

No. 57
2022. 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「秋の彼岸に寄せて」

理 事 長 大 塚 義 治 2

1. 財団の概要 4

2. 医学研究奨励助成事業の概要 6

 令和2年度助成金受賞者の研究報告概要 8

3. 令和4年度の公募事業について 34

4. 難病相談支援センターの活動状況

 和歌山県難病・子ども保健相談支援センター

 難病相談支援員 大 原 美 沙 35

5. 難病対策の動向について 36

6. 第31回日本医学会総会2023東京における市民公開講座の開催について 39



秋の彼岸に寄せて

公益財団法人難病医学研究財団

理事長 大塚 義治

私が当財団の理事長を拝命して、早いもので5年の月日が過ぎた。本誌「巻頭の言葉」に最初の寄稿をしたのもその年の10月（NO. 47号）で、以来前号までいつのまにか10回を重ねた。

しかし本号については、諸々の事情があってパスせざるを得ないと考えていた。ただ、単にパスするのも知恵がなさ過ぎるかもしれないと思い直し、こんなことを考えた。

私は、関係業界誌などに、書評ともエッセイともつかぬ駄文を長く連載してきた。ずいぶん以前のものになるが、そのうちの一文を、ほぼ再掲する形で使わせていただこうというものだ。「手抜き」のそしりを承知の上で、なにとぞご容赦願いたいと思う。

私は作家・浅田次郎の大ファンの一人であるが、私には、浅田との「出会いの書、みたいなものがある。私は、この一編を読んだだけで、浅田ワールドに、一発で、強烈に引き込まれてしまったのだが、それが直木賞受賞の大ヒット短編集「鉄道員」の中の短い一編、『角筈にて』である。

〈貫井恭一〉は四十六歳、東大出の商社マン。ダントツの出世頭だったが、突然、リオデジャネイロ支店長に異動となる。大左遷で、出世の途は断たれたも同然だった。

冷ややかな壮行会の後、少数の部下と角筈のゴールデン街に流れた。「角筈」……。新宿・歌舞伎町のあたりを、昔はこう呼んだ。

その帰り、恭一は不思議なものを見た。

「お父さん……。白いパナマ帽に麻の背広。八歳の夏に生き別れた〈父〉に見えた。

四十年近く前のある夕方、〈父〉は恭一の手を引いて角筈のバス停前の寿司屋に入った。〈父〉が何を言いたいのか、恭一は知っていた。が、知らないふりをしていた。

「勉強だけはしなければだめだぞ」。ふっ切るように言った〈父〉は恭一に、淀橋^{よどばし}の伯父の家に行っているように、とつけ加えた。新宿にほど近い〈父〉の従兄弟の家のことだった。「きょう、迎えにきてくれるの?」。〈父〉は明らかに答えをためらった。それが、〈父〉を見た最後だった。

恭一を迎えに来た伯母に手を引かれて風呂桶職人の伯父の家に着くと、またいとこの〈保夫〉と〈久美子〉が花火で遊んでいた。「恭ちゃん、これからうちの子になるんだって」。駆け寄ってきた小さな久美子に抱きしめられたとき、恭一は初めて泣いた。

その日から恭一は、保夫と久美子と兄弟同然に育てられる。その久美子が、今は恭一の妻。今回の異動にも不安や不満を一切見せない久美子のこまやかな気遣いは、親ゆずりのやさしさだった。

「おじさん、どうして俺を籍に入れてくれなかったんだろうな」

「私のお兄ちゃんになってたら、夫婦にはなれなかったのよ」

二人に子どもはなかった。恭一は、久美子を母にできなかったのは自分の罪だと思っている。父親になることがこわくて、一度おろさせたことが原因だったからだ。

日本で最後の一日、二人は保夫を訪れる。保夫は工業高校を出て家業を継いだ、手桶作りが商売になる時世ではなかった。「家、売ろうと思う。この歳になって給料取りだ。俺、親不孝かな」。

そんなことあるもんか。恭一の胸に、あの夜、路上で自分を迎えてくれた家族の姿が甦^{よみがえ}った。

伯母の温かい^{てのひら}掌。縁台から笑い掛けてくれた無口な伯父。彼らは、かつかつの生活の中で、彼らの全てを賭けて、不幸の塊を背負った^{とおえん}遠縁の少年の苦しみを癒^{いや}そうと決意してくれたのだ。

「ヤッちゃん、俺……クミちゃんを不幸にした」と恭一は呻^{うめ}いた。

そんなことあるもんか。今度は保夫がムキになった。

翌日の夕刻。成田に向かう途上、花園神社の参道にあの白い夏背広が見えた。恭一はタクシーを止め、その人影に近づいた。懐かしいポマードの匂いが鼻をついた。それは、やはり〈父〉だった。

「母さんに死なれ、会社もだめになって東京にいられなくなった。あのおねえさんも、おまえと一緒にじゃいやって言うし……。すまないけど、お父さんはおまえを捨てる」

恭一が聞いたかったのは、その一言だったのだ。そして訴えた。ボクは父さんの言うとうりにやったよ。必死に勉強して東大に入り、会社でもずっと一番だったんだよ。

〈父〉は言う。俺は間もなく病気で死んだ。その直前に伯父さんに電話で頼んだんだ。必ず迎えに行くから苗字は変えないで、できたらクミちゃんを嫁にして、ずっと親戚でいてやってくれって。

「うまくやってるのか?」。そう言ってほほ笑む〈父〉の姿が、おぼろに霞んで行った。――

去る秋の彼岸の一日。東京に住んでいる長姉ともども、^{まどお}間遠になってしまっている墓参に帰郷し、郷里に近い町に母と住む次姉の家に泊まった。

その晩は、母と二人の姉と私という親子が揃い、しかも滅多にない「水入らず」。どうしても、十数年前に亡くなった父の思い出話などが弾むことになる。

長姉が言う。「私は今でもおじいちゃんの夢をよく見るの。最近も見たわ」

おじいちゃんとは、父のこと。

「そうなの。私の夢には、おじいちゃんあまり出てきてくれないのよ」と、次姉。

子どもたち誰にも優しくった父だが、中でも次姉を一番可愛がっていたようだ、というのが家族のほぼ一致した見方である。故人が夢に出てくるのは、その人を心配しているからだとも、また逆に、安心しているからこそだとも言われるが、はたしてどうなのだろうか。

「それに、こんなことがあったの」。長姉が続けた。父の没後、数年たったある夕方だったという。

駅で電車を待っていると、少し離れたところに父が立っているではないか。思わず「おじいちゃん」と呼びかけたが届かない。急いで追いかけたのだが、どうしたことか、いくら見回しても、もうその人影はない。でも、あれは間違いなく父だった、今も錯覚とは思えない、と姉は言うのだ。

あれやこれやで話は尽きず、夜が深更に及ぶまで話し込んでしまった。

実は私は、父が逝ってから父の夢を見た記憶がない。薄情な男とは思わないのだが……。

――あの日からそう歳月を経ずして、母も彼岸に渡った。それからさらに何度の彼岸が訪れて、去ったことだろう。

設立の経緯

現代医学の進歩は、多くの病気の原因を解明するとともに、その治療方法を確立して人々の健康の増進に大きく寄与してまいりましたが、今日なお原因が究明されず、治療方法も確立されていない病気は多く、その患者も相当数おられます。このため、患者の方々の苦しみやその家族の方々の経済的、精神的負担は大きく、また、誰がいつどこで罹患するかもしれないという不安があり、国民の関心は高くなっております。

