

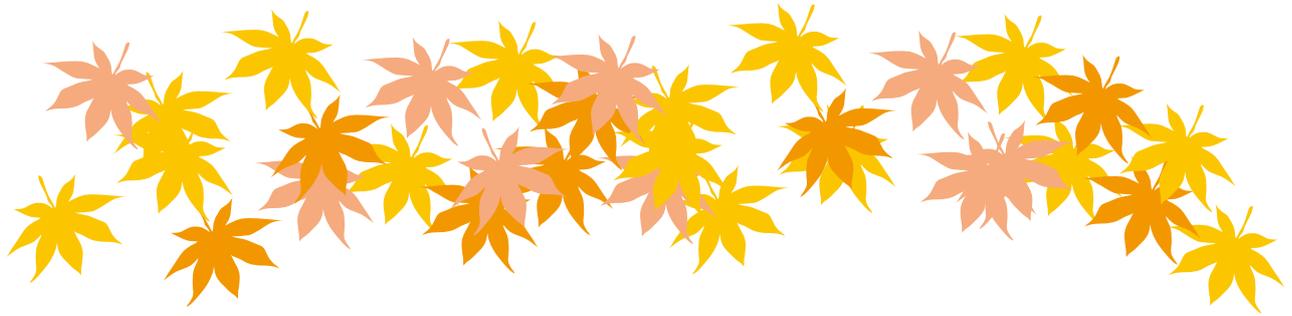
No. 43  
2015.10

# 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「難病財団 評議員退任のご挨拶」 前評議員 小林 登 .....	3
1. 平成25年度医学研究奨励助成金受賞者の研究報告概要 .....	4
2. 平成26年度医学研究奨励事業の応募状況について .....	26
3. 難病相談支援センターの活動状況 群馬県難病相談支援センター 難病相談支援員 川尻 洋美 .....	26
4. 厚生労働省健康局の組織再編について .....	28
5. 疾病ミニ解説「全身性アミロイドーシス」 .....	29







## 「難病財団 評議員退任のご挨拶」

公益財団法人難病医学研究財団

前評議員 小林 登

(東京大学 名誉教授、国立小児病院 名誉院長)

1970年に私、東大小児科教授になって間もない頃、厚生省の仲村局長（当時課長）からお電話をいただいた。厚生省が新しい課を作り、難病対策を始められるという。ついては、子どもに難病はあるか、という問い合わせであった。すぐに「原発性免疫不全症」があると申し上げた。免疫不全で感染を繰り返しているうちに、免疫異常をおこし、膠原病やアレルギーなどの難病になる病気である。

当時厚生省は、健康保険制度でカバーするのに困難な疾患の支援を次々と検討しておられた。私も厚生省母子保健課の小児慢性疾患の支援事業のお手伝いをしていたので、この新しい動きには感激した。そして、「原発性免疫不全症」の班長として、難病支援事業のお手伝いを始めたのが、難病財団とのご縁の始まりである。

その昔、多くの子どもが感染症でなくなっていた。第二次世界大戦後、医療・保健・衛生や栄養状態が改善してきたにもかかわらず、感染症で死亡する子どもたちの中に、免疫機能が不良のためなくなる子どもたちの数が少なくない事が明らかになってきた。第二次世界大戦後の低さらに無グロブリン血症の様な「原発性免疫不全症」など、アメリカ小児科医がみつげられたことによる。1980年代に入り、胸腺を柱にしてTcell / Bcellのリンパ球の細胞システムとして免疫系が体系づけられるとともに、アレルギー・自己免疫など免疫異常への考え方が拡大された。そんな中、財団のご支援で国際シンポジウムを開くことになり、難病という漢字で書いたスライドを使って、我が国の難病研究の歴史を説明したこと、世界的に著名な小児免疫学者を何人も招いた会議だったことと共に、懐かしく思い出す。

難病財団が長年にわたり国内の臨床研究者の支援をされていることは実にすばらしく、意義あることで、私も財団にお世話になり、小児免疫学者として研究意欲を促進され、大いに勉強になった。

難病財団が今後とも末永くご発展されることを心より祈念し、退任のご挨拶と代えさせていただきます。

## ⇨ 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「臨床枠」を新設した。

### 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25年度は、一般枠へ28名、臨床枠へ18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38回贈呈式

平成26年1月16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	佐藤 敏信 殿
	上智大学 名誉教授	青木 清 殿
(5) 受賞者代表謝辞	東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野	
	助教	若尾 昌平 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25年度（第38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)

- インターフェロンシステムを視点としたクロイツフェルトヤコブ病の病態メカニズムの解析および治療法の開発  
〔石橋 大輔 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学 助教〕  
研究対象疾患：クロイツフェルトヤコブ病 (CJD)
- IBD制御を見据えた食餌鉄依存的な制御性ミエロイド細胞の分化および活性化制御機構の解明  
〔香山 尚子 大阪大学大学院医学系研究科免疫制御学 助教〕  
研究対象疾患：炎症性腸疾患 (IBD)
- ベーチェット病発症に関わる炎症性サイトカインの産生制御機構の解明  
〔齊藤 達哉 徳島大学疾患酵素学研究センターシグナル伝達と糖尿病研究部門 教授〕  
研究対象疾患：ベーチェット病
- 生体イメージングによる特発性血小板減少性紫斑病の病態解析と新規診断治療標的の確立  
〔西村 智 自治医科大学分子病態治療研究センター分子病態研究部 教授  
(東京大学循環器内科・J S T さきがけ (兼務))]〕  
研究対象疾患：特発性血小板減少性紫斑病
- ヒト生体由来多能性幹細胞 Muse細胞を用いた劇症肝炎の治療開発と組織修復機構の解明  
〔若尾 昌平 東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野 助教〕  
研究対象疾患：劇症肝炎

### (臨床枠)

- 患者特異的iPS細胞を用いた加齢黄斑変性の新規発症予防法開発研究  
〔池田 華子 京都大学医学部附属病院臨床研究総合センター網膜神経保護治療プロジェクト 准教授〕  
研究対象疾患：加齢黄斑変性
- 小児骨髄異形成症候群の病態に関与するゲノム基盤の同定  
〔加藤 元博 東京大学医学部附属病院無菌治療部 講師〕  
研究対象疾患：小児骨髄異形成症候群
- ベーチェット病の感受性遺伝子探索と機能解明  
〔桐野 洋平 横浜市立大学附属病院リウマチ血液感染症内科 講師〕  
研究対象疾患：ベーチェット病
- 高安動脈炎全ゲノム関連解析結果に基づいた機能解析と治療の試み  
〔寺尾 知可史 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 特定助教〕  
研究対象疾患：高安動脈炎
- 網膜色素変性患者における視細胞ネクロシスの関与の解明  
〔村上 祐介 九州大学大学院医学研究院眼科学 助教〕  
研究対象疾患：網膜色素変性

## インターフェロンシステムを視点としたクロイツフェルトヤコブ病の病態メカニズムの解析および治療法の開発



長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学 助教 石橋 大輔

### 【研究背景および目的】

プリオン病は、脳組織のスポンジ状（空砲）変性やグリア細胞の活性化等の病理変化に代表される特徴を持つヒトを含むヒツジ・ウシなどに見られる人獣共通の難治性の中樞神経変性疾患です。難病に指定されているヒトプリオン病のクロイツフェルトヤコブ病（以下CJD）は、疫学的な統計上では100万人に1人の割合で罹患しているとされており、未だに有効な治療法が無く、多くの罹患者は発病から1年以内に死に至るほどの急速的に進行する疾患であります。その病因としては生体内に保存されている正常型プリオン蛋白質が何らかの理由で伝播性を有する異常型プリオン蛋白質へと構造が変化し、脳内に凝集・蓄積するためとされており、脳内において不溶性蛋白質の凝集・蓄積が病因とされる他の神経変性疾患（アルツハイマー病、パーキンソン病など）と類似しています。しかしながら、異常型プリオン蛋白と考えられている“病原体プリオン”は特有の核酸（DNAやRNA）を保持していないが、蛋白質単独でウイルスや細菌と同じように宿主に感染する点では、他の神経変性疾患とは大きく異なります。CJDの約80%と大多数を占める孤発性CJDでは、脳内において異常型プリオン蛋白質の蓄積は見られるが、その根本的原因（生体内の環境変化？、体外からの侵入？）は、未知であります。興味深いことに、CJDは感染症の側面を持つにもかかわらず、生体内において異常型プリオン蛋白質に対する抗体は誘導されず、獲得免疫の応答はないとされてきました。一方、ウイルスや細菌等の病原体の感染後に生じる宿主の自然免疫の応答との因果関係については不明です。我々の研究グループは、自然免疫応答に重要な役割を持つInterferon regulatory factor 3（以下IRF3）がプリオン感染に対して保護的な役割を示すことを明らかにしたことで、病原体プリオンがIRF3によって誘導されるインターフェロンシステムの自然免疫応答により排除される機構がある可能性を報告しました（Ishibashi D., et al. *J Virol.* 2012., Ishibashi D., et al. *Prion.* 2012.）。プリオン感染の成立および生体におけるプリオン感染からの防御機構を明らかにすることは、未だ予防・治療法が全くないCJDにとってこれからの研究開発を進める上で大変大切な研究課題であると考えています。そこで、本研究課題では、これまで真偽されてきた病原体プリオンの感染病態について、宿主の自然免疫応答に注目し、機構解明することを目的として治療法開発の足がかりにすることにいたしました。

## 【研究成果と今後の展望】

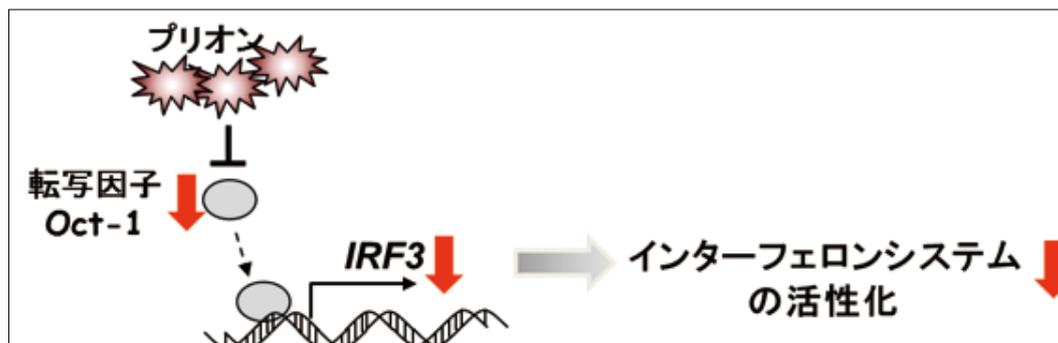
恒常的に異常型プリオン蛋白を発現し、感染性を有するプリオン持続感染細胞では、非感染の細胞に比べて、IRF3の発現が有意に低下していました。そこで、この発現低下の要因を探るべくIRF3の転写活性に着目して研究を進めました。本研究課題では、IRF3の転写活性領域の新規同定、その領域に作用すると推測される主要な転写因子の特定、さらにその転写因子のプリオン感染における影響を明らかにしました (Homma T., Ishibashi D., et al. *Sci rep.* 2014.)。結果としてP、病原体プリオンはIRF3を誘導する転写因子の発現を低下させることによって、その発現を減少させ、最終的に宿主のIRF3を介したインターフェロンシステムの自然免疫機構を低下させることによって感染を成立させているのではないかと考えています (下図)。現在、我々は、この自然免疫機構を活性化させることで病原体の感染を回避できるのではないかと考え、クロイツフェルトヤコブ病の根治に繋がることを期待して、日々治療法の開発に取り組んでいます。今後も、疾患の病態解明を明らかにし、これまでに無い実用化に向けた新たな予防・治療法の研究開発を行っていく予定です。

## 【謝 辞】

本研究を遂行するにあたり、多大な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に心より感謝申し上げます。

## 【成果論文】

1. Homma T, Ishibashi D, Nakagaki T, Satoh K, Sano K, Atarashi R, Nishida N. Increased expression of p62/SQSTM1 in prion diseases and its association with pathogenic prion protein. *Scientific Reports*. 2014 Mar 28;4 : 4504. doi : 10.1038/srep04504.
2. Homma T, Ishibashi D, Nakagaki T, Fuse T, Sano K, Satoh K, Atarashi R, Nishida N. Persistent prion infection disturbs the function of Oct-1, resulting in the down-regulation of murine interferon regulatory factor-3. *Scientific Reports*. 2014 Aug 8;4 : 6006. doi : 10.1038/srep06006.



