究

九州大学医学部病態修復内科 日本学術振興会特別研究員 菊繁 吉謙



骨髓異形成症候群（Myelodysplastic syndromes: MDS）は、造血幹細胞レベルで獲得された遺伝子異常群に起因する無効造血、および分化障害による血球形態異常を特徴とする疾患です。MDSは、多くの症例で急性骨髄性白血病（acute myelogenous leukemia: AML）に移行するため、前白血病状態としての性格も併せ持っています。MDSは高齢者に頻発し、高齢化社会を迎える現在において、特に新規治療法開発への期待が高い疾患群であり、我々は、このMDSの病期進行に関して、異常造血幹細胞と正常造血幹細胞を分離し、異常な造血幹細胞の生物学的な特徴を明らかにするべく、研究を行っています。我々は、これまでにAMLにおける腫瘍の本体ともいえる自己複製能力を有する腫瘍性幹細胞である白血病幹細胞（leukemic stem cells: LSCs）がTIM-3という分子を細胞表面に高発現し、治療標的になりうることを報告しています（Kikushige et.al, Cell Stem Cell 7, 2010）。TIM-3は正常造血幹細胞にはその発現が認められない分子であり、異常な白血病幹細胞と正常な造血幹細胞を分離することが可能ではと考え、本研究においてもTIM-3をマーカーとして異常造血幹細胞の分離に取り組んでいます。我々は、多数のMDS症例において、その病期別に、CD34陽性CD38陰性造血幹細胞分画のTIM-3発現を解析しました。図1に代表的なマルチカラーフローサイトメーターのデータを示します。TIM-3陽性細胞は、芽球の増加していない多血球系異形成を伴う不応性血球減少（Refractory cytopenia with multilineage dysplasia: RCMD）では、CD34陽性CD38陰性分画に一部のみ存在しますが、芽球の増加、すなわち、MDSの病期進行（RCMD→RAEB1→RAEB2）に伴い、CD34陽性CD38陰性幹細胞分画内でTIM-3陽性異常細胞の割合が増加し、急性骨髄性白血病に移行する（Overt AML）と、幹細胞分画はTIM-3陽性の白血病幹細胞で完全に占められていることを見出しました。

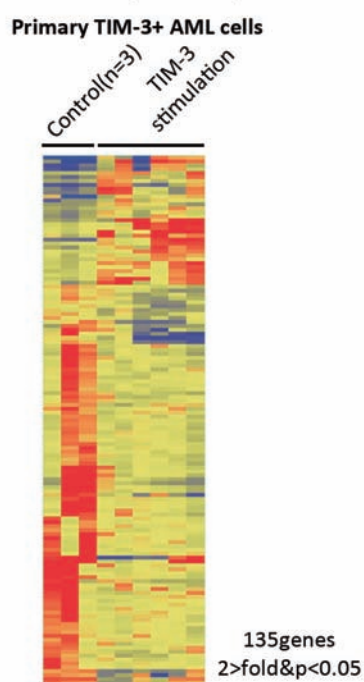
図1 CD34⁺CD38⁻分画におけるTIM-3発現



現在では、解析症例を増やして同様の研究を行っていますが、TIM-3を発現する異常な表面形質を有する幹細胞の割合は有意にMDSの病期進行に伴って上昇していることを確認しています。これらのデータは、TIM-3が白血病への進展に何らかの寄与をしている機能的な分子である可能性を示唆しているものと我々は考えました。そこで現在では、TIM-3分子を表面マーカーとして用いて、正常造血

幹細胞と異常造血幹細胞をFACSにより分離し、その遺伝子発現を解析する研究に加えて、TIM-3自体の異常造血幹細胞における機能を解明するべく研究を行っています。左図にマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析の結果を示します。TIM-3を発現するAML細胞において、TIM-3刺激を行いどのような遺伝子発現変化が生じるかを検討しました。その結果、TIM-3刺激によりTIM-3陽性AML細胞において、いくつかの重要な転写因子群の遺伝子発現が有意に変化することを見出しました。即ち、TIM-3は単なる表面抗原ではなく、MDSあるいは、AMLにおいて白血病幹細胞にとって機能的な分子であることが示唆されました。現在は、MDSにおける解析と合わせて、TIM-3分子自体の機能解析も行っています。

Microarray analysis



本研究は、難病医学研究財団平成24年度医学研究奨励助成事業からのサポートを頂き遂行することができました。貴重な援助を頂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にこの場をお借りして深く感謝申し上げます。