このような難病の原因を解明し、治療方法を開発するには、医学はもちろん薬学をはじめ関連諸科学の連携と協力が重要です。より幅広い研究体制づくりや研究開発の方途を講ずるためには、政府の行う研究の助成にとどまることなく、民間資金による積極的な協力活動が望まれてまいりました。

このような情勢の中で、経済界をはじめ各方面からも積極的な協力を進めようとする気運が高まり、難病に関する研究の推進とその基礎となる医学研究の振興を図るために、各方面のご賛同を得て、昭和48年10月、財団法人医学研究振興財団が設立され、昭和59年9月に財団法人難病医学研究財団と名称を変更いたしました。その後、公益法人制度改革に伴い平成23年4月1日に、内閣府から公益財団法人としての認定を受け、公益事業への更なる取り組みを行っております。

財団の目的

本財団は、難治性疾患等に関する調査研究の実施及び助成、関係学術団体等との連携並びに関係情報の収集・提供及び知識の啓発・普及などの公益活動等の推進により、科学技術の振興並びに国民の健康と公衆衛生及び福祉の向上に寄与することを目的としています。

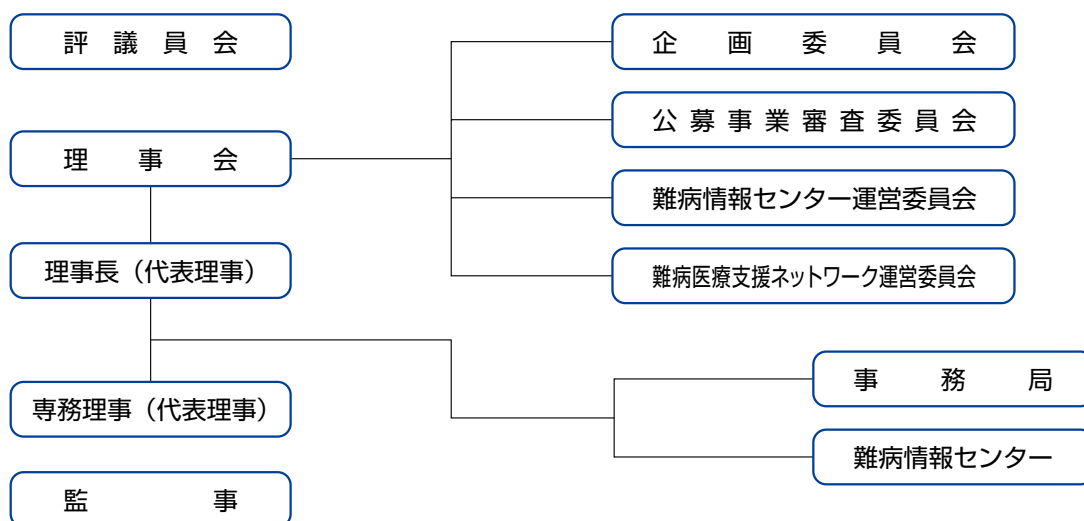
事業内容

本財団の目的を達成するため、難治性疾患等に関する次の事業を行うこととしています。

- (1) 調査研究の実施及び調査研究事業への助成
- (2) 注目すべき研究業績等に対する顕彰
- (3) 学術団体との連携及び協力
- (4) 情報の収集及び提供
- (5) 知識の啓発、普及
- (6) 医療従事者等に対する技術研修の実施
- (7) 書籍及び電子媒体等の編集、発行及び販売
- (8) その他本財団の目的を達成するために必要な事業

組 織

(令和4年10月現在)



役 員

理 事 長 (代表理事)	大塚 義治	日本赤十字社 名誉社長
専務理事 (代表理事)	遠藤 弘良	聖路加国際大学 名誉教授
理 事	大澤 眞木子	東京女子医科大学 名誉教授
	北村 聖	(公社) 地域医療振興協会 顧問
	工藤 翔二	(公財) 結核予防会 代表理事
	宮坂 信之	東京医科歯科大学 名誉教授
	山本 一彦	国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センター センター長
監 事	千葉 通子	千葉公認会計士事務所
	脇本 潤一	日本赤十字社 監査室調整監

評 議 員 会

会 長	溝口 秀昭	東京女子医科大学 名誉教授
評 議 員	青木 清	(公財) 生存科学研究所 理事長
	飯野 奈津子	医療福祉ジャーナリスト
	稲葉 裕	救世軍清瀬病院 院長
	北井 暁子	日本赤十字社血液事業本部 経営会議委員
	齋藤 英彦	国立病院機構名古屋医療センター 名誉院長
	猿田 享男	慶應義塾大学 名誉教授
	谷口 克	国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センター 客員主管研究員
	廣瀬 和彦	城西病院附属クリニック 所長
	松谷 有希雄	一般財団法人日本公衆衛生協会 理事長
	御子柴 克彦	上海科技大学免疫化学研究所 教授
	吉倉 廣	国立感染症研究所 名誉所員
	吉原 健二	前 (公財) 難病医学研究財団 理事長

2

医学研究奨励助成事業の概要

1. 趣 旨

昭和51年度から本財団が独自で40才未満の若手研究者を対象とし、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200万円を交付し、研究の支援を行っております。

本助成事業は、設立以来、ご賛同をいただき難病研究へのご支援として寄せられました善意のご寄付に支えていただいております。

2. 助成対象研究

本助成事業創設時より、難病に関する基礎・臨床・予防分野を対象としておりましたが、ご寄付をお寄せいただく方々からの「少しでも早く難病の治療研究を臨床の現場へ」との強い思いにお応えし、臨床研究分野の拡充を図るため、平成23年度に「臨床枠」を新設し、基礎的研究を対象とする「一般枠」との整理を行いました。

つづいて、平成29年度には、難病研究の下支えとなる疫学の奨励が必要不可欠であると考え、「疫学枠」を新設し、現在は「一般枠」「臨床枠」「疫学枠」と区分けいたしました。

3. 応募状況

	平成 23年度	24年度	25年度	26年度	27年度	28年度	29年度	30年度	令和 元年度	2 年度
一般枠	38	35	28	38	50	52	44	44	44	50
臨床枠	21	20	18	19	27	30	23	20	18	24
疫学枠							7	3	10	10
合計	59	55	46	57	77	82	74	67	72	84

4. 採択件数

	平成 23年度	24年度	25年度	26年度	27年度	28年度	29年度	30年度	令和 元年度	2 年度
一般枠	6	6	5	6	6	6	6	6	7	7
臨床枠	4	4	5	4	4	5	3	3	3	4
疫学枠							2	2	1	2
合計	10	10	10	10	10	11	11	11	11	13