## IBD制御を見据えた食餌鉄依存的な制御性ミエロイド細胞の分化および活性化制御機構の解明



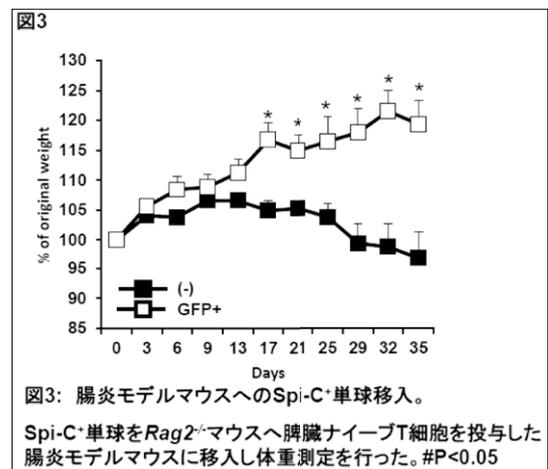
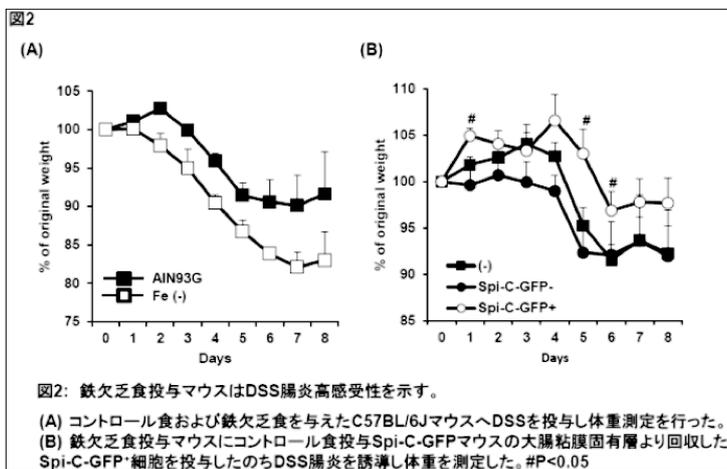
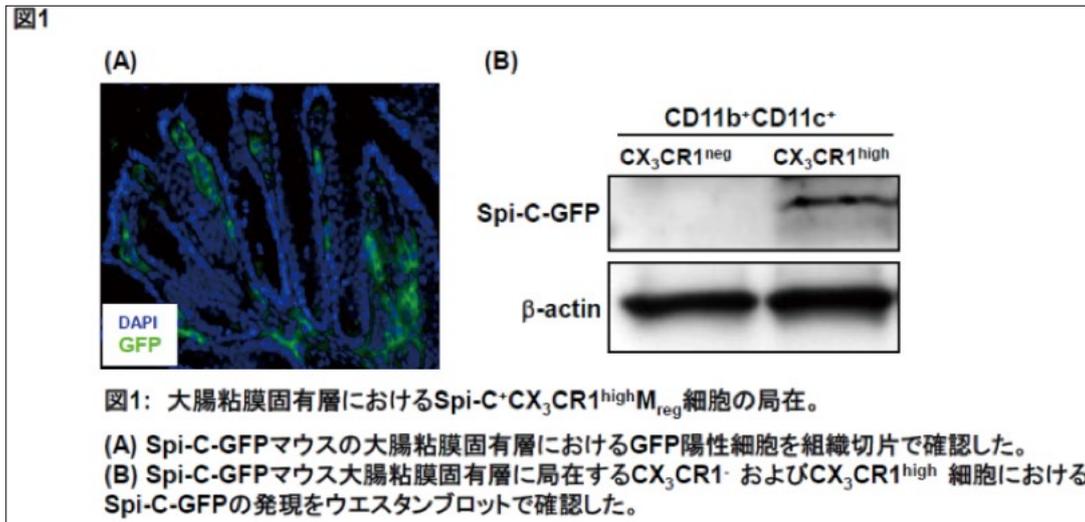
大阪大学大学院医学系研究科免疫制御学 助教 香山 尚子

### 【目的】

クローン病および潰瘍性大腸炎といった慢性炎症性腸疾患（IBD）は我が国で急激に増加している難治性疾患であり、病因の究明および効果的治療法の開発が望まれている。これまでに、Th1/Th2バランスの破綻によるT細胞の機能異常や、Th17細胞の活性化がIBDの病態に深く関わっていることが解明されている。しかし、根本的な原因解明・有効な治療薬の開発には至っていない。近年、自然免疫系の活性異常がIBDをはじめとする炎症性疾患の発症に深く関与することが報告されている。マウス腸管粘膜固有層ではいくつかの自然免疫細胞サブセットが同定されるとともに、それらの細胞が多様なメカニズムにより腸内常在細菌や病原性細菌に対する免疫応答を制御することで腸管免疫系の恒常性維持に寄与することが明らかとなっている。申請者はこれまでに、腸管粘膜特異的に局在する自然免疫細胞であるCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>制御性ミエロイド（Mreg）細胞を同定するとともに、その活性異常がマウスの腸炎発症に深く関与することを明らかにしている。本申請研究では、制御性ミエロイド細胞の分化誘導機構を明らかにするとともに、得られた知見を基にIBDに対する新規治療法開発の基礎基盤提供を目指し検証を行った。

### 【結果】

申請者はこれまでに、腸管粘膜固有層特異的に局在するCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>Mreg細胞がエフェクターT細胞の増殖を抑制することにより腸管炎症を抑制することを明らかにしている。DNAマイクロアレイ解析により腸管自然免疫細胞においてCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>Mreg細胞特異的に転写因子Spi-Cが高発現していることが明らかとなった。また、Spi-C-GFPマウスの解析からもCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>Mreg細胞においてSpi-Cが発現することが示された（図1）。近年、鉄依存的なSpi-Cの発現誘導機構が報告されたことより、食餌鉄依存的なSpi-Cの発現がMreg細胞の分化および生存維持に機能することで腸管免疫系の恒常性維持に寄与するかを解析した。その結果、食餌鉄の欠乏によりCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>Mreg細胞が減少するとともにDSS腸炎に対する感受性が高まることが明らかとなった（図2A）。さらに、鉄欠乏食投与マウスにコントロール食投与マウスより回収したCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>Mreg細胞を移入するとDSS腸炎抵抗性を示すことが明らかとなった（図2B）。これにより、食餌鉄依存的なCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>Mreg細胞維持機構が腸管免疫系の恒常性維持において重要な役割を果たすことが示唆された。また、Spi-C-GFPマウスの解析により血中単球の一部にSpi-Cを発現する集団が存在することを見出した。そこで、Spi-C<sup>+</sup>単球をRag2<sup>-/-</sup>マウスへ脾臓ナイーブT細胞を投与した腸炎モデルマウスに移入したところ腸管炎症に伴う体重減少が劇的に抑制された（図3）。これらの結果より、末梢血中のSpi-C<sup>+</sup>単球が腸管組織に動員され、食餌由来の鉄によりSpi-Cの発現が上昇することでCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>Mreg細胞の分化もしくは生存が維持されることが腸管恒常性の維持につながることを示唆された。



## 【今後の展望】

今後の研究では、Spi-C欠損マウス (CD11b-cre; Spi-C<sup>flox/flox</sup>, Lys-M-cre; Spi-C<sup>flox/flox</sup>) の解析を通して腸管恒常性維持機構におけるSpi-C依存的CX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>M<sub>reg</sub>細胞の重要性を明らかにする。また、食餌鉄がM<sub>reg</sub>細胞の分化・生存に関与する際の詳細な分子機構についてSpi-Cの発現制御を中心に解明を試みる。さらに、Spi-C-GFPマウスの解析により、Ly-6C<sup>low</sup>単球にSpi-Cが発現することを確認している。これまでの報告により、骨髄Ly-6C<sup>+</sup>単球が腸管CX<sub>3</sub>CR1<sup>+</sup>細胞に分化することが明らかになっているが、末梢血Ly-6C<sup>low</sup>単球に関しては解析が行われていない。本申請研究では、Ly-6C<sup>+</sup>単球から分化したLy-6C<sup>low</sup>単球が腸管粘膜固有層においてCX<sub>3</sub>CR1<sup>high</sup>M<sub>reg</sub>細胞に分化するかを明らかにする。

## 【謝 辞】

本研究の遂行にあたり多大なご支援を受け賜りました公益財団法人難病医学研究財団の皆様、ご寄付をいただいた方々に厚く御礼を申し上げます。

# ベーチェット病発症に関わる炎症性サイトカインの 産生制御機構の解明



徳島大学疾患酵素学研究中心シグナル伝達と糖尿病研究部門 教授 齊藤 達哉

## ■研究背景

ベーチェット病 (Behcet's disease) は、口腔内アフタ性潰瘍、外陰部潰瘍、皮膚病変および眼病変を主症状とする慢性再発性の全身性炎症性疾患です。日本国内の特定疾患医療受給者数は18000人を超えており、ベーチェット病の発症要因の解明は急務となっています。近年のベーチェット病に関するGWAS (Genome Wide Association Study) の成功により、この難病の発症要因の解明に光明が差しつつあります。GWASにより、MEFV、TLR4、NOD2といった自然免疫に関連する因子群のSNP (Single Nucleotide Polymorphism) がベーチェット病の発症率と相関することが明らかになりました。また、自然免疫に関連するパターン認識受容体であるNLRP3を活性化する*Streptococcus sanguinis*などの口腔内レンサ球菌の感染が、ベーチェット病の発症リスクとなることが以前から提唱されています。一連の解析結果は、自然免疫機構によるサイトカインの過剰な産生が炎症を強く惹起し、ベーチェット病の発症につながることを示唆しています。実際に、ベーチェット病の治療において、炎症性サイトカインであるIL-1 $\beta$ の受容体に対するアンタゴニストの投与が著効を示すケースが報告されています。本来、自然免疫は私たちが病原体の感染から守るための防御機構として働くものです。しかしながら、遺伝的な素因や環境的な素因が重なることにより自然免疫が誤って慢性的に活性化し、ベーチェット病の発症要因となる可能性があるのです。よって、ベーチェット病の発症に深く関わる自然免疫機構を介したIL-1 $\beta$ の産生メカニズムを解明することが、ベーチェット病を理解し、より優れた治療法の開発を進めるために必要不可欠であると考えられます。