特発性肺線維症における制御性T細胞の役割の解明

京都大学大学院医学研究科呼吸管理睡眠制御学講座 特定助教 谷澤 公伸



研究の背景と目的

特発性肺線維症（IPF）は原因不明の肺の線維増殖性疾患である。有効な薬物療法が確立されておらず、診断後の平均余命は2.5～3.5年と予後不良である。IPFの経過は、線維化による慢性進行とともに、「急性増悪」と呼ばれる急激な悪化によって特徴付けられる。急性増悪の発症率は5-15%/年、致死率は40-90%と高く、IPFの主たる予後因子である。IPF患者の予後を改善するためには、急性増悪の病態解明が不可欠である。近年、慢性期IPF患者において制御性T細胞の機能不全と進行性の線維化の関連が報告されているが、制御性T細胞と急性増悪の関連は明らかにされていない。本研究では急性増悪の発症および発症における制御性T細胞の役割を解明することを目的とし、併せて類縁疾患との比較や後ろ向きの臨床研究によりIPFや急性増悪の病態を多角的に検討することを目指した。

研究の方法と成果

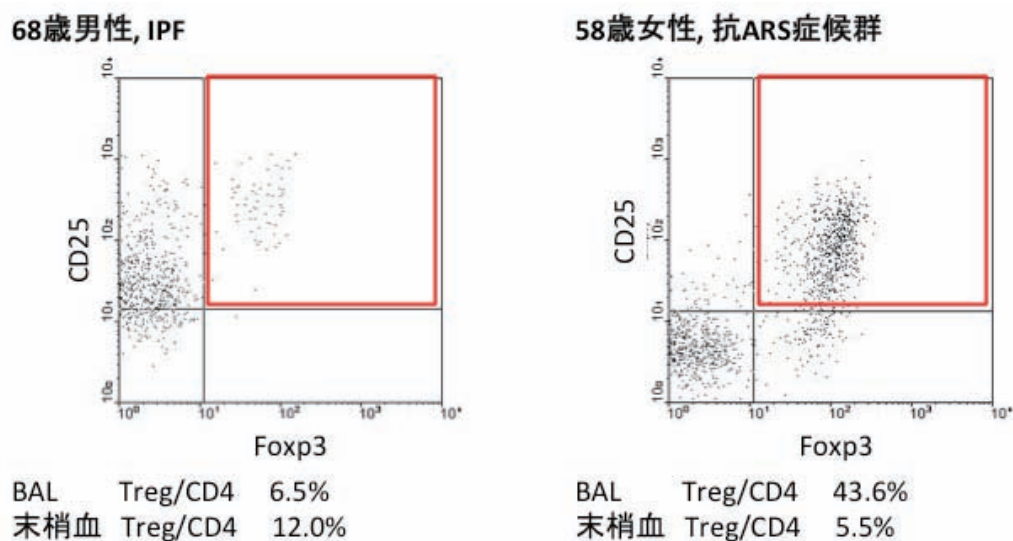
1. IPFの慢性期および急性増悪患者を対象とした前向き研究

京都大学医学部附属病院に外来通院中または入院したIPFの慢性期および急性増悪患者を対象に、制御性T細胞を分離および解析可能な状態で、末梢血検体を採取、保存している。気管支肺胞洗浄（BAL）を行った症例では、BAL液も同様に集積している。現在は2年間の登録期間中であり、登録後3年間の経過観察を行い、その間の急性増悪の発症や転帰を追跡することで、制御性T細胞が急性増悪の発症やその予後に果たす役割を解明する予定である。

2. IPFと抗ARS症候群における制御性T細胞の比較研究

抗ARS抗体は多発性筋炎または皮膚筋炎に特異的な自己抗体の一群であるが、筋炎を発症していない一部の慢性間質性肺炎においても検出され、抗体陽性の筋炎または間質性肺炎は抗ARS症候群と総称される。私どもは、特発性間質性肺炎とされてきた症例の6.6%が抗ARS症候群であり、抗ARS症候群は画像および病理学的にはIPFと異なることを報告してきた（Watanabe K, et al. Respir Med. 2011;105:1238-47）。このようなIPFと抗ARS症候群の異なる病像に制御性T細胞が関与しているとの仮説のもと、IPFおよび抗ARS症候群のBAL細胞成分および外科的肺生検の保存検体を用いて、マイクロアレイ法による遺伝子発現の網羅的解析を行っている。予備的なFACS解析では抗ARS症候群のBAL液において制御性T細胞が増加していた（図1）。