5. 令和 2 年度受賞者の研究報告概要

助成金の交付から、概ね1年を経過した受賞研究課題について報告概要を求め、13名より提出を受けました。

一 般 枠 7 名

50 音順

エンドソームのレトリバー複合体機能障害による希少難病の分子メカニズムの解明		
加藤 耕治	名古屋市立大学大学院医学系研究科新生児・小児医学分野 研究員	研究対象疾患：3C-like syndrome
SAM ドメインを標的とした SAMD9 分子標的療法の開発		
中尾 佳奈子	国立成育医療研究センター研究所 分子内分泌研究部 研究員	MIRAGE 症候群
染色体欠失患者由来 iPS 細胞病態モデルに対するゲノム編集を応用した責任遺伝子探索		
林 洋平	理化学研究所バイオリソース研究センター iPS 細胞高次特性解析開発チーム チームリーダー	4p 欠失症候群、22q11.2 欠失症候群
次世代マルチオミクス解析による先天性大脳白質形成不全症の新規疾患発症機序の同定		
平出 拓也	浜松医科大学医学部附属病院 診療助教	先天性大脳白質形成不全症
新規抗原同定法を用いた再生不良性貧血における自己抗原の探索		
細川 晃平	金沢大学附属病院高密度無菌治療部 助教	再生不良性貧血
無痛症の組織修復学		
丸山 健太	自然科学研究機構生理学研究所 特任准教授	先天性無痛症
細胞保護を標的とした多発性硬化症に対する脱髄予防法の開発		
山崎 礼二	自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門 助教	多発性硬化症

臨 床 枠 4 名

Klippel-Trenaunay 症候群における PI3K 経路の遺伝子変異解析		
石川 耕資	北海道大学病院形成外科 助教	クリッペル・トレノネー・ウェーバー症候群
digital PCR を用いた筋萎縮性側索硬化症患者体液中マイクロ RNA の検証		
岩田 育子	北海道大学病院脳神経内科 助教	筋萎縮性側索硬化症
線維症誘導遺伝子 RBM7 および肺線維症特異的単球サブセットを標的とした肺線維症治療戦略		
福島 清春	大阪大学大学院医学系研究科呼吸器・免疫内科 助教	肺線維症
最強度近視・病的近視の遺伝子診断法の確立		
三宅 正裕	京都大学大学院医学研究科眼科学 特定講師	最強度近視、病的近視

疫 学 枠 2 名

痙攣重積型（二相性）急性脳症の発病予測と後遺症軽減のためのレジストリ構築		
西山 将広	兵庫県立こども病院神経内科 医長	痙攣重積型（二相性）急性脳症
網膜色素変性疾患コホートを用いた進行リスクスコアの確立と個別化医療の基盤作成		
藤原 康太	九州大学眼科 臨床助教	網膜色素変性

エンドソームのレトリバー複合体機能障害による 希少難病の分子メカニズムの解明

名古屋市立大学大学院医学系研究科新生児・小児医学分野・研究員 加藤 耕治



背景と目的

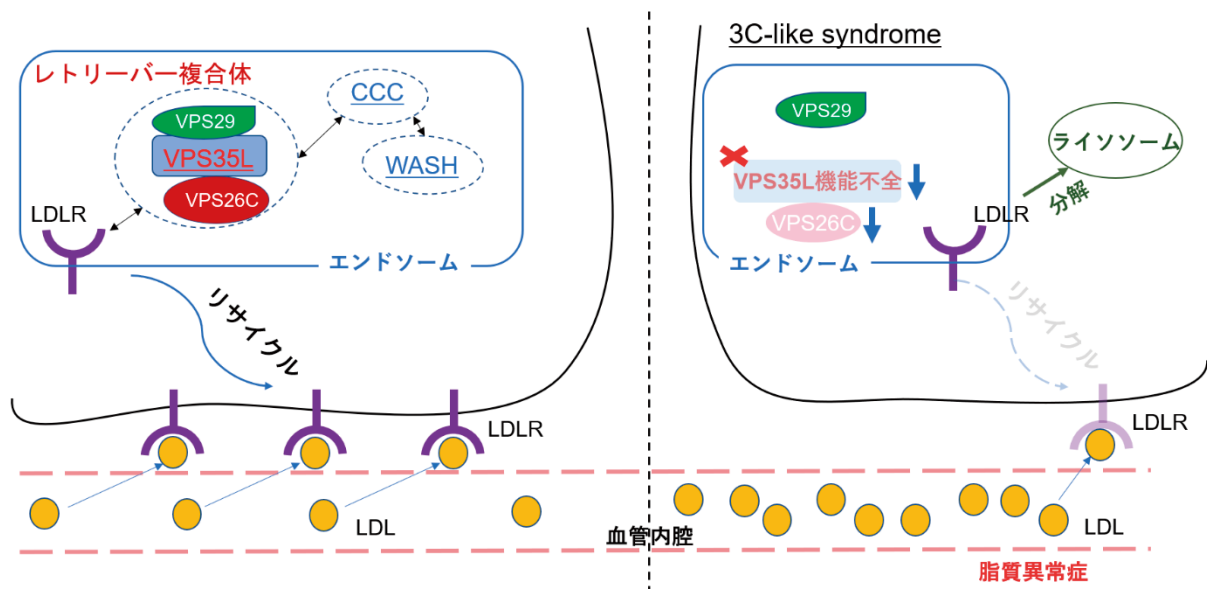
3C syndromeは、頭蓋顔面の形成異常（Craniofacial malformation）、先天性心疾患（Cardiac Defect）、小脳虫部の形成異常（Cerebellar dysplasia）からなる3つのCを頭文字とする症状を特徴とする症候群です。それらの症状に加え、近年の報告により精神発達、筋骨格系、免疫系、消化器系、泌尿器系、脂質代謝など、様々な組織・器官の機能障害を伴うことが知られています。原因としてはCCDC22、WASHC5という遺伝子の機能喪失型バリエーションが従来から知られていましたが、2020年に私たちがVPS35L遺伝子を第3の原因遺伝子として報告しました。ただし、私たちの報告した症例はCCDC22やWASHC5に原因となるバリエーションを持つ報告例よりも症状が多彩であったため、同一の症候群と捉えて良いのか、別疾患として捉えるべきなのかはまだ結論が出ておらず、本研究においては3C-like syndromeという記載にしています。

VPS35Lはレトリバー複合体、CCDC22はCCC複合体、そしてWASHC5はWASH複合体を構成するタンパクです。このレトリバー複合体、CCC複合体、WASH複合体はエンドソームと呼ばれる細胞内小器官で、協調して細胞膜タンパクの発現量を維持する重要な役割を果たしています。細胞膜タンパクがエンドソームに取り込まれた後、その膜タンパクには2つの運命があります。1つはライソソームに送られて分解されることで、もう1つは細胞膜にリサイクルされることです。レトリバー複合体はこのリサイクルにおいて重要な役割を担っています。細胞膜にはたくさんのタンパクがあり、それぞれ細胞への栄養供給や様々な指令伝達、細胞極性などに重要な役割を果たします。VPS35Lの機能不全によって、何故前述した多彩な症状が生じるのかはまだ殆ど分かっていませんが、私たちはVPS35Lの機能不全によって細胞膜タンパクの発現量が低下し、その膜タンパクが果たしている重要な細胞機能が障害されることが、3C-like syndromeの症状の背景に存在するメカニズムであると考えています。

結 果

難病医学研究財団より支援を頂き、私たちはその仮説を検証して病態解明するため、まず脂質異常症に着目しました。3C-like syndromeの患者さんでは、小児期から血清LDLの高値が見られています。患者さんの血清をゲル濾過HPLC法を用いてリポタンパク質のサイズによる分画データを解析したところ、VLDLとLDLの分画が増えており、かつLDL分画のピークの粒子径がコントロールに比較して大きくなっていることが分かりました。