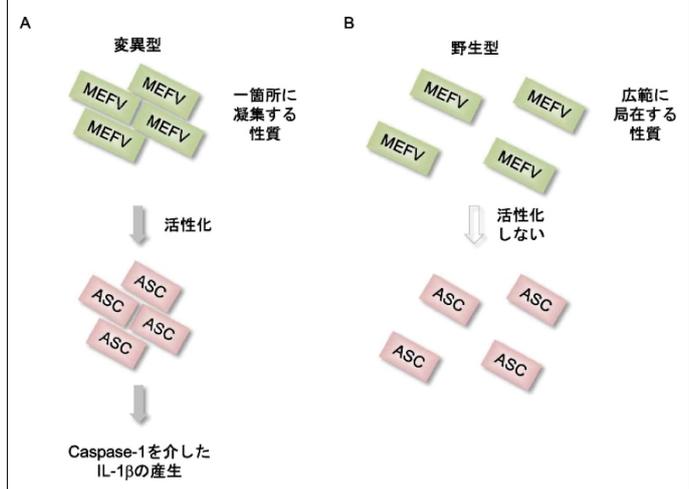
## ■研究概要

ベーチェット病の発症には、MEFVなどの自然免疫関連因子やIL-1 $\beta$ などの炎症性サイトカインが深く関わっています。また、*Streptococcus sanguinis*などの口腔内細菌の感染に応じて活性化される自然免疫機構NLRP3インフラマソームも、IL-1 $\beta$ の産生を介してベーチェット病の発症リスクとなることが強く示唆されています。本研究では、変異型MEFVやNLRP3インフラマソームによる炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ の産生メカニズムに関する解析を行い、ベーチェット病において炎症が惹起されるメカニズムの解明に取り組みました。

## ■研究成果①：IL-1 $\beta$ 産生を誘導する変異型MEFVが特殊な細胞内局在を示すことを発見

ヒトMEFV (別名: Pyrin) は、Pyrin・B-BOX・CC・SPRYの4つのドメインを有する781アミノ酸からなるタンパク質であり、

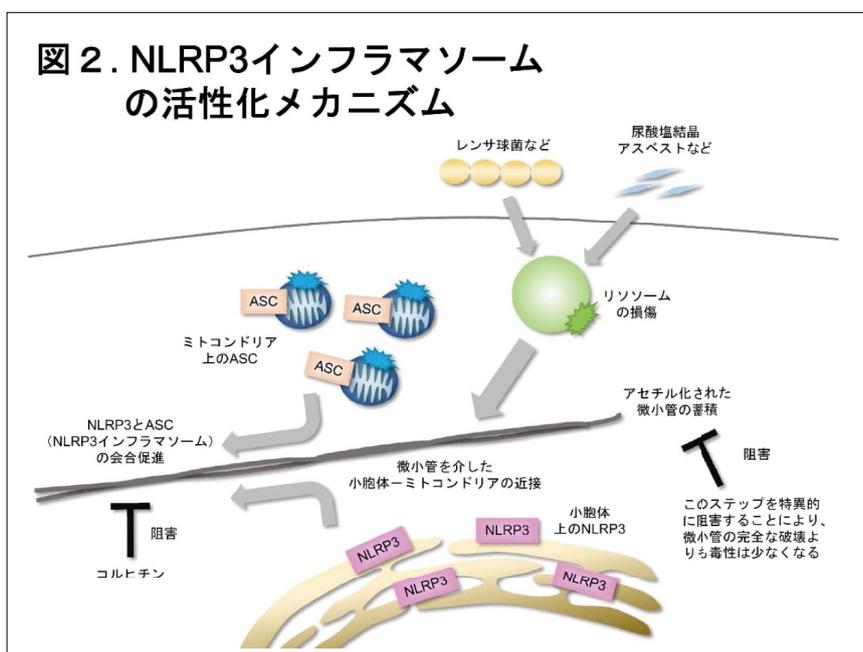
図1. 変異型MEFVによるIL-1 $\beta$ の産生誘導メカニズム



IL-1 $\beta$ などの炎症性サイトカインの産生制御に関わることが報告されています。ごく最近のGWASでは、MEFVのM694Vアミノ酸置換型となる SNPがベーチェット病の発症リスクとなることが報告されています。MEFVに関しては、情報伝達因子ASCや微小管に結合するとの報告があるものの、炎症応答制御における役割に関しては不明な点が多く残されています。そこで私たちは、M694V型を含む様々な変異型MEFVを発現するベクターを作製し、ヒト細胞株に導入してみました。本実験から、M694V型MEFVを発現する細胞はIL-1 $\beta$ を過剰に産生することが明らかになりました。また、野生型（本来の）MEFVを発現した細胞では、むしろIL-1 $\beta$ の産生は抑制されることも明らかになりました。この結果は、MEFVにM694V型の変異が導入されることにより本来の機能が失われ、悪性の性質を有するようになることを示しています。では、どのように変異型MEFVはIL-1 $\beta$ の過剰産生を引き起こすのでしょうか。詳細を明らかにするまでは至りませんでした。変異型MEFVに奇妙な性質があることを発見することが出来ました。免疫蛍光染色法と呼ばれる手法を用いて野生型MEFVが細胞内のどこに存在するかを調べた所、細胞内の様々な場所に広範に存在していました。一方で、M694V型MEFVは細胞内において大きな凝集塊を形成していたのです。この凝集体を形成する性質が、IL-1 $\beta$ の過剰な産生に関わっている可能性があります（図1）。今後はより詳細な解析を行い、M694V型MEFVによる炎症の誘導メカニズムを明らかにしたいと考えています。

## ■研究成果②：NLRP3インフラソーム活性化における微小管の役割を解明

パターン認識受容体であるNLRP3は、情報伝達因子ASCやプロテアーゼCaspase-1と共にNLRP3インフラソームを形成し、炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ の産生を誘導します。このNLRP3インフラソームも、ベーチェット病の発症に関わる可能性が示されています。私たちは、NLRP3インフラソームの活性化には微小管に関わることをこれまでに明らかにしてきました。また、ベーチェット病の治療薬であるコルヒチンは、微小管の機能を阻害します。微小管とは、細胞内を走る道路のようなものであり、微小管の上を様々なものが移動します。この微小管を介した物資輸送がNLRP3インフラソームの活性化を促進しているのです。そこで私たちは、微小管を介したNLRP3インフラソーム活性化のメカニズムの解明と、コルヒチンよりも細胞毒性の低いNLRP3インフラソーム阻害化合物の同定に取り組みました（Misawa et al, *Int Immunol*, 2015）。本研究から、アセチル化と呼ばれる特殊な分子修飾を受けた微小管がNLRP3インフラソームの活性化に関わっていること、アセチル化修飾を制御することにより様々な健康増進効果を示すことで知られる植物成分であるレスベラトロールがNLRP3インフラソームを抑制することを発見しました。この結果は、微小管の機能全般を阻害する毒性の高いコルヒチンの代わりに、微小管のアセチル化を制御する化合物を用いることが炎症緩和に有効である可能性を示唆するものです（図2）。今後はより詳細な解析を行い、レスベラトロールよりも強力にNLRP3インフラソームを抑制する化合物の同定を進めていきたいと考えています。



生体イメージングによる特発性血小板減少性紫斑病の病態解析と新規診断治療標的の確立  
生体二光子イメージングにより新たな血小板産生過程を明らかに  
～インターロイキン1アルファにより制御される巨核球破裂型造血～

自治医科大学分子病態治療研究センター 分子病態研究部 教授  
東京大学循環器内科・JSTさきがけ（兼務） 西村 智



## 血小板はどのように作られるのか？ ITPの治療にむけて

特発性血小板減少性紫斑病（以下ITP）は、原因基礎疾患がないにもかかわらず、網内系を中心に血小板の破壊が亢進し、血小板減少を来す後天性疾患である。ITPの診断には骨髓穿刺は必須ではないものの、基礎疾患の除外のためにしばしば検査が行われている。また、治療としては、ステロイド投与、脾摘が行われる他、血小板数を維持できない患者では血小板輸血およびトロンボポイエチン（以下TPO）製剤が用いられるが、臨床効果は十分とはいえない症例も多い。

末梢血中の血小板数は厳密に制御されており、生理的にはほぼ変動せず一定に保たれている。一方、炎症時には急激な一過性の血小板数増加が認められ、血小板造血が促進されているとも考えられている。では、血小板はどのように骨髓巨核球からつくられ、造血はどのように制御されているのだろうか。そして、どのように大量の血小板をつくりつづけているのだろうか。巨核球からの血小板造血に関しては非常に長い議論があった。古典的に用いられている実験系である培養胎児巨核球を観察していると、非常に長い足をのばしてその先端から血小板が放出される「proplatelet」という細胞形態が存在している。培養巨核球の観察から、多くの研究者はこのproplateletが唯一の血小板造血の方法であると考えていた。一方、この形態で放出される血小板数には限りがあり、実際に生体維持に必要な血小板数を満たせない、という意見も存在していた。特に、炎症時の血小板の急激な増加を説明するには、本過程は不十分だったといえる。

では、血小板の比較的短い寿命にもかかわらず、血小板が生理的に維持され、厳密に制御されるためには何が必要だろうか。より効率的な血小板放出の過程があるのではないか、また、それらを制御する因子が存在するのではないか、と我々は考えた。培養巨核球細胞は非常に特殊であり生体を十分に再現していない可能性が高く、「生体で」血小板造血を評価する必要がある事は自明である。そこで、生体での血小板放出を顕微鏡観察により詳細に検討した。そして、本研究により血小板減少性疾患に対する、TPOにかわる治療の基礎知見が得られると考えられる。

では、血小板をつくる過程は生体ではっきりとみることはできるのだろうか？・・・骨髄の二光子イメージングにより可能になり、新しい放出過程（破裂型血小板造血）があることがわかった。