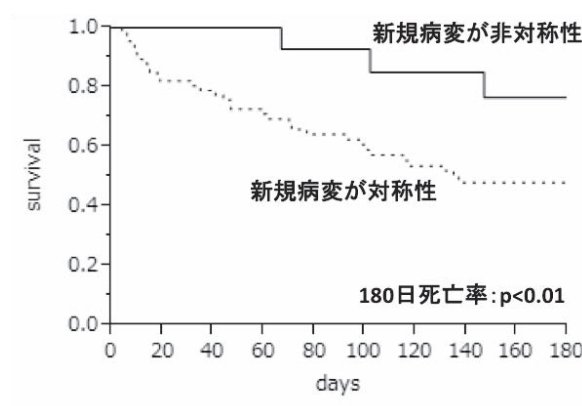
図1 IPFと抗ARS症候群のBALおよび末梢血によるFACS解析



3. 慢性間質性肺炎急性増悪における予後因子の後ろ向き解析

2006年～2013年に京都大学医学部附属病院に入院した慢性間質性肺炎急性増悪患者85例を対象に予後因子の後ろ向き解析を行った。多変量解析では低酸素血症（予後不良）、新規病変の非対称性の分布（予後良好）が予後因子であった（図2、2014年欧州呼吸器学会で発表予定）。

図2 慢性間質性肺炎急性増悪の予後解析：新規病変の非対称性分布は予後良好因子



結 語

IPFの慢性期および急性増悪患者を対象とした前向き研究は慢性呼吸器疾患の転帰を扱う臨床研究であり、現在も症例集積と臨床経過の観察を継続している。一定数の症例集積および経過観察を待って、解析を行う予定である。抗ARS症候群との比較研究、急性増悪の予後解析と併せて、IPFおよびその急性増悪の病像、病態の多面的な解明を継続していく所存である。本研究は平成24年度医学研究奨励助成金のサポートによって行いました。貴重な援助をいただいた公益財団法人難病医学研究財団の関係者の皆様、寄付をいただいた方々に心より感謝申し上げます。

4

平成26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 38件
- (2) 臨床枠 18件
- (3) 採択予定件数 一般枠と臨床枠合わせて10件
- (4) 受賞者選考結果は平成26年11月上旬申請者等に通知する。
- (5) 贈呈式 平成27年1月15日(木)

5

平成26年度厚生労働科学研究(難治性疾患等克服研究(難治性疾患等実用化研究))
推進事業における研究発表会、シンポジウムの開催について

今年度、厚生労働省より、厚生労働科学研究における難治性疾患等克服研究(難治性疾患等実用化研究))推進事業を受託し、その事業の一環として下記の研究発表会、シンポジウムを開催いたします。

- (1) 「研究発表会」 これからの難病研究 ～新しい治療法の開発～

【開催日時】 平成27年1月25日(日) 13:00～17:30(開場12:30)

【対象】 患者さんおよびご家族、難病に関わる研究機関、行政機関、
その他一般の方々

【会場】 JA共済ビル「カンファレンスホール」
東京都千代田区平河町2-7-9

【定員】 400名(入場無料)

- (2) 「アレルギーシンポジウム」子どものアレルギー疾患を克服しよう!

【開催日時】 平成27年2月8日(日) 9:30～12:30(開場9:00)

【対象】 患者さんおよびご家族、医療・保健・学校関係者

【会場】 東京千駄ヶ谷「津田ホール」
東京都渋谷区千駄ヶ谷1-18-24

【定員】 480名(入場無料)

- (3) 「リウマチシンポジウム」リウマチ診療はここまで進歩した!

開催日時】 平成27年2月8日(日) 13:30～16:30(開場13:00)

対象】 患者さんおよびご家族、医療・保健・学校関係者

会場】 東京千駄ヶ谷「津田ホール」
東京都渋谷区千駄ヶ谷1-18-24

定員】 480名(入場無料)