次にこの脂質異常の原因を検討するため、マウス胎児繊維芽細胞（MEF）を用いて、VPS35Lの欠損細胞を作成しました。血清LDLはLDL受容体（LDLR）を介して細胞内に取り込まれますので、まずMEFの親細胞とVPS35L欠損細胞でLDLRの発現量を比較しました。結果、MEFにおいてVPS35Lを欠損させると、LDLRの細胞膜表現での発現量が大きく低下することが分かりました。続いて免疫沈降法というタンパク相互作用を確認する手法を用いて細胞内でのLDLRとVPS35Lとの相互作用を確認したところ、VPS35LとLDLRとが相互作用を有することが示されました。従って、LDLRが細胞膜からエンドサイトーシスによりエンドソームに取り込まれたのち、VPS35Lを含むレトリバー複合体がLDLRの細胞膜へのリサイクルの役割を担っており、VPS35L欠損細胞ではそのリサイクル機能が正常に働かず、分解系にLDLRが回ってしまうために細胞膜での発現量が低下していると考えられます。最後に、このLDLRの発現低下が脂質の取込み機能に影響を及ぼすのかどうかを確認したところ、VPS35L欠損細胞では親細胞に比較して有意にLDLの取込み能力が低下していることが示されました。



図：3C-like syndrome における脂質異常症の分子メカニズム

考察・今後の展望

本研究では脂質異常症のメカニズムを検討しましたが、患者さんは多彩な症状を有していますので、それらに関しても検討を行っていきたいと考えています。まずは主要な症状のメカニズムを明らかにすることにより、医学的マネジメントの確立や今後の治療法開発に繋げていきたいと考えています。

謝 辞

このような研究の機会を与えていただいた難病医学研究財団、ならびに研究に御協力頂いた患者様と御家族の皆様に心より深く感謝申し上げます。

SAMドメインを標的としたSAMD9分子標的療法の開発

国立成育医療研究センター研究所 分子内分泌研究部・研究員 中尾 佳奈子



【研究の背景】

私が研究しているMIRAGE症候群は、2016年に日本から報告された先天性副腎低形成症の一病型であり、2022年現在、世界から報告された患者数は約50名の稀少疾患です。MIRAGE症候群の疾患名は6つの主要徴候（造血異常、易感染性、成長障害、先天性副腎低形成症、性腺症状、消化器症状）の頭文字に由来します。患者さんの約半数は3歳までに亡くなり、その主な死因は重症感染症です。感染症以外にも、嘔吐や慢性下痢を伴う成長障害が遷延する方や、重度の造血異常によって頻回の輸血や骨髄移植を余儀なくされる方がいます。MIRAGE症候群はSAMD9遺伝子の機能亢進型変異によって生じますが、SAMD9分子の機能は分かっておらず、従って分子病態に基づく治療法はありません。

私たちの研究グループでは、SAMD9タンパク質を過剰発現させたMIRAGE症候群のモデル細胞を用いて、患者さんで同定される変異SAMD9タンパク質の過剰発現により著明な細胞増殖抑制が生じること、およびSAMという自己会合ドメインを欠失させる、または会合を阻害する変異を組み込むと、その病原性が解除されることを見出してきました。本研究は、変異SAMD9タンパク質の著明な細胞増殖抑制の解除またはSAMドメインの会合阻害を指標として、MIRAGE症候群の分子標的治療薬開発の第一歩となる既存薬のスクリーニングを目的として行いました。

【方 法】

1. SAMドメイン自己会合の定量的評価系の構築

まずSAMD9のSAMドメインにスプリット型ルシフェラーゼNanoBiTの各サブユニットを融合させた精製タンパク質（LgBiT-SAMとSmBiT-SAM）を作成します。この1組のタンパク質は、SAMドメインが自己会合したときだけルシフェラーゼ活性を生じるため、SAMドメイン自己会合の定量的評価系として利用できます。

2. 化合物スクリーニングの実施

変異SAMD9タンパク質を過剰発現するMIRAGE症候群モデル細胞と、上記のSAM-NanoBiT系の2種を用いて、東京大学創薬機構の化合物ライブラリーのうち、既存薬および既知薬理活性試薬から成るValidated Compound Libraryを利用し、モデル細胞の増殖抑制能を解除する化合物または/かつSAMドメインの自己会合を阻害する化合物の探索を行います。

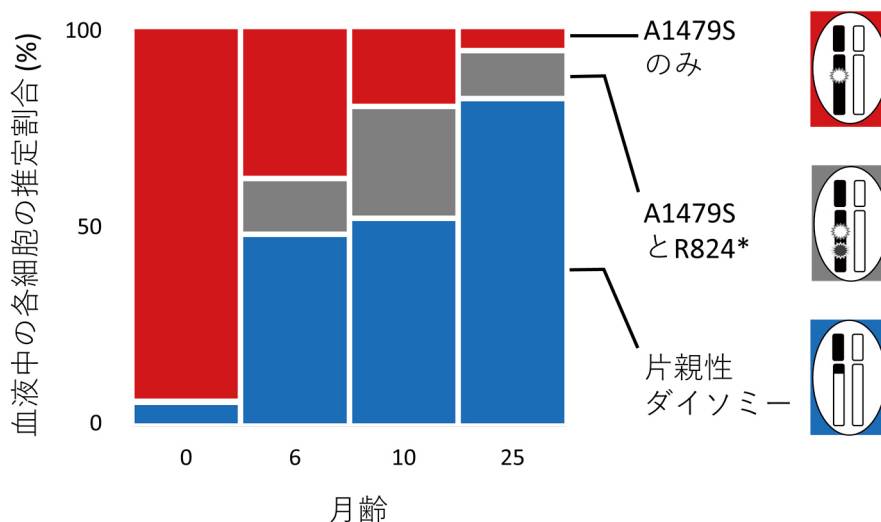
3. MIRAGE症候群および関連疾患の遺伝子診断とレジストリ構築

国内外からの依頼を受け、MIRAGE症候群の遺伝子診断や、新規SAMD9変異を同定した際の病原性評価を行います。これにより、医師間ネットワークを構築・維持し、SAMD9分子機能制御に有効な化合物が同定されSAMD9分子標的療法開発につながった際に、速やかに臨床治験への参画を呼びかけられる体制の礎となることを目指します。

【研究成果および今後の展望】

東京大学創薬機構の化合物ライブラリーから3,909化合物 2セットを申請利用し、モデル細胞を用いた検証は完了できました。変異SAMD9タンパク質のもつ増殖抑制の解除効果が示唆される化合物が複数見つかり、それらは再度利用申請を行い、再現性の確認を行うとともに、化合物名の照会を行い、SAMD9分子機能解明の端緒にしたいと考えています。同時に進めていたSAM-NanoBiT系の構築にも成功しました。現在はこの系での化合物スクリーニングを進めている段階です。

また、依頼のあったMIRAGE症候群患者さんの遺伝子診断を行う中で、過去に報告のないSAMD9変異 (p.Ala1479Ser) を同定し、モデル細胞を用いて著明な増殖抑制能 (病原性) を有することを確認しました。さらに、片親性ダイソミーによりSAMD9変異が取り除かれた細胞が後天的に患者さんの血液細胞において生じ、約2年間の経過でSAMD9変異の同定が困難になるほどその割合が増加しうることを確認しました(下図)。これはMIRAGE症候群を強く疑う患者さんでSAMD9変異が見つからなくても、出生直後の検体などを用いて再度検索を行うことの重要性を提唱する発見です。この成果をまとめ、下記論文として発表しました。



【論文】

Kanako Tanase-Nakao, Masanobu Kawai, Kazuko Wada, Masayo Kagami, Satoshi Narumi

Acquired uniparental disomy of chromosome 7 in a patient with MIRAGE syndrome that veiled a pathogenic SAMD9 variant

Clin Pediatr Endocrinol. 2021; 30(4):163-169.