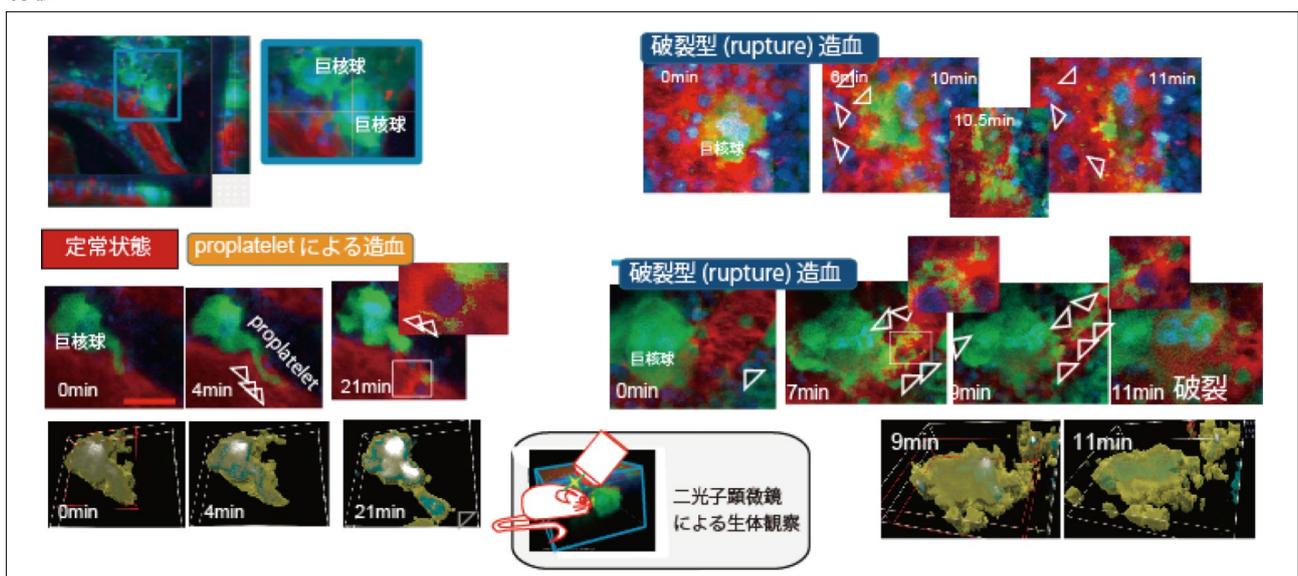
我々は、生きたマウスをみるのに特化した顕微鏡技術開発を行った。その過程で、従来は考えられなかった解像度（時間的にも空間的にも）で骨髄を観察できるようになった。そして、多くの観察を重ねるうちに、確かにproplateletという造血過程は生体でも存在するものの、放出される血小板の時間あたりの数は非常に少なく、炎症時には別の過程が存在していることがわかった。実際に、新たな血小板産生の過程があることに気付き、「巨核球が破裂して血小板を短時間にかつ大量につくる」「破裂型血小板造血」であることから、我々は「Rupture」と名付けた。定常状態では必ずしも多くない破裂型造血ですが、炎症時、あるいは、急激に血小板を除去した後には、一過性に増加していることがわかり、生体での急速な血小板要求に対応する主要な血小板産生過程と考えられた。

では、どのようにしてこの破裂型造血は誘導されるのか？我々は、さらに、巨核球を破裂させる一つの因子が炎症性サイトカインとして知られるインターロイキン1アルファであることを明らかにしている。一般的な固定概念では、「骨のなかの血小板一個一個が見えるわけがない」が、進歩した光学技術を積極的に用いることで、世界にさきがけて骨髄中の造血過程を単一血小板レベルで観察することができた。その結果、いままで議論のあった血小板放出に関し、proplateletとは違うあらたな破裂型造血が存在していること、炎症時などの急性造血に用いられていること、制御にはインターロイキン1アルファが重要であることを明らかにしている。

今後は本所見をヒトに応用し、ITPに対する特異的・低侵襲治療に役立っていく予定である。

また、本研究結果はJ Cell Biology誌に採択されている（2015. 4. 現在 in publication）。

## 骨髄イメージング



## ヒト生体由来多能性幹細胞Muse細胞を用いた劇症肝炎の 治療開発と組織修復機構の解明



東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野 助教 若尾 昌平

### 【研究背景】

肝臓は、身体に必要な物質を合成し、薬物等の身体に有害となる物質を解毒、排泄するなど、生命維持にとって重要な役割を担っている臓器である。難治性の劇症肝炎では、急激な肝細胞の破壊に伴って肝臓の機能維持が困難となり、その生存率は約30%であることから、致命的経過を示す危険度の高い疾患である。これらの治療法としては、内科的治療や部分生体肝移植が行われているが、ドナーへの感染症や死亡の可能性もあるため、決して簡単な治療法ではない。一方で、このように肝細胞が失われて肝臓が機能不全に陥った場合の治療法の一として、細胞移植による細胞の補充がある。その細胞ソースとしては、実際に失われた肝細胞を移植することが一番適していると考えられる。しかし、肝細胞はドナーからの大量採取が困難であると同時に、*in vitro*において培養すると細胞の代謝作用の機能低下等がおこり、本来の肝細胞としての性質を失うこともある。また、肝臓のstem/progenitor cellと言われているoval cellは、健常の組織にはほとんど存在せず、損傷を受けた場合に出現し、組織の再生に寄与することが知られている。しかし、oval cellの起源となる細胞について、その詳細は明らかとされていないため、この細胞を用いた細胞移植治療は現実性がない。そのため、肝障害に適した細胞ソースの探索とその応用方法の開発の必要性が迫られている。

本研究室では、培養ヒト皮膚由来線維芽細胞、骨髄由来間葉系細胞に存在する多能性幹細胞を見出し、Multilineage-differentiating stress enduring (Muse) 細胞細胞として報告した。このMuse細胞は (1). ヒト多能性幹細胞マーカーであるSSEA-3により単離可能、(2). ストレス耐性、(3). 自己複製能を有する、(4). Oct3/4やSox2、Nanogといった多能性幹細胞マーカーを発現する、(5). 一細胞から三胚葉性の細胞への分化を示す、(6). 腫瘍形成は生じないという生体由来の特異な多能性幹細胞であることを明らかとした。

### 【研究目的】

本研究では、間葉系細胞に含まれるMuse細胞およびそれ以外のnon-Muse細胞を移植することにより、四塩化炭素を用いた劇症肝炎モデルマウスにおけるそれぞれの細胞が示す作用機序を経時的に解析するとともに、Muse細胞、non-Muse細胞の様々なサイトカイン、ケモカイン等の因子による肝臓保護作用や抗炎症作用、細胞の遊走の可能性を解析することで、難治性疾患に対する細胞移植治療の可能性を検討することを目的とする。

## 【方法および結果】

Muse細胞の肝細胞系への分化能力を確認するために、*in vitro*において単離したMuse細胞から細胞塊を形成させ自発的な分化を免疫染色により確認した。その結果、肝細胞系マーカーであるDLK, AFP, CK18, CK19陽性の細胞が確認されたことから、Muse細胞は肝傷害の修復に寄与する可能性が示唆された(図.1)。次に、Muse細胞の治療効果を検証するために、四塩化炭素を腹腔内投与した劇症肝炎モデルマウスを作製し、このモデル動物から血清を回収し、*in vitro*においてMuse細胞およびその他のnon-Muse細胞の遊走試験を行った。その結果、Muse細胞は障害肝への特異的な高い遊走能を有していることが確認された(図.2)。次に、*in vivo*におけるMuse細胞の障害肝の再生への寄与を確認するために、劇症肝炎モデルマウスの尾静脈から細胞移植を行った。先の実験でモデル作製後24時間が最も遊走能しやすいことが確認されたため、モデル作製後24時間後に細胞移植を行った。その結果、血液検査では有意差は見られなかったが、Muse細胞移植群において多くの移植細胞の生着および肝細胞マーカー陽性細胞が傷害肝において認められた(図.3)。

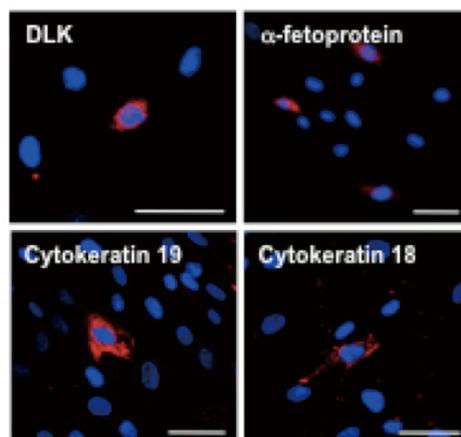


図.1 Muse細胞の肝細胞系細胞への自発的分化能

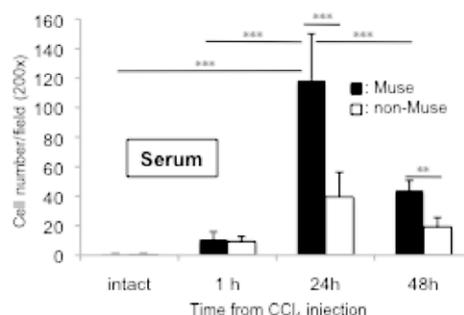


図.2 Muse細胞およびnon-Muse細胞の遊走能

## 【考察】

Muse細胞は肝細胞系への分化も示す細胞であり、障害肝への遊走能も高く、静脈投与による細胞移植に適していると考えられた。マウスに対する移植実験においても効率的な生着・分化が確認され、障害された組織の修復がみられたことから、Muse細胞移植が急性肝障害の新たな治療法になる可能性があると考えられる。

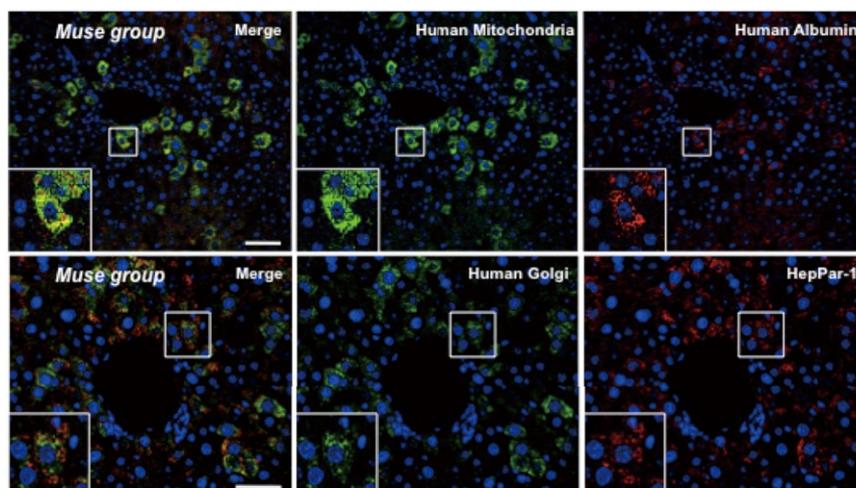


図.3 急性肝障害モデルにおけるMuse細胞移植の治療効果

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財団の関係者の方々に深く御礼申し上げます。

# 患者特異的iPS細胞を用いた加齢黄斑変性の 新規発症予防法開発研究

京都大学医学部附属病院 臨床研究総合センター  
網膜神経保護治療プロジェクト 准教授 池田 華子



## 背景

加齢黄斑変性は、網膜にある黄斑部が変性することによって、中心の視力が悪くなる病気で、現在日本において失明の4番目の原因となっています。欧米では、成人の失明原因の第一位を占めており、日本においても高齢化に伴って、患者数が増加しています。加齢黄斑変性では、網膜の色素上皮細胞が、加齢によって働きが悪くなることで、“ドルーゼン”と呼ばれる老廃物が網膜にたまり、網膜の下に新生血管が生えたり、網膜が変性してしまったりすることで視力障害がおけるとされています。また加齢黄斑変性になりやすい遺伝子多型もわかってきていますが、その発症機序は良くわかっていません。また、新生血管に対しては、近年、抗VEGF療法やレーザー治療などが発達してきましたが、いったん新生血管ができてしまうと、新生血管だけを治療しても、視力予後はよくありません。したがって、新生血管が生える、あるいは網膜が変性してしまう前に、予防的な治療を行うことが重要ですが、今のところそのような治療は存在していません。そこで、なぜドルーゼンができるのかを明らかにすることで、病気の元凶と考えられているドルーゼンに対する治療法を開発したいと考えました。

