

福山型筋ジストロフィーにおける 細胞移動障害の治療法確立



藤田保健衛生大学遺伝カウンセリング室 病院准教授 池田 真理子

研究目的

福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）は日本に特有の、重症の筋ジストロフィーに高度の中枢神経症状（てんかんや発達の遅れなど）を伴う重篤な難病で、治療法はない。本研究では、FCMDの中枢神経症状に対する治療法の開発を目的とし、疾患の発生過程の神経細胞における移動障害の機序を解明するため、患者由来のiPS細胞系を用いた神経細胞系における三次元培養を行い、その病態の解明を目的に研究を行う。この三次元の分化培養方法は、日本が世界に先駆けて開発した、画期的な細胞系の中枢神経系モデルである（Kadoshima et al PNAS, 2014）。この疾患モデルを用い、胎生期の細胞移動障害の分子基盤や、治療の臨界期の検討を行う。最終目標として、FCMDの細胞移動障害の回復を誘導する治療法の確立を行なう。本研究では、この実現のための基礎的研究を1年間で行う。

研究の背景

(1) 疾患：FCMDは日本特有の疾患であり筋ジストロフィー、II型滑脳症、眼奇形を示す常染色体劣性遺伝疾患である。日本で2番目に多い小児の筋疾患で10代のうちに死に至る重篤な疾患である。

福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD)



先天性筋ジストロフィー

日本で2番目に多い、本邦特有の小児筋ジストロフィー
中枢神経異常（II型滑脳症・多小脳回・てんかん・知的発達障害）を必発。
神経細胞移動異常と考えられるが
中枢系の発症機序は未解明で治療法はない。

発症頻度：1 / 34,000 保因者頻度：1 / 90
患者は日本に約1,000から2000名
生涯歩行不能・ほとんどが10代で死に至る

**脳奇形・多小脳回・小脳嚢胞
など多彩な中枢奇形**

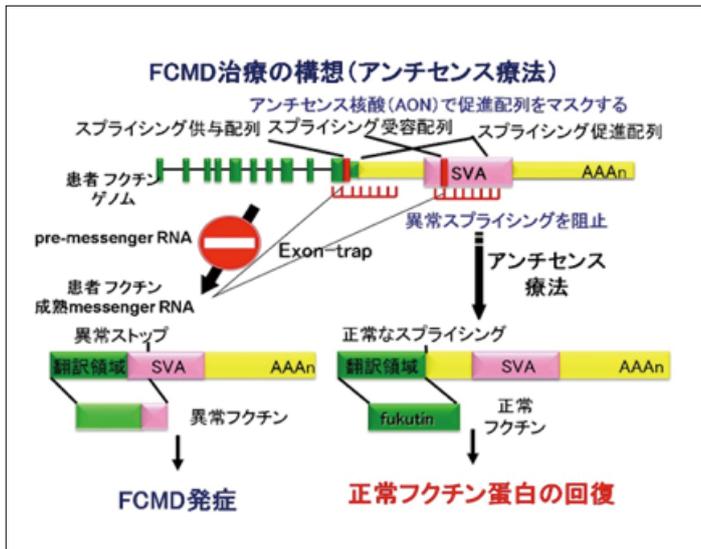
α-ジストログリカノパチー（FCMDの類縁疾患）
muscle eye brain 病、Walker-Walburg 症候群などで
D-マンノース型の糖鎖が欠損し、共通の臨床症状を持ち、
世界中に患者が存在する。（責任遺伝子18個）

FCMDは重度の知的障害、てんかんなどの中枢神経合併症があり脳形成時期の細胞移動障害が原因だとされているが詳細は不明である。1 殆どのFCMD患者は、フクチン遺伝子の3' 非翻訳領域に約3 kbの歩く遺伝子であるレトロトランスポゾ

ン（SVA）の挿入型変異を認める（Kobayashi, et al, Nature 1998）。患者は日本に約1000人程度存在すると考えられている。

(2) 受賞者によるFCMD発症機構の発見、及びアンチセンス治療

受賞者はFCMDが原因遺伝子フクチンの非翻訳領域に挿入された、歩く遺伝子と言われる、レトロトランスポゾンの挿入変異により、最終エクソン内に異常なスプライシングが引き起こされ、新生エクソン由来の異常蛋白が産生される、スプライシング異常症であることを見出した。（Taniguchi-Ikeda



et al, Nature, 2011)。さらに、この標的配列にアンチセンス核酸 (AON) を細胞の核の中で結合させ異常スプライシングを阻止し正常なスプライシングを誘導する治療法 (アンチセンス療法) が有効と考えた。そこで、異常スプライシング標的配列に対するAONを設計し、モデルマウスより樹立したES細胞系、患者由来筋管細胞、マウス骨格筋への経尾静脈投与を行ったところ、その全てにおいて正常型フクチン mRNAの回復、正常フクチン蛋白の回復、

そして機能的回復を示唆する α DGの糖鎖修飾の回復に成功した。この結果は、FCMDに対する初の骨格筋に対する根治療法 (特許取得-1) である。その後製薬会社と共同開発を開始し、現在臨床応用に向けて前臨床試験に入り、大型動物を用いて薬剤の安全性や投与用量、薬物動態の検討を行っている。

研究結果

本助成金の支援を受け、受賞者は患者由来細胞よりiPS細胞を樹立し、最適な三次元培養法を試み、試験管の中において大脳の構造を構築することを試みた。iPS細胞は株間の差があるため、複数の細胞で、分化培養法を行い、最も分化に適した細胞株を選別した。また、大脳への分化にかかる時間や、分化培養によって形成された大脳組織の大きさや大脳へ正しく分化した細胞を解析するために、それぞれの分化時期に発現する遺伝子マーカーを標的に免疫染色法や、遺伝子発現解析法をもちいて、FCMD患者と正常対照株での比較をおこなった。結果、FCMD患者由来のiPS細胞を用いて、大脳皮質まで分化させることに成功した。一方、患者細胞と正常対照株では、大脳分化の時間軸や大きさには大きな差はみられず、形成された大脳皮質の形状にも、株間のばらつきを越えるほどの大きな差もみられなかった (培養70日目までの検討)。既報の三次元培養法はヒトES細胞を用いており、iPS細胞を用いての三次元培養分化法は今後更なる改良が必要であることが示された。また、さらなる長期の培養を行い、胎内のどの時期のどの神経細胞に、主な病状を示すかについて、更なる検討が必要と考えられた (未発表)。今後はアンチセンス核酸による、大脳形成異常の治療を行い、治療の臨界期を検討する予定である。

謝 辞

このたびは難病財団にこのような栄誉な研究助成をいただき、日々の研究に大変励みになりました。この場を借りて、深謝いたします。誠にありがとうございました。この研究をさらに発展させ、未だ開発されていない、FCMDへの中核治療の実現を目指し、今後ともさらに努力して研究に励みたいと存じます。