【謝辞】

本研究を行うにあたり、ご支援いただきました公益財団法人難病医学研究財団、および、ご寄付をいただきました多くの皆様に心より御礼申し上げます。

染色体欠失患者由来 iPS 細胞病態モデルに対する ゲノム編集を応用した責任遺伝子探索

理化学研究所バイオリソース研究センター iPS細胞高次特性解析開発チーム・チームリーダー

林 洋平



【背景】

染色体異常は非常に高頻度で見られる遺伝的疾患であるが、効果的な治療法は現在のところ存在しない。1 遺伝子変異・機能異常に起因する疾患については遺伝子改変マウスなどの動物モデルが用いられるのが従来一般的であった。しかし、染色体異常に関しては、大規模な染色体構造が生物種ごとに異なっているために動物モデルが適用しにくい。また、近年ではゲノム編集によって、人工的に遺伝子改変することが可能であるが、大規模な染色体欠失を人工的に作出することはいまだ困難である。そこで、染色体異常疾患を持つ患者から直接に採取した疾患特異的ヒト多能性幹（iPS）細胞を用いて、様々な細胞種へと分化誘導することによって、染色体異常によって引き起こされる多彩な臨床症状をよく反映させることができるモデルを開発し、症状ごとの責任遺伝子や治療法の探索ができるのではないかと期待される。

申請者は、これまでの研究で、iPS細胞の分子機構と患者由来の疾患特異的iPS細胞を用いた難病研究において数々の研究成果を上げてきた。iPS細胞の作製と培養における技術開発や分子機構の解明により、難病研究にiPS細胞を利用しやすいよう整備してきた（Hayashi et al., PNAS 2015, Hayashi et al., Communications Biology 2018）。さらに、染色体異常関連疾患として、環状染色体に焦点を当て、その病態モデルを作製し、染色体を修復させる新規治療法のアイデアを得ることに成功した（Bershteyn*, Hayashi*, et al., Nature 2014 (*equally contributed)）。

以上の知見を反映し、本研究では、数多く存在する染色体異常疾患の中でも、4p欠失症候群（Wolf-Hirschhorn Syndrome (WHS)；指定難病198）と22q11.2欠失症候群（指定難病203）に焦点を当てる。これらの疾患を先駆けた対象として、新規技術を応用した独自の原因遺伝子探索法、創薬アッセイを開発し、これまで不明であった染色体異常疾患の原因遺伝子を同定し、創薬ターゲットとして将来的な治療法開発の道を拓く。

【方法】

本研究計画では、まず、4p欠失症候群と22q11.2欠失症候群患者由来iPS細胞を作製した。その特性解析を行い、自己複製能、多能性を維持しているかどうかを確認した。さらにそれぞれの病気に特有の染色体欠失を保持しているか、CGHアレイで解析した。さらに、これらの疾患に特有の特徴的顔貌、口蓋裂・軟口蓋閉鎖不全といった症状から、その発生過程で存在する神経堤細胞に着目し、神経堤細胞の特徴である遊走能や末梢神経、シュワン細胞、骨・軟骨細胞といった細胞種への多分化能や遺伝子発現における異常を解析した。

【結果・考察】

4p欠失症候群に関しては、世界で初めて患者4人から特異的iPS細胞を作製した。iPS細胞の作製にあたっては、患者由来の繊維芽細胞に、リプログラミング因子を搭載したエピソードプラスミドベクターを遺伝子導入した。これらの4p欠失症候群由来iPS細胞が自己複製と多分化能を有していることを示した。さらに、4p欠失症候群の網羅的なゲノム異常の有無を調べるために、CGHアレイの解析を行った。その結果、これらのiPS細胞株は4p16.3領域で共通して100遺伝子をヘテロに欠失していることが判明した。また、他の染色体領域には異常がなかった。これらの結果から、これらのiPS細胞が本研究計画、および、今後の4p欠失症候群に対する研究において、患者由来細胞モデルとして十分活用できると考えられる。

22q11.2欠失症候群に関しては、4名分の患者由来の繊維芽細胞に、リプログラミング因子を搭載したエピソードプラスミドベクターを遺伝子導入した。これらの22q11.2p欠失症候群由来iPS細胞が自己複製と多分化能を有していることを示した。さらに、22q11.2欠失症候群の網羅的なゲノム異常の有無を調べるために、CGHアレイの解析を行った。その結果、これらのiPS細胞株は22q11.2領域で共通してヘテロに欠失していることが判明した。また、他の染色体領域には異常がなかった。これらの結果から、これらのiPS細胞が本研究計画、および、今後の4p欠失症候群に対する研究において、患者由来細胞モデルとして十分活用できると考えられる。以上の内容を論文発表した（Shimizu et al., Stem Cell Research 2022）。

現在、これらのiPS細胞を神経堤細胞へと誘導させ、その異常表現型の有無を健常人由来iPS細胞と比較解析している。

【論文】

Tomoya Shimizu, Mami Matsuo-Takasaki, Dorian Luijkx, Miho Takami, Yutaka Arai, Michiya Noguchi, Yukio Nakamura, Tadayoshi Hayata, Megumu K. Saito d, Yohei Hayashi
Generation of human induced pluripotent stem cell lines derived from four DiGeorge syndrome patients with 22q11.2 deletion
Stem Cell Research 61 (2022) 102744