## 方法・結果

### 1) iPS細胞を用いた発症機序解明

今まで、加齢黄斑変性の発症機序の解明が進みにくかった原因として、“黄斑”は、高等な動物にしかないこと、つまり良く医学研究で使われるマウスやラットなどには黄斑がなく、しかも、マウスやラットの寿命は長くても2-3年ですので、“加齢”による変化を研究するには不向きであった、ということがありました。さらに、患者の網膜色素上皮で何が起きているのか調べるすべもありませんでした。そこで、iPS細胞に着目しました。

ドルーゼンが眼底にたくさんあり、加齢黄斑変性になるリスクの高い遺伝子多型を複数持っている患者から、同意のもと、皮膚採取を行い、iPS細胞を樹立しました。そのiPS細胞から、図1に示す方法1)で分化させたところ、一見きれいな網膜色素上皮ができることがわかりました(図2)。患者がご高齢でiPS細胞作成がかなり難しく、予定よりも作成に時間がかかってしまったため、iPS由来の網膜色素上皮を用いた諸研究は、これからが本番です。今後、患者由来の網膜色素上皮で、貪食や消化といった機能、ドルーゼン形成率などに異常があるか、を検討し、ドルーゼン形成・加齢黄斑変性のメカニズム解明を続行していきます。

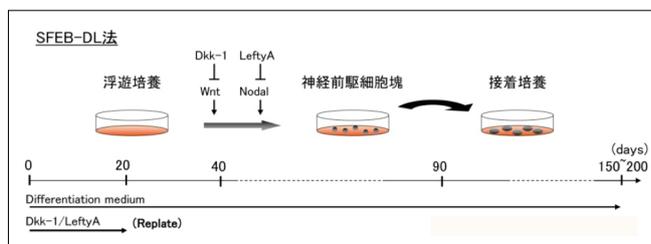


図1 iPS細胞から網膜色素上皮細胞への分化誘導

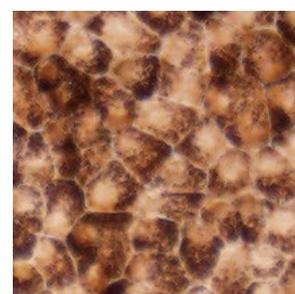


図2 患者iPSから分化させた網膜色素上皮細胞

## 2) ドルーゼン治療薬開発

近年、私たちは、VCPという蛋白質に対する阻害剤（Kyoto University Substance, KUS）を開発し、KUS剤には、網膜細胞を保護する働きがあることがわかってきました<sup>1)</sup>。このKUS剤には、網膜のストレスを軽減する働きがあることから、ドルーゼン治療にも使用できるのではないかと考えました。まず、ドルーゼン様の網膜蓄積物をもつ、CCR2欠損マウスに対して、KUS剤を投与し、ドルーゼンの数の経過を観察しました。その結果、KUS剤はドルーゼンの形成抑制効果を持つことが明らかになりました（図3）。

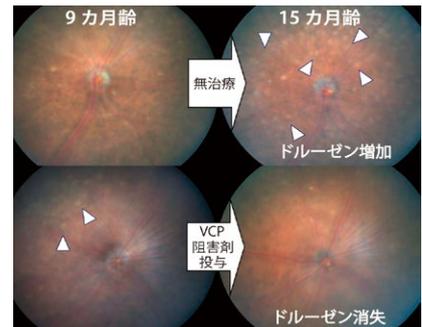


図3 ドルーゼンモデルマウスにおけるKUS剤の効果

マウスのドルーゼンは、ヒトとは少し組成が異なる、とされていますので、より人に近いサルを用いて、KUS剤を投与し、ドルーゼンが消失するか検討しました。その結果、わずかながら、ドルーゼンが消失し、少なくとも経過中ドルーゼンの増加が無いことが明らかになってきました。また、9か月にわたる長期投与において、KUS剤は特に副作用を示しませんでした。

さらに、培養網膜色素上皮細胞であるARPE19を用いて、どのような機序でKUS剤がドルーゼン形成抑制効果を示すのか検討することにしました。網膜色素上皮は、視細胞の外節という部分を毎日貪食する働きを持っています。視細胞の外節貪食能を検討したところ、KUS剤は網膜色素上皮細胞の貪食機能を亢進させる働きを持つことが明らかになってきました（図4）。

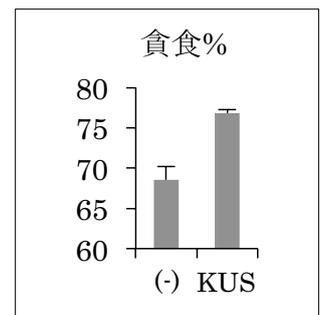


図4 貪食に対するKUS剤の効果

このように、KUS剤が、ドルーゼン治療薬になる可能性が出てきました。引き続き、モデル動物を用いた検討と、その機序解明を行っていきたいと考えています。さらに、患者iPS由来の網膜色素上皮細胞にKUS剤を用いることで、その機能改善が見られれば、実際の黄斑変性患者でもKUS剤が効果を持つことが期待できます。

## 今後の展望

本研究で用いたKUS剤は、難病指定されている網膜色素変性に対しても、その疾患進行抑制効果を持つことが明らかになってきています<sup>2)</sup>。現在、KUS剤を眼科臨床応用するために、諸準備中です。近い将来、これらの眼難治疾患患者様に治療薬としてお届けしたいと、頑張っています。

最後になりましたが、本研究は、公益財団法人難病医学研究財団平成25年度医学研究助成事業からの援助をいただき実施することができました。貴重な機会をいただきました財団の皆様には、この場をお借りして御礼申し上げます。ご支援をいただきました皆様のご厚意を忘れず、今後とも研究を続け、少しでも難病克服のお役に立てればと思っております。

- 1) Ikeda Hら. Toward the generation of rod and cone photoreceptors from mouse, monkey and human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 26, 215-24, 2008.
- 2) Ikeda HOら. Novel VCP modulators mitigate major pathologies of rd10, a mouse model of retinitis pigmentosa. *Sci Rep* 4, 5970, 2014.

## 小児骨髄異形成症候群の病態に關与するゲノム基盤の同定



東京大学医学部附属病院 無菌治療部 講師 加藤 元博

### 【背景】

小児不応性血球減少症（Refractory cytopenia of childhood：RCC）は芽球（＝形態的な異常細胞）の著しい増加を伴わない骨髄異形成症候群（MDS）の一病型であり、小児期に特有の病型である。成人のMDSでは不応性貧血という分類に相当するが、それとは異なり、骨髄は細胞成分が少ないことが多く、2008年度版のWHO分類において新たに提唱された概念である。このRCCは、小児期に発症するMDSのうちおよそ半数弱を占めるとされている。

再生不良性貧血のような造血幹細胞が機能不全になり、血液細胞を作れない（＝骨髄不全）の状態と、典型的な骨髄異形成症候群のような異常細胞の増加も併せ持つ状態と考えられており、これらの中間に位置する疾患と理解されている（図1）。

しかし、このRCCは近年になって提唱された概念であるうえに、その発症頻度は高くないために、病態や治療戦略は明らかになっていない部分が多い。また、再生不良性貧血に用いられる免疫抑制療法が行われることが多いが、反応する例は約半数であり、どのような病態がおおもとになっているのか、未解明な部分が多い疾患である。

一方で、近年のゲノム解析技術の進歩はめざましく、細胞に生じた遺伝子の異常を効率的に調べるのが可能であり、さまざまな疾患において病態の理解に貢献する知見が得られている。

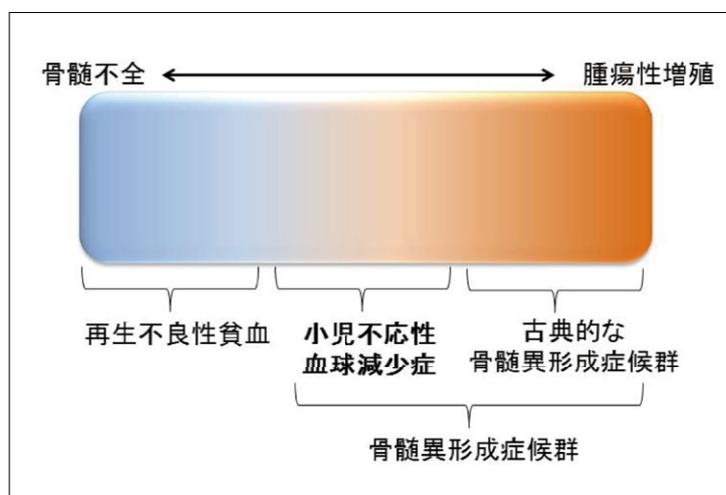


図1. 小児不応性貧血の概念

### 【対象と方法】

小児不応性貧血（RCC）の患者3例を対象として、診療の一部として得られた骨髄検査の残余検体からDNAを抽出し、次世代シーケンサーを中心とした解析技術を用いて、どのような遺伝子異常がRCC患者の骨髄細胞に生じているかを解析した。

## 【結果】

1例では、先天性角化不全症の原因として報告されている *TINF2* 遺伝子の R282H のヘテロ変異が検出された (図2)。この変異は末梢血からも確認された。

別の2例からは造血細胞の機能に影響を与えるような確定的な遺伝子異常は検出されなかった。

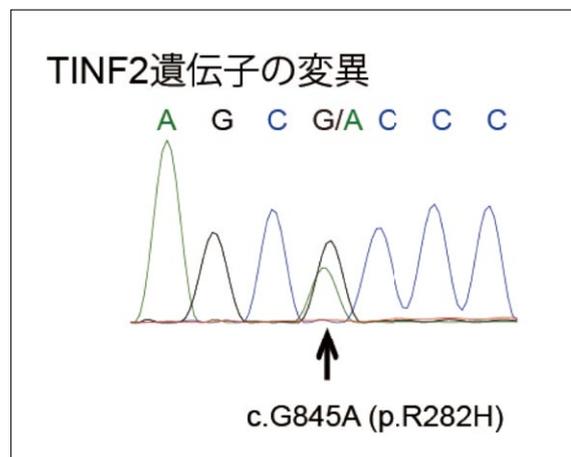


図2. 小児不応性貧血患者から検出された *TINF2* の変異

## 【考察】

今回、小児不応性貧血 (RCC) 患者の解析を通じ、RCCと考えられている患者の中には、先天性角化不全症のような症候群の症状として骨髄不全をきたしていることを疑う必要があることが確認された。