これからの難病研究 ～新しい治療法の開発～

これからの難病研究 ～新しい治療法の開発～

プログラム

○ はじめに 13:05 ～ 14:00

国の難病対策について

厚生労働省健康局疾病対策課

難病情報センターによる難病情報の提供の現状と展望

宮坂 信之（難病医学研究財団難病情報センター 運営委員長 / 東京医科歯科大学 名誉教授）

○ 第1部 14:10 ～ 15:40

座長 福島 雅典（公益財団法人先端医療振興財団 臨床研究情報センター長 / 京都大学 名誉教授）

講演 1. iPS細胞を用いた循環器疾患の病態解明と治療法開発への展望

福田 恵一（慶應義塾大学医学部循環器内科 教授）

講演 2. 産学官の連携による難治性疾患治療薬開発における課題点について

稲垣 治（日本製薬工業協会医薬品評価委員会 委員長）

講演 3. アカデミアにおける難病に対する医薬品・医療機器の進捗状況

福島 雅典（公益財団法人先端医療振興財団 臨床研究情報センター長 / 京都大学 名誉教授）

○ 第2部 16:00 ～ 17:30

座長 宮坂 信之（難病医学研究財団難病情報センター 運営委員長 / 東京医科歯科大学 名誉教授）

講演 4. 難治性神経疾患における病態機序解明と治療法開発への展望

水澤 英洋（独立行政法人国立精神・神経医療研究センター病院 院長 / 東京医科歯科大学 特任・名誉教授）

講演 5. 培養腸上皮幹細胞を用いた難治性炎症性腸疾患治療法の開発

渡辺 守（東京医科歯科大学消化器内科 教授）

講演 6. 難病治療における患者連携・支援

荻野 美恵子（北里大学医学部神経内科学 講師）



アレルギーシンポジウム 子どものアレルギー疾患を克服しよう！

プログラム

司 会 河野 陽一（独立行政法人労働者健康福祉機構千葉労災病院 院長）

○ 講演Ⅰ 9:35 ～ 10:45

1. アトピー性皮膚炎の上手な外用薬の使い方

佐伯 秀久（日本医科大学皮膚科 大学院教授）

2. 子どもの喘息治療のこつ

荒川 浩一（群馬大学大学院医学系研究科小児科学分野 教授）

○ 講演Ⅱ 10:55 ～ 12:00

3. アレルギー性鼻炎の薬物療法と免疫療法

岡本 美孝（千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学 教授）

4. 食物アレルギーの食事療法の進め方

宇理須 厚雄（藤田保健衛生大学医学部 客員教授）



リウマチシンポジウム 「リウマチ診療はここまで進歩した！」

プログラム

司 会 宮坂 信之（東京医科歯科大学 名誉教授）

○ 講演 13:30～15:30

1. 薬剤師からみた安全なクスリの使い方とは？

酒井 良子（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科薬害監視学講座 寄附講座助教）

2. リウマチの早期診断・早期治療とは？

川上 純（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座（第一内科）教授）

3. 関節破壊は止められるのか？

田中 良哉（産業医科大学第1内科学 教授）

4. リウマチの手術とリハビリ

田中 栄（東京大学大学院医学系研究科整形外科学 教授）

○ パネルディスカッション 15:50～16:30

テーマ：リウマチ治療の更なる展望

コーディネーター 宮坂 信之（東京医科歯科大学 名誉教授）

パネリスト／

酒井 良子（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科薬害監視学講座 寄附講座助教）

川上 純（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座（第一内科）教授）

田中 良哉（産業医科大学第1内科学 教授）

田中 栄（東京大学大学院医学系研究科整形外科学 教授）

長谷川三枝子（公益社団法人日本リウマチ友の会 会長）

参加を希望される皆さまへ

下記の方法にて事務局までお申込みください。

● インターネットでお申込みの場合

ホームページ <http://www.sympto.jp.net> にアクセスしていただき、申込みページよりお申込みください。

● ファックスでお申込みの場合

必要事項をご記入の上、FAX(03-3552-4178)までお申込みください。

● ハガキでお申込みの場合

ハガキに必要事項をご記入の上、下記宛先にご郵送ください。
株式会社ウィアライブコンベンション事業部内
難病医学研究財団 公開講座事務局
〒104-0041 東京都中央区新富 1-12-4
シーラカンスビル 8 階

応募必要事項

御希望される研究発表会・シンポジウム名、お名前（ふりがな）、性別、年齢、職業、郵便番号、住所、電話番号
※講演内容に関連する質問事項がある方は、ご記入ください。
※ E-mail アドレスがございましたら、ご記入ください。

お問い合わせ

難病医学研究財団 公開講座事務局

TEL：03-6693-2842

※受付時間：平日 午前 9 時 30 分～午後 6 時

賛助会員へのご加入及びご寄付のお願い

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様からの善意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、規程に基づき当財団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 申込書のダウンロードが 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》 コヒサビイソホクソ 公益財団法人 ナヒヨウホクホクホクホク 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	当財団ホームページ 「ご寄付のお申込連絡」 または寄付申込書 (ご送付いたします) ※当財団ホームページから お申込の連絡や申込書の ダウンロードができます	

◎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

〒101-0063 東京都千代田区神田淡路町 1 丁目 7 番地
ひまわり神田ビル 2F

電 話 03 - 3257 - 9021

<http://www.nanbyou.jp>

【難病情報センター】

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