次世代マルチオミクス解析による 先天性大脳白質形成不全症の新規疾患発症機序の同定

浜松医科大学医学部附属病院・診療助教 平出 拓也



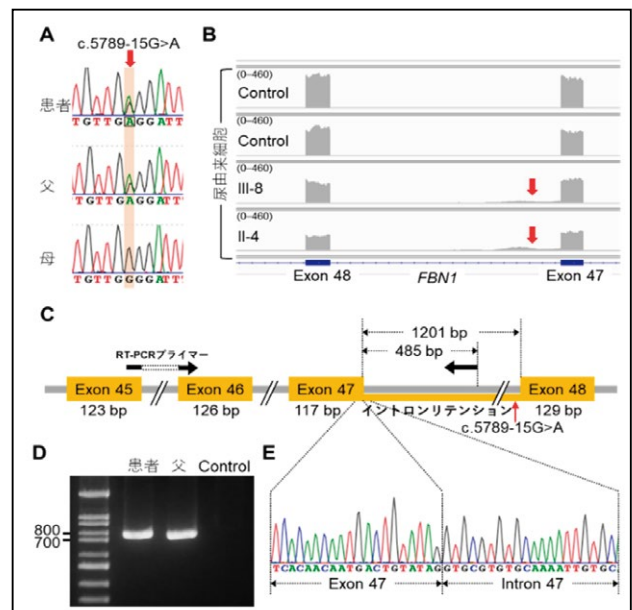
背景

遺伝子解析における次世代シーケンサーの進歩は、解析時間の短縮、コストの削減、診断率の向上を実現しています。ゲノム解析は、エクソーム解析では検出できない非翻訳領域に位置するバリエントや構造異常を同定することができますが、非翻訳領域の候補バリエントの病原性を評価することはしばしば困難です。一方、RNAシーケンス（RNA-seq）は、遺伝子発現とmRNAスプライシングの解析を通じて、ゲノム解析結果を解釈するために有用である可能性があります。しかし、RNA-seq研究において、一部の遺伝子はその発現が組織特異的であるため、遺伝子発現のある組織を用いて解析する必要があります。脳や心臓のような組織の生検は通常行われず、RNA-seqは全血、リンパ芽球系細胞株、皮膚線維芽細胞などの採取しやすい組織を用いて行われます。臨床的に利用しやすい検体の代表として、侵襲的な手技を必要としない尿があります。尿由来細胞を利用したRNA-seqの報告はありません。今回我々は、ゲノム解析と尿由来細胞のRNA-seqによるマルチオミクス解析を行い、イントロンバリエントによるスプライシング異常を明らかにしたので報告します。

方法と結果

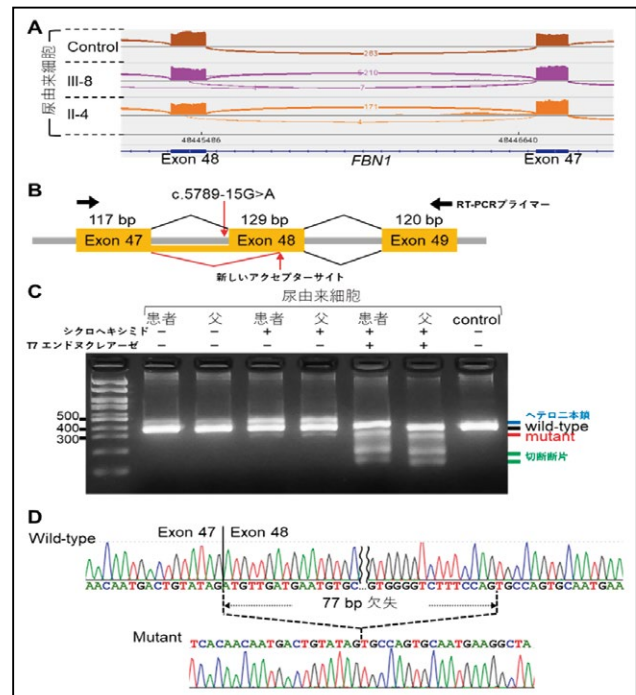
エクソーム解析で原因を同定できなかった神経発達障害関連疾患の患者について、血液白血球から抽出したゲノムDNAを用いて、ゲノムシーケンスを実施しました。抽出されたバリエントに対し、公共データベースに登録のある頻度0.5%以上のバリエントを除外することで、まれなバリエントを抽出しました。ゲノム構造変化および非コード領域のバリエントを検出し、スプライシングの変化を予測するためにAIプログラムであるSpliceAIを使用しました。その結果、Marfan症候群の患者において、*FBNI*遺伝子のイントロン47に罹患父由来のミスセンスバリエント（NM_000138.4：c.5789-15G>A）を同定しました（図1 A）。このバリエントはSpliceAIにて、スプライシング異常が予測されました。病的意義を確認するため、患者と父から尿を約100ml採取し、遠心分離して細胞を回収、尿由来細胞を培養液中で培養しました。十分な尿由来細胞の増殖を確認し、尿由来細胞を用いてRNA-seqを行いました。遺伝子発現異常、スプライス異常、片アレル性発現を検索しました。そ

図1. イントロリテンション



の結果、*FBNI*に片アレル性発現が検出され、ナンセンス変異依存性のmRNA分解が関与している可能性が示唆されました。患者RNA-seqのデータより、*FBNI*のイントロン47にコントロールにみられないリードが存在しており（図1B）、スプライスされるはずのイントロン配列がスプライスされずに保持される、イントロンリテンションが示唆されました（図1C）。RT-PCRにより患者と罹患父にコントロールにはみられないバンドが検出され、イントロンリテンションの存在を確認しました（図1D, E）。このイントロンの保持により、1949番目の残基（p.Asp1930Gly*20）に早期終止コドンが生成されることが示唆されました。さらにSashimi plotより、エクソン48に新しいアクセプターサイトを形成するまれな転写産物の存在が示されました（図2A, B）。転写産物量が少ないため通常のRT-PCRではバンドが不明瞭でしたが、ナンセンス変異依存性mRNA分解の阻害薬であるシクロヘキシミドを添加することで、スプライシング異常による異常な転写産物の存在を確認することができました（図2C）。T7 エンドヌクレアーゼによりヘテロ二本鎖を切断することでバンドが明瞭に示されました（図2C）。このスプライシング異常によりmRNAに77bpの欠失が生じ、1934番目の残基（Asp1930Val*5）に早期終止コドンが生成されることが示唆されました（図2D）。RNA-seqはスプライシング異常の検出に有用であり、転写産物量が少なくても、スプライシング異常を検出することが示されました。

図2. まれなスプライシング異常の検出



考 察

ゲノム解析により*FBNI*のイントロンバリエーションが同定され、AIプログラムによりスプライシング異常を予測、さらに尿由来細胞を用いたRNA-seqによりその病原性が確認されました。ゲノム解析と尿由来細胞のRNA-seqを利用したマルチオミクス解析はエクソーム解析で未解決の症例に対する遺伝学的解析手法として有用でした。今後、さらなる解析手法の発展により、未解決症例の診断率がさらに向上することが期待されます。

論 文

Takuya Hiraide, Kenji Shimizu, Sachiko Miyamoto, Kazushi Aoto1, Mitsuko Nakashima, Tomomi Yamaguchi, Tomoki Kosho, Tsutomu Ogata, Hiroto Saito

Genome sequencing and RNA sequencing of urinary cells reveal an intronic *FBNI* variant causing aberrant splicing

Journal of Human Genetics; <https://doi.org/10.1038/s10038-022-01016-1>

新規抗原同定法を用いた再生不良性貧血における自己抗原の探索

金沢大学附属病院高密度無菌治療部・助教 細川 晃平



背景・目的

特発性再生不良性貧血（acquired aplastic anemia, AA）は汎血球減少を特徴とする血液難病であり、抗胸腺細胞グロブリンやシクロスポリンなどの免疫抑制療法が奏効することから、T細胞の異常によって起こる一種の自己免疫疾患であると考えられる。造血幹細胞上の自己抗原を認識する細胞傷害性T細胞（CTL）が何らかの誘因によって誘導される結果、造血幹細胞が減少し発症すると考えられているが、現時点でCTLの標的となる自己抗原は不明である。（図1）これまでの研究において、AAの自己抗原提示に最も重要な役割を果たすHLAクラスIアレル（HLA-B*40:02）を同定するとともに、このアレルを有する患者由来の細胞傷害性T細胞株が、自己のiPS細胞由来造血幹前駆細胞（HSPC）をHLA-B4002拘束性に傷害することを明らかにしてきた。本研究の目的は、HLA-B4002が提示するAAの自己抗原を明らかにすることである。