先天性角化不全症は、爪の萎縮や骨髄不全、皮膚の色素異常、肺や髪の変異など多彩な症状をしめす疾患であるが、小児期には症状がそろわない患児が多いため、正確な診断が難しいことがある。しかし、この角化不全症によって生じる骨髄不全症を治癒させるためには免疫抑制療法は不十分であり、造血幹細胞移植が必要である。また、先天性角化不全症に対して移植を行う場合には、肺合併症の発症率が高いことから、そのことに留意して移植に臨む必要がある。この症例では、症状だけからは診断が困難であったが、遺伝子検査により先天性角化不全症であることが確認され、そのことを念頭において治療に望むことが可能であり、実際に、このような遺伝子検査が診療においても有用であることが示された (Monoi A, Sugawa M, Kato M, et al. *Oncol Lett* [in press])。

また一方で、他のRCC患者からは重複する遺伝子や、機能的に造血能に影響しうるような遺伝子異常は検出されなかった。RCCの中には、上記のような先天性骨髄不全を基盤として発症する症例がいる一方で、他の分子遺伝学的機序で発症する症例がいることが考えられ、今後の解析症例増やして検討を続けていくことで、RCCの全体的な分子病態の把握が可能になると期待される。

# ベーチェット病の感受性遺伝子探索と機能解明

横浜市立大学附属病院 リウマチ血液感染症内科 講師 桐野 洋平



## 背景

ベーチェット病は眼や皮膚粘膜などに発作的な炎症を繰り返す難治性疾患である。HLA-B\*51が既知の遺伝素因として知られていたが、その他の感受性遺伝子は不明だった。最近日本人とトルコ人のDNAを用いたゲノムワイド関連解析 (GWAS) を通じて新規感受性遺伝子が複数見つかった。これらの遺伝子のベーチェット病における役割を明らかにして、新しい治療法を開発することが本研究の目標である。難病医学研究財団より助成金を頂き、疾患感受性遺伝子の一つであるケモカイン受容体CCR1の機能解析に着手した。CCR1はMIP1 $\alpha$ やRANTESなどの細胞遊走因子に対する細胞膜受容体であり、単球に主に発現している。不思議なことにベーチェット病ではCCR1の発現量が低いことと単球の遊走能が低いことが疾患発症のリスクとなる。我々は以前より単球やマクロファージの機能解析を行っており実験系が確立していたことから、まずCCR1の機能解析を推進した。最近マクロファージにはM1とM2という2つのサブセットが存在して、特にM2マクロファージはIL-10という抗炎症性サイトカインを産生することから注目を集めている。ちなみにIL-10もベーチェット病の感受性遺伝子である。

## 方法

本研究は横浜市立大学附属病院の倫理委員会の承認を得ており、同意書を書面で取得した後に検体を採取した。健常人およびベーチェット病患者より血液を採取し、フィコール法にて末梢血単核細胞を遠心分離した (図1)。この細胞をマグネットビーズ付加抗体 (MACS, Myltenyi Biotec) にて処理し、単球を分離した。分離した単球はM-CSFおよびGM-CSFという異なるサイトカインの存在下でそれぞれ9日間培養した。この培養法はM1 (GM-CSF) とM2 (M-CSF) マクロファージの分化法として標準的なものである。培養後、これらのマクロファージよりcDNAを作製してreal-time PCR法にてCD163、HO-1、FTH (H鎖フェリチン)、およびCCR1の発現解析、フローサイトメトリーにてCD68<sup>+</sup>CCR1<sup>+</sup>細胞数、培養上清のサイトカインをBD CBAアッセイにて測定した。解析はGraph Pad prismを用いて行った。

## 結果

まずM1およびM2マクロファージにおけるmRNAの発現を確認した。M1・M2マクロファージのM2マーカーとされるCD163、HO-1、H鎖フェリチン (FTH) を健常人単球由来のマクロファージで確認したところ、予想通りいずれもM2に多く発現していた。またCCR1もM2分画に多く発現していた (図2)。

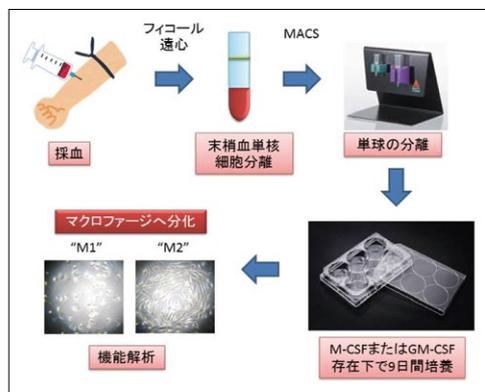


図1 実験方法の流れ

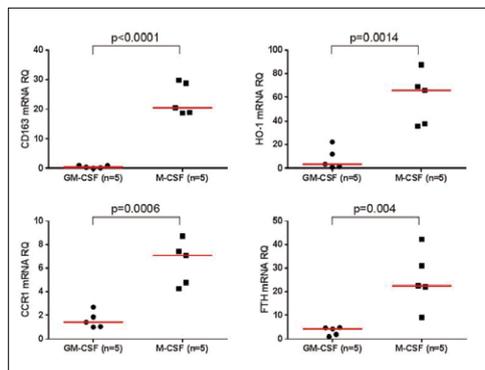


図2 健常人由来単球のGM-CSF (M1)・M-CSF (M2) によるマクロファージへの分化誘導とmRNAの結果

次にフローサイトメトリーを用いて、CCR1蛋白の発現がM2マクロファージに高発現しているか検討した。M1M2に関わらずマクロファージのマーカであるCD68でゲートし、CD163とCCR1発現を調べた。図3で示すようにM2マクロファージのマーカであるCD163はM2に多いことが確認でき、誘導実験の妥当性が示された。また図2で示したmRNA同様M2分画でCCR1が多いことが確認された。HCとBD間での差は検出できなかった。

最後にM1・M2マクロファージをそれぞれ10ug/mlのリポポリサッカライド(LPS)にて24時間刺激して、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10の産生を調べた(図3)。期待通りIL-10はM2細胞で有意に多く産生され、IL-6はM1で高い傾向を認めた。TNF- $\alpha$ には差を認めなかった。今回の検討ではHCとBDの間に炎症性サイトカイン産生に有意差を認めなかった。

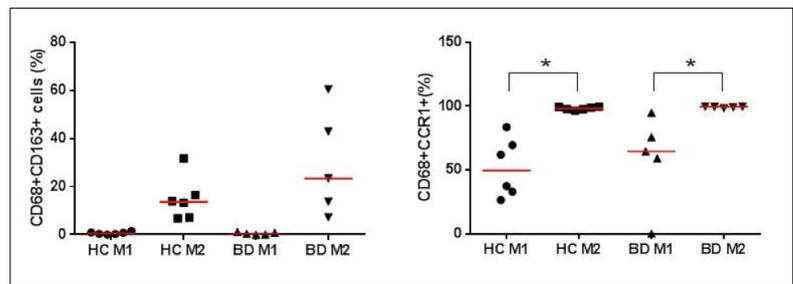


図3 健康人とパーチェット病患者におけるM1およびM2マクロファージのフローサイトメトリー解析。HCは健康人、BDはパーチェット病を示す。\*はP<0.05。

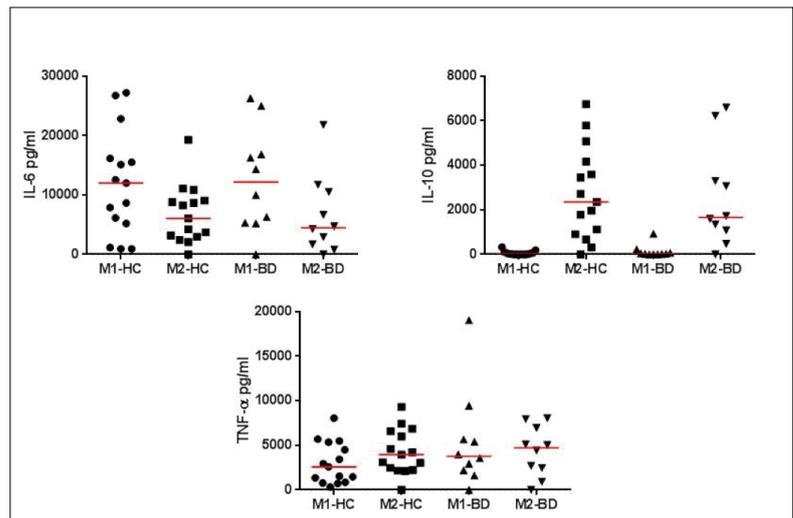


図4 健康人とパーチェット病患者由来M1M2マクロファージのサイトカイン産生の比較

## 考察・結論

以上の検討から、疾患感受性遺伝子であるCCR1はM2マクロファージに多く発現していることが判明した。CCR1発現が低いことがBDのリスクとなる理由はいままで不明であった。本研究を通じて、抗炎症作用をもつM2マクロファージのCCR1発現がパーチェット病では低いことで、炎症局所への細胞遊走も低下し、IL-10などを介したM2マクロファージの抗炎症作用が発揮できていない可能性が考えられた。今後はさらに症例数を増やし、細胞遊走能の違い、薬剤の影響、CCR1を遺伝子的に増加またはノックダウンする実験などを通じてさらに詳しい研究成果を報告していきたい。また、次世代シーケンサーを用いた新たな疾患感受性遺伝子の解析にも着手しており、パーチェット病家族例で興味深い遺伝子が候補に挙がっている。こちらの研究も推進していきたい。

## 謝辞

本研究を支えて頂いた難病財団および寄付者の方々、研究に参加頂いた患者様、研究を実施した横浜市立大学大学院仲野寛人先生、東谷佳奈さんに御礼申し上げます。

## 論文

Kirino Y, Remmers EF. Genetic architectures of seropositive and seronegative rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol, 2015, in press.