方 法

- ① 野生型HSPCは傷害するが、B4002欠失HSPCは傷害しないCTL クローンから細胞傷害活性を持つCTLのTCRクロノタイプを決定し、健常者のT細胞とレトロウイルスを用いてTCR導入T細胞を作製した。
- ② HLA-B4002、B5401などの特定のHLAを発現させたK562細胞にCD80・CD137Lなどの共刺激分子を導入した人工抗原提示細胞を作製し、TCR導入T細胞のHLA導入K562細胞やiPS細胞由来造血幹細胞に対する細胞傷害活性をIFN γ のELISA 法により決定した。
- ③ HLA 導入K562 細胞からHLAクラス I 抗体を用いて免疫沈降を行いHLA結合ペプチドを精製したのち、酢酸バッファーを用いてnanoLC-MS/MSで解析することにより、HLA分子によりに提示されるペプチドを同定した。
- ④ ③により明らかとなった遺伝子をCRISPR/Cas9によりノックアウトしたK562細胞を作製し、②で決定したTCR導入T細胞との反応性をIFN γ のELISA 法により評価した。

結 果

CTLクローンの中で、高頻度に検出されたTCRのうちの一つは、同一症例の発症時の骨髓PD-1陽性CD8陽性T細胞からも検出された。CTLのうち、高頻度に認められた2種類のTCRを導入したTCR導入T細胞はHLA-B4002拘束性にHLA-B4002導入K562細胞または野生型のiPS細胞由来HSPCを傷害した。HLA-B4002導入K562細胞をHLAクラスI抗体により免疫沈降を行い、nanoLC-MS/MSで解析した

ところ、15個のペプチドが同定されたが、そのうち10個はHLA-B4002によって抗原提示されやすいアミノ酸配列を有していた。それらのペプチドのうち、造血幹細胞の増殖に重要な役割を果たしている特定の遺伝子XをCRISPR/Cas9によりノックアウトしたK562-B4002細胞を作製し、上記2種類のTCR導入T細胞の反応を評価したところ、コントロールと比較して有意に反応が減弱していた。

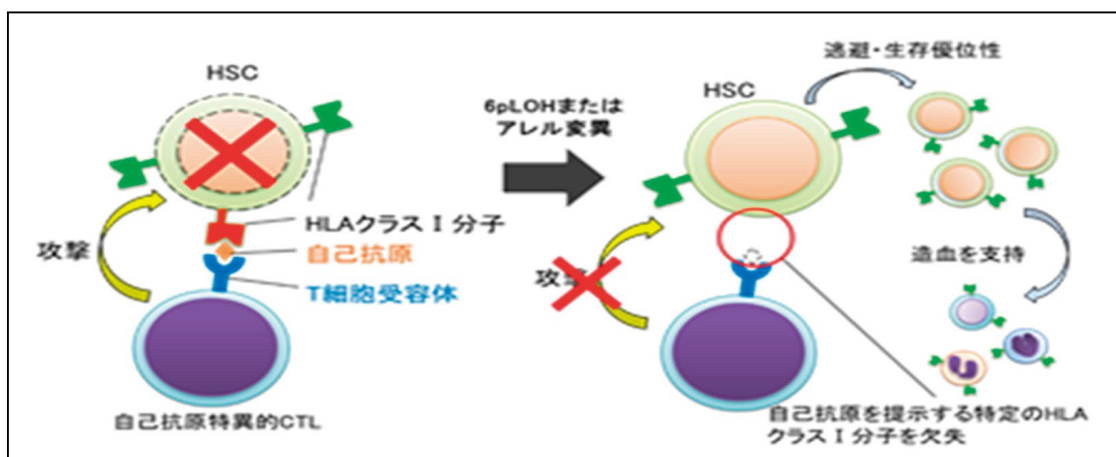
考 察

AA研究において、造血幹細胞を攻撃しているCTLの実態やその標的抗原は長年不明であった。その大きな理由としては、発症時既に骨髄が枯渇していることから、十分な造血幹細胞が得られず、病態研究が困難であるという問題があった。今回同定されたTCR導入T細胞は発症時の骨髄PD-1陽性CD8陽性T細胞にも検出され、HLA-B4002拘束性にiPS細胞由来HSPCやK562細胞に対する細胞傷害活性を有していたことから、HLA-B4002によって提示される自己抗原を認識している可能性があると考えられた。nanoLC-MS/MSにより同定されたHLA-B4002に提示されるペプチドのなかから、特定の遺伝子をCRISPR/Cas9を用いてノックアウトしたところ、TCR導入T細胞の細胞傷害活性が減弱したことから、AAの自己抗原となっている可能性があり、さらに検証を進めていく必要がある。本研究をさらに継続・発展することにより、効果的かつ副作用の少ない新たな治療法開発につなげたい。

謝 辞

最後になりましたが、本研究に多大なるご支援を頂きました、難病医学研究財団の皆様、さらに、財団へご寄付くださいました方々に心よりお礼申し上げます。今後、難病の克服に向け、より一層研究に励んで参ります。

図1. HLA クラス I アレルを欠失した造血幹細胞の細胞傷害性 T 細胞からのエスケープ



無痛症の組織修復学

自然科学研究機構生理学研究所・特任准教授 丸山 健太



【目的】

申請者は遺伝学的に痛覚神経を除去した無痛覚神経マウス (*Nav1.8CreRosa26DTA* マウス) を作出し、表現型の詳細な解析をおこなった。その結果、当該マウスは6カ月齢より脱毛を伴った皮膚潰瘍が全身に多発し、皮膚・筋・骨損傷モデルの自然修復が、野生型と比べて大幅に遷延することを見出した(未公開、以下のデータはすべて未公開)。痛覚神経のトランスクリプトーム解析からは、抗菌ペプチドの一種であるReg3 γ の発現が細菌感染の刺激で誘導されることが判明し、痛覚神経特異的Reg3 γ 欠損マウス (*Nav1.8Cre Reg3 γ ^{flox/flox}* マウス) は野生型マウスと比べて皮膚・筋・骨損傷修復が遷延していた。Reg3 γ のプロモーター領域にはNZF/MyT1ファミリー型の転写抑制因子であるSt18の結合配列が存在したため、痛覚神経特異的St18欠損マウス (*Nav1.8Cre St18^{flox/flox}* マウス) を作出して解析したところ、当該マウスの痛覚神経において野生型と比較し5倍以上のReg3 γ の発現が確認された。また、*Nav1.8Cre St18^{flox/flox}* マウスの皮膚損傷修復期間は、野生型と比較して短縮していた。そこで本研究では、感染を契機に痛覚神経から放出されるReg3 γ の発現制御機構を明らかにすると同時に、Reg3 γ による組織修復促進作用の分子機構の解明を目指した。