## 高安動脈炎全ゲノム関連解析結果に基づいた 機能解析と治療の試み



京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 特定助教 寺尾知可史

### 要約

高安動脈炎は大動脈及びその主要分枝を侵す自己免疫性血管炎である。我々はこれまでに全ゲノム関連解析にてIL12p40タンパクをコードするIL12B遺伝子とその中心的役割を果たしていることを同定した。IL12p40を標的とした生物製剤であるウステキヌマブは、同じくIL12B領域と関連する炎症性腸疾患や乾癬にて用いられている。今回我々はウステキヌマブを難治性高安動脈炎患者3例に投与する臨床試験を行い、安全及び有効にウステキヌマブが作用することを示した。本成果は稀な疾患であっても、遺伝子解析が治療法開発に結びつくことを示すものである。さらに、IL12B領域の多型が患者の末梢から取り出した単球においてIL12B発現に関連していること、高安動脈炎は炎症性腸疾患の一つである潰瘍性大腸炎と合併率が高いことを示した。

### 背景

高安動脈炎は1908年に我が国から報告された、大動脈及びその分枝を侵す血管炎である<sup>1</sup>。本邦では5000-10000人の患者がいると推定されている。これまでの遺伝的解析から、白血球の血液型であるHLAの中でHLA-B\*52:01が関連することが分かっている<sup>2</sup>。我々は、2013年に高安動脈炎における全ゲノム関連解析を世界で初めて行い、HLA-B\*52:01の他、IL12B領域とMLX領域が関連することを示した<sup>3</sup>。特にIL12B領域の多型は重篤な合併症である大動脈弁閉鎖不全症の合併率やその重篤度と関連し、HLA-B\*52:01と相互作用を示して高安動脈炎発症と関わっており、本疾患の病態において中心的役割を果たしているものと思われた<sup>3</sup>。

### 結果1. ウステキヌマブは高安動脈炎において安全かつ有効な治療法である

IL12B遺伝子は、高安動脈炎の他に、炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸炎）や乾癬とも関連している。IL12B遺伝子はIL12p40と呼ばれる炎症に関わるタンパクを産生する。そして、IL12p40を標的として効果を発揮する薬剤であるウステキヌマブは、臨床の場でクローン病や乾癬に用いられ、大きな効果を挙げている。このことから、ウステキヌマブは高安動脈炎においても有効な治療法である可能性がある。我々は、既存の治療（ステロイド、生物学的製剤を除く免疫抑制剤）にて効果不十分だった3例を対象に、ウステキヌマブを投与する臨床試験を、京都大学医の倫理委員会承認の下に行った。

3例の患者に、day0, day28の二回投与し、day84まで観察した。試験期間中に一人が感冒様症状を一時的に示したが、他に問題はなかった。3例の内、2例は炎症反応が高い症例であったが、投与後は

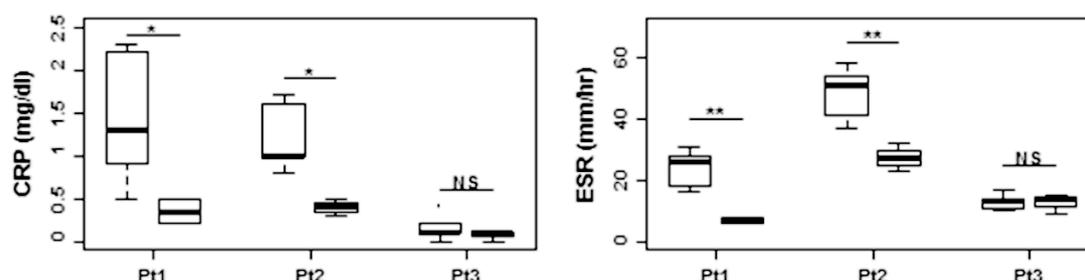


図1. ウステキヌマブ投与によって、高安動脈炎患者において上昇していた炎症反応は低下した。  
Pt1, 2, 3は各患者を示す。\*: p値<0.05, \*\*: p値<0.005, N.S.: 有意差なし

正常範囲内に低下した（図1）。残り1例は自覚症状が強かったが、投与後に改善した。血管における疾患の影響をday0,84でMRIを用いて評価したが、3例ともにday84においても疾患活動性が残存しており、長期的な結果は今後の症例の蓄積を待たなければならないと思われた。本結果は論文投稿中である。

### 結果2. IL12B多型は高安動脈炎患者において遺伝子発現と関連する。

我々はIL12Bの多型が高安動脈炎の発症と関連することを示したが、その多型がどのようにして発症と関連するのかは明らかでなかった。

そこで、19名の患者から末梢血の提供を受け、白血球分画の一つである単球を抽出し、培養後に刺激を加えてIL12B遺伝子の発現を評価した。その結果、高安動脈炎の発症と関連するIL12Bの多型は、IL12B発現上昇と関連することが分かった（図2）。このことから、IL12B領域の多型は、IL12B遺伝子の発現上昇を介して高安動脈炎発症と関連している可能性が示された。これまで全ゲノム関連解析で明らかにされてきた、自己免疫性疾患に関わる多型の多くは遺伝子発現を調節することによって疾患発症と関連する可能性が示されており、本研究結果は他の研究結果と一致するものである。本多型がどのようにIL12B遺伝子発現を調節するのかは今後の検討課題である。

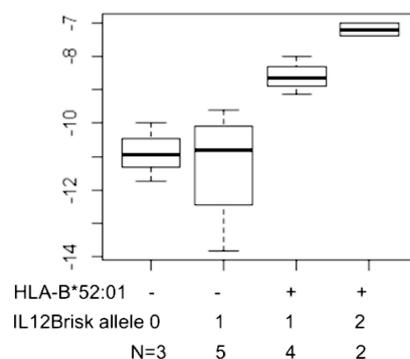


図2. IL12B多型はIL12B発現上昇と関連する。Y軸はIL12B遺伝子の発現の程度

### 結果3. 高安動脈炎は潰瘍性大腸炎を高率に合併する

高安動脈炎と炎症性腸疾患の一つである潰瘍性大腸炎の合併例の報告は以前からあったが、大規模なデータで証明されたことはなかった。

我々は、14施設470例の症例データを集め、6.4%（95%信頼区間4.3-9.0%）の症例に潰瘍性大腸炎の合併が見られることを示した。これは、潰瘍性大腸炎の有病率から考えて大変高率である。また、合併例と非合併例を比較したところ、合併例は有意に若い年齢で高安動脈炎を発症していた。一方で、重篤な合併症には明らかな差がなく、長期的な予後の差に関しては今後の検討課題である。

遺伝学的な比較をしたところ、合併例はHLA-B\*52:01を持つ割合が特に非合併例と比較して多いことが分かった。同様の傾向はIL12B領域の多型にも認められたが、有意ではなかった。また、潰瘍性大腸炎と関連する領域が高安動脈炎とも関連しているかを非合併例の遺伝的データを用いて調べた結果、有意に高安動脈炎とも関連していることが分かった。これらは、炎症性腸疾患と高安動脈炎が遺伝的に近く、その病態の共通点が多いことを示唆する。この遺伝的・病態の近さが、結果1に示したウステキヌマブが安全かつ有効に高安動脈炎に用いられた理由であろうと考えられる。本研究結果は、アメリカリウマチ学会誌である *Arthritis and Rheumatology* 誌に掲載予定である。

## 文献

1. Terao, C. History of Takayasu arteritis and Dr. Mikito Takayasu. *Int J Rheum Dis* 17, 931-5 (2014).
2. Terao, C., Yoshifuji, H. & Mimori, T. Recent advances in Takayasu arteritis. *Int J Rheum Dis* 17, 238-47 (2014).
3. Terao, C. *et al.* Two susceptibility loci to Takayasu arteritis reveal a synergistic role of the IL12B and HLA-B regions in a Japanese population. *Am J Hum Genet* 93, 289-97 (2013).

# 網膜色素変性患者における視細胞ネクロシスの関与の解明

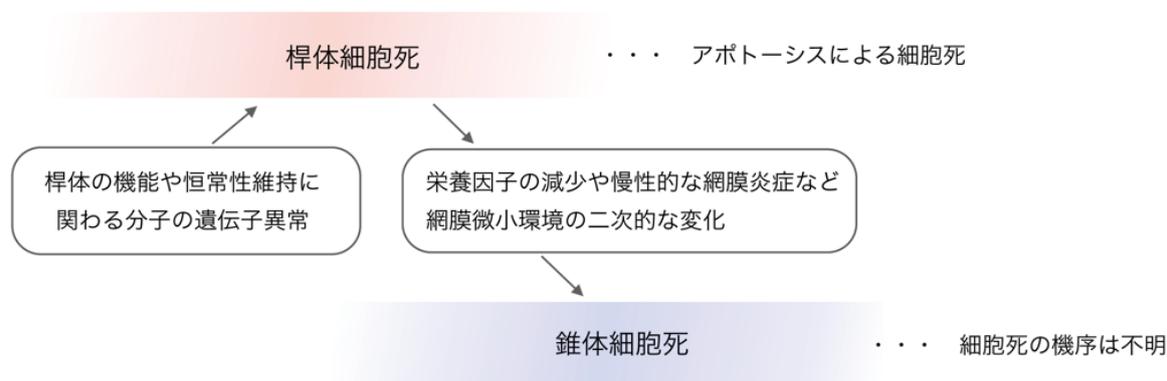
九州大学大学院医学研究院眼科学 助教 村上 祐介



## 【研究の背景・目的】

網膜色素変性（RP）は、視細胞の働きに重要な遺伝子の変異によって、徐々に視細胞が障害される疾患で、我が国で失明原因の上位を占める難病です。多くの患者さんでは、暗所視に重要である桿体細胞に重要な遺伝子に異常があり、夜盲や視野狭窄をきたします。一方、明所視や中心視力に重要である錐体細胞は病初期には保たれるものの、病期が進行すると桿体細胞死に続いて障害されます（図1）。近年の研究からRPの遺伝子異常の理解は進んでいるものの、遺伝的欠陥のない錐体細胞がなぜ死に至るのかは良く分かっていません。錐体細胞による中心視力は患者さんのQuality of Visionに直結しており、RPにおける錐体細胞死の病態解明は、新しい治療法の開発に向けて重要な課題です。

図1 網膜色素変性の病態



細胞死の起こり方は、大きくアポトーシスとネクローシスに分類されます。アポトーシスは細胞の収縮や核の濃縮などを特徴とするのに対し、ネクローシスは細胞や細胞内小器官の腫脹を伴います。ネクローシスは従来受動的な細胞死と考えられていましたが、近年の研究から一部のネクローシスはRIPKの活性化を介して能動的に誘導されることが明らかとなり、新しい細胞死誘導機構として注目されています。

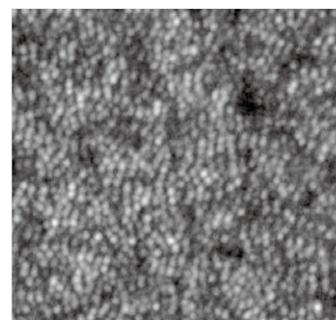
RPにおける細胞死は、遺伝子異常による桿体細胞死がアポトーシスの特徴を取るのに対して、錐体細胞死の特徴については明確な報告がありませんでした。このような背景から、私達の研究グループ

では錐体細胞死のメカニズムに着目して研究を行い、RPモデルマウスにおいて錐体細胞死はネクローシス様の所見を示すこと、RIPK経路の阻害によって錐体細胞死が抑制されることを明らかとしました。これらの結果から、RIPK依存的ネクローシスがRPの錐体細胞死に重要と考えられます。しかし、RP患者さんにおいても錐体細胞死にネクローシスが関与しているかについては、これまでに報告がありません。そこで本研究では、生体での錐体細胞の観察を可能とする補償光学付き走査レーザー顕微鏡（AO-SLO）および患者さんから得たサンプルを用いて、RP患者さんにおけるネクローシスの関与について検討しました。

## 【方法と結果】

AO-SLOは、眼の収差によって生じる歪みを最新の補償光学制御システムを用いて補正することで、眼底画像の解像度を飛躍的に高めた最先端の検査機器です。本装置を用いて網膜を撮影すると、錐体細胞の一つ一つを描出することができます（図2）。ネクローシスに陥った細胞は腫脹しますが、このような変化を捉えるためにAO-SLOで得られた錐体細胞の輝度値から細胞の直径を求めるプログラムを開発しました。このプログラムを用いて、健常者とRP患者さんの錐体細胞の直径を比較すると、RPの患者さんでは細胞径の拡大した細胞群が存在することが分かり、これらの細胞はネクローシスを表している可能性があります。

図2 AO-SLOによる錐体細胞の観察



ネクローシスを起こした細胞からは、細胞内の様々な分子が放出され、これらの分子はダメージ関連パターン（DAMPs）として炎症を誘導します。手術時に得られた眼内液のサンプルを用いてDAMPsの濃度を測定したところ、RP患者さんでは健常者と比較してDAMPsの濃度が上昇していました。AO-SLOの結果と合わせて、これらの結果はヒトRPの病態におけるネクローシスの存在を示唆するものと考えます。

## 【まとめと今後の展望】

RPの病態において、過去の研究では主に視細胞のアポトーシスが注目されていましたが、我々の研究から錐体細胞死の誘導にはネクローシスが関与することが分かってきました。ネクローシスを制御する分子群はRPの新しい治療標的になると考えられ、更なる分子メカニズムの解析や治療薬の開発にむけた取り組みを進めていきたいと考えています。

最後になりましたが、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致します。

## 2

## 平成27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 50 件
- (2) 臨床枠 27 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 27 年 11 月上旬申請者等に通知する。
- (5) 贈呈式 平成 28 年 1 月 14 日 (木)

## 3

## 難病相談支援センターの活動状況

群馬県難病相談支援センター  
難病相談支援員 川尻 洋美

群馬県難病相談支援センターは、平成16年4月に開設されました。実施主体は群馬県で、群馬大学が受託し、運営しています。当センターは、群馬大学医学部附属病院の敷地内にある研究棟の一室に事務局を構え、外来棟の一角に面接室を備えています（写真）。

職員は、難病相談支援員が2名（保健師1名と看護師1名）、コミュニケーション支援の専任サポーターが1名配置され、事務局を共有する群馬県神経難病医療ネットワークの難病医療コーディネーター（保健師）と連携して事業を行っています（図1）。管理者は群馬大学大学院医学系研究科脳神経内科学 池田佳生教授です。

主な事業は、療養相談支援を中心に、医療相談会・講演会、各種研修会、関東近県の難病相談支援員の連絡会の開催、神経難病療養者へのコミュニケーション支援などです。平成27年度からは、新規事業として難病の当事者を対象に難病ピア・サポーター養成研修を開始しました（表1）。現在、参加メンバーは7名ですが、研修毎にメンバー間の交流が深まり、笑顔を拝見することが多くなりました。研修を通して難病ピア・サポーター自身も再び輝くきっかけになればと期待しております。

また、日本ALS協会群馬県支部から「群馬県在宅ALS療養者コミュニケーション支援ネットワーク事業」を受託し、研修会開催、意思伝達装置や特殊スイッチなどのツールの整備、貸出事業を行っています。さらにコミュニケーション支援に関わる環境整備や個々の状態に合わせた文字盤の作成、訪問指導などを、保健所（保健師）や県立義肢製作所（義肢装具士）と連携して行っています。

大学病院に設置されている当センターの利点は、医療に関する相談をタイムリーに専門医に相談することが可能なことです。また「主治医が自分の治療に対する思いを聞いてくれない」などのよ



面接室

うに主治医と患者の間で情報・意見交換が十分でないために生じる悩みに対して、相談者の受診時に同席して主治医とのコミュニケーション促進のために支援することもあります。さらに必要時には大学病院の看護師やソーシャルワーカーと連携し、相談者のニーズに応じた適切で迅速な相談対応を心がけています。

現状では、マンパワー不足で事業が重なると相談支援員が不在になる、相談件数が多く相談電話が繋がりにくいなどの課題もありますが、限られた条件の中でも相談者の心に寄り添える存在でありたいと職員一同願っております。

群馬県における神経難病医療ネットワークと難病相談支援センターの業務連携

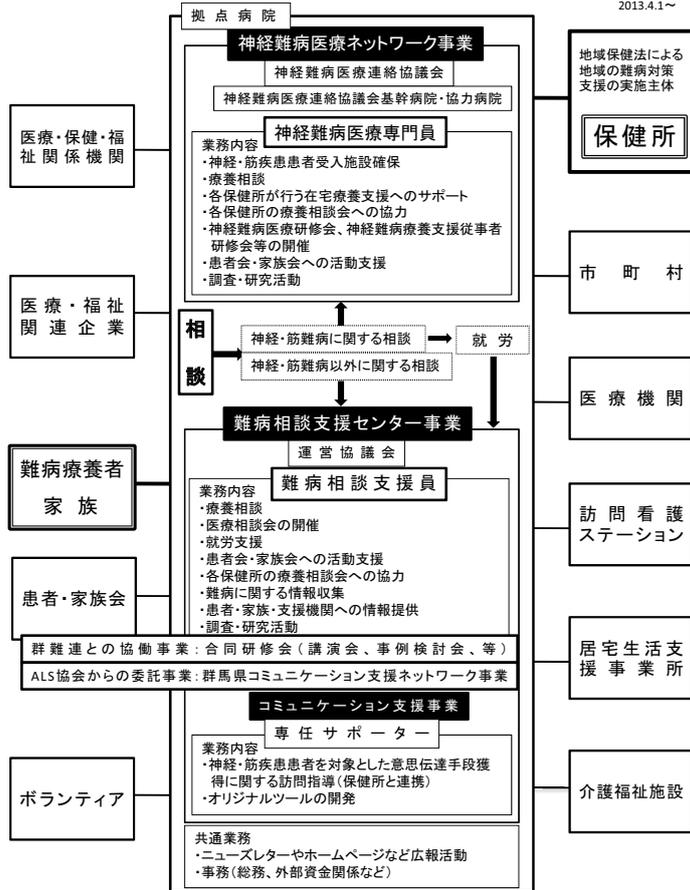


図1 センター体制図

平成27年度 難病ピア・サポーター養成研修（テーマ）		担当
1	オリエンテーション（自己紹介、研修会内容説明など）、傾聴とは	相談支援員
2	相談の受け方	相談支援員
3	難病に関する基礎知識、神経難病患者の療養生活	相談支援員
4	群馬県における難病対策、難病になったときに役立つ制度	県担当職員
5	病気になったときに役立つ社会保障（傷病手当金、障害年金など）	社会保険労務士
6	ピア・サポートの社会学2 ～そこにこそ希望の糸口があるのではないかな～	社会学研究者
7	ピア相談のスキルアップを目指そう ～今日から使えるコツを学ぶ～	遺伝カウンセラー
8	自分史を作ろう1	参加メンバー
9	自分史を作ろう2、発表会	参加メンバー
10	自分史を作ろう3、発表会	参加メンバー
11	1年の振り返り、反省会、今後の予定についての話し合い	相談支援員

表1 難病ピア・サポーター養成研修

# 4

## 厚生労働省健康局の組織再編について

厚生労働省健康局は平成27年10月1日より、「がん対策・健康増進課」・「疾病対策課」・「結核感染症課」・「総務課」の4課から、「健康課」・「がん・疾病対策課」・「難病対策課」・「結核感染症課」・「総務課」の5課に再編されました。

難病対策の担当課は、小児慢性特定疾病にかかる業務を含み「難病対策課」となります。

### <再編後の健康局（5課）>

(主な所管事項)

- **健康課** : 国民の健康づくり（一次予防）対策を所管  
健康増進・生活習慣病対策、栄養改善・食生活指導、地域における保健・衛生の向上（保健所対策）、女性の健康対策、予防接種対策
- **がん・疾病対策課** : 個別疾病対策を所管  
がん対策、B型肝炎訴訟対策、がん登録、脳卒中对策、アレルギー対策、肝炎対策
- **難病対策課** : 難病等希少疾病対策を所管  
難病対策、小児慢性特定疾病対策、その他疾病対策（ハンセン病等）移植医療対策
- **結核感染症課** : 新興再興感染症対策を所管  
感染症（エボラ、デング熱等）対策、新型インフルエンザ対策  
エイズ対策
- **総務課** :

### ニュース

#### 当財団の医学研究奨励助成金受賞者の研究成果が 医学雑誌に掲載されました。

当財団の医学研究奨励助成金受賞者より、研究成果に関する発表論文が医学雑誌に掲載され、掲載に先立ち新聞にも取り上げられました旨、報告を受けました。おめでとうございます。今後ますますのご活躍を期待しております。

- 平成25年度受賞者 : 寺尾 知可史氏  
(既存の皮膚病薬が高安病に有効であることについての新聞記事)  
平成27年7月31日 京都新聞  
(高安動脈炎の治療薬に関する論文)  
Scandinavian Journal of Rheumatology 2015 ; 1-3

# 5

## 疾病ミニ解説「全身性アミロイドーシス」

平成27年度上半期、難病情報センターのホームページの中でアクセス数、検索数が多かった疾病を取り上げました。

### 1. 疾病の概要

全身性アミロイドーシスは、種々の蛋白が全身の様々な臓器に線維（アミロイド）として沈着することによって機能障害を引き起こす病気です。全身性アミロイドーシスと、ある臓器に限局してアミロイドが沈着する限局性アミロイドーシスに分けられるアミロイドーシスは、現在31種類ほどが知られていますが、まだ未知のものも多く原因蛋白質の同定が試みられています。

指定難病の対象となる病型は、免疫グロブリン性アミロイドーシス、家族性アミロイドーシス及び老人性トランスサイレチン型（TTR）アミロイドーシスになります。

病型により異なり、個人差もありますが、基本的に進行性の経過をたどります。

### 2. 原因

原因となる蛋白質が凝集してアミロイドとして臓器に沈着して発病することがわかっています。しかし、アミロイドが生じる過程は、原因蛋白質の種類によって異なると考えられており、その細かな機序については依然不明なままです。

### 3. 症状

心臓の障害（心不全や不整脈）、腎臓の障害（ネフローゼ症候群や腎不全）、胃腸の障害、末梢神経や自律神経の障害（手足のしびれ、麻痺、立ちくらみ、排尿の異常、便秘、下痢）などがしばしばみられ、舌、甲状腺、肝臓が腫れることもあります。

### 4. 治療法

従来は各々の症状への対症療法が中心でしたが、近年、アミロイドーシスの種類によっては根治的治療法が発展してきたものもあります。免疫グロブリン性アミロイドーシスに対して自己末梢血幹細胞移植を併用した大量化学療法、家族性アミロイドーシスに対する肝臓移植が行われています。更に、アミロイドに対するワクチン療法等が現在開発中です。

詳しくは、難病情報センターホームページをご参照ください。

<http://www.nanbyou.or.jp/entry/45>

## 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	<b>【三井住友銀行】</b> 麹町支店 普通預金 No. 0141426 <b>【みずほ銀行】</b> 神田支店 普通預金 No. 1286266 <b>【三菱東京UFJ銀行】</b> 神田駅前支店 普通預金 No. 1125491 <b>【郵便振替口座】</b> 00140-1-261434  ≪口座名義人≫ コイサ イブツケン 公益財団法人 ナビヨウガクケンカクイブツケン 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	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 2 階

電 話 03 - 3257 - 9021

<http://www.nanbyou.jp>

【難病情報センター】

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