【研究成果】

Reg3 γ のプロモーター領域には転写因子Stat3の結合配列が存在したため、痛覚神経特異的Stat3欠損マウス (*Nav1.8CreStat3^{flox/flox}* マウス) と痛覚神経特異的St18欠損マウス (*Nav1.8CreSt18^{flox/flox}* マウス) を黄色ブドウ球菌の死菌やカプサイシンで刺激した際の遺伝子発現データの解析を行ったところ、①黄色ブドウ球菌の死菌やカプサイシンは痛覚神経にReg3 γ の発現を誘導する、②黄色ブドウ球菌の死菌やカプサイシンで刺激した*Nav1.8Cre Stat3^{flox/flox}* マウス由来の痛覚神経ではReg3 γ を含むStat3の標的遺伝子の発現が低下している、③黄色ブドウ球菌の死菌やカプサイシンで刺激した*Nav1.8Cre St18^{flox/flox}* マウス由来の痛覚神経ではReg3 γ を含むStat3の標的遺伝子の発現が上昇していることが明らかとなった。皮膚損傷モデルを施した*Nav1.8Cre Reg3 γ ^{flox/flox}* マウスの組織修復過程における病理組織学的変化を観察したところ、野生型と比べて間葉系幹細胞の減少が観察された。Reg3 γ の受容体であるExtl3のリンパ球・単球・上皮幹細胞・筋幹細胞・間葉系幹細胞・破骨細胞・骨芽細胞における発現を検討したところ、間葉系幹細胞でその発現が強いことが判明した。また、*in vitro*で骨髄由来の間葉系幹細胞にReg3 γ をふりかけたところ、その増殖が促進された。

【結 語】

皮膚・筋・骨修復機構における侵害受容システムの機能は謎にまつまれている。今回の研究によって、Reg3 γ が感染や痛み刺激によってStat3依存性に痛覚神経より放出され、これが局所の組織修復を促進させていることが判明した。また、St18を痛覚神経で欠損させると、痛覚神経からStat3の標的遺伝子と考えられるReg3 γ が多量に放出されることで組織修復が促進する。Reg3 γ が間葉系幹細胞を標的としてその増殖を促進していることも示唆されたため、今後はReg3 γ 或いはReg3 γ の機能を洗練させた人工ペプチドを各種再生医療に応用するための基礎的な検討をすすめてゆくことが重要である。

【謝 辞】

本研究に必要な資金を提供していただいている難病医学研究財団に、この場を借りて心より感謝申し上げます。



細胞保護を標的とした多発性硬化症に対する脱髓予防法の開発

自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門・助教 山崎 礼二



背景・目的

多発性硬化症は中枢神経系のミエリンが破壊されることにより、神経麻痺や感覚障害が引き起こされる難治性の脱髓性疾患である。現在、多発性硬化症の再発予防には免疫抑制薬が使用されているが、再発と寛解を繰り返すことで病状が進行する。これまでの多発性硬化症研究には頻繁に脱髓モデルマウスが使用されてきた。しかしながら、従来の脱髓モデルでは脱髓後の組織再生と運動機能を同時に評価することは困難であった。そこで、研究代表者は四肢の運動機能を制御する皮質脊髓路の主要経路である内包白質に脱髓誘導剤であるリゾレシチンを局所投与することで半身麻痺が誘導され、その後の組織再生に伴い運動機能が回復する新たな脱髓モデルの開発に成功した（図1）。また、研究代表者はこれまでの研究から細胞保護効果を持つクレアチンに脱髓軽減効果があることを見出した。

そこで、本研究は研究代表者が独自に開発した内包脱髓モデルマウスを用いた薬剤評価系を確立させ、内包脱髓モデルを用いてクレアチンの効果を運動機能解析と組織学的解析の両面から検証することを目的とした。

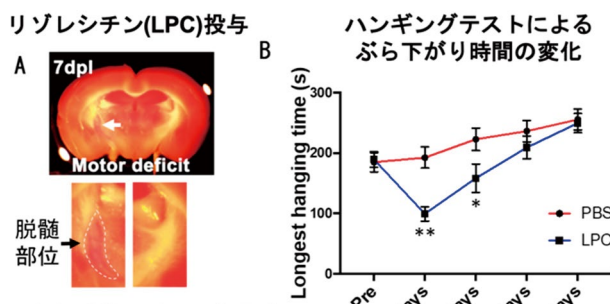


図1 内包脱髓モデルの表現系

A. LPC投与7日後、ニュートラルレッドによって内包に大きな脱髓（点線内）が観察された。B. 内包脱髓後に急性の運動麻痺が見られ、再ミエリン化とともに運動機能が回復する。

方法・結果

① 内包脱髓モデルマウスを用いた薬剤評価系の確立

内包脱髓モデルマウスによって、薬剤評価が可能かどうかを調べるために、脳定位固定装置を用いて成熟マウスの内包白質にリゾレシチンを投与し、内包脱髓モデルマウスを作製した。次に、現在再ミエリン化を促進することが明らかになっているクレマスチンをポジティブコントロールとして、早期の脱髓が観察されるリゾレシチン投与3日後からPBSまたはクレマスチン（10mg/kg）を腹腔内に1日1回計7日間投与した。その後脱髓誘導10日後の運動機能を測定するために、Grip strength test（握力試験）とワイヤーハンギングテストを行った。その結果、PBS投与群と比べてクレマスチン投与群では握力が上昇し、ワイヤーハンギングテストによるぶら下がり時間が伸びた。また、内包脱髓に伴う半身麻痺の程度を比較するためにシリンダーテストを行なったところ、クレマスチン投与により半身麻痺の軽減が見られた。次に、組織学的に再ミエリン化が促進されている

かを調べるためにマウス脳凍結切片と超薄切片を作製し、各種マーカーを用いた免疫蛍光染色法と電子顕微鏡観察によって解析した。その結果、クレマスチンの投与によりミエリン形成細胞である成熟オリゴデンドロサイトの増加と軸索障害の軽減が観察された。また、電子顕微鏡解析から脱髄軸索数の減少と再ミエリン化の促進が認められた。

② 内包脱髄モデルマウスを用いたクレアチンの薬効解析

成熟マウスにクレアチン欠損飼料（CR-Def）または2%クレアチン含有飼料（CR）を4週間摂取させ、クレアチン欠乏マウスとクレアチンを十分に摂取したマウスを作製した。次に、これらのマウスの内包にリゾレシチンを注入することで内包脱髄モデルを作製した。クレアチン投与により内包脱髄に伴う運動機能障害が軽減されるかを検証するために、リゾレシチン注入前、注入7、14日後に握力試験とワイヤーハンギングテストを行った。その結果、CR-Def投与群ではリゾレシチン注入7日後に顕著な運動機能障害が観察された。それに対して、CR投与群ではリゾレシチン注入7日後には注入前と比べて内包脱髄に伴う運動機能障害が見られなかった。また、電子顕微鏡による観察結果から、クレアチンの長期摂取によりリゾレシチンによる脱髄が軽減される可能性が示唆された。

考察と今後の展望

本研究により、内包脱髄モデルマウスを用いた新たな薬剤評価系を構築することができた。そのため、このモデルマウスを用いることで再ミエリン化に伴う運動機能評価が可能となり、これまで以上に有効な薬剤評価ができると考えられる。また、クレアチンの経口摂取により脱髄に伴う運動機能障害を軽減させる可能性が示された。

従来の多発性硬化症治療では免疫細胞に作用する治療法が中心であったが、クレアチンは細胞の代謝機構にアプローチする新たな再発予防法である。そのため、従来の再発予防薬とは明らかに作用機序が異なる。したがって、将来的には従来の免疫抑制薬とクレアチンのような細胞代謝の調節薬を併用することで、より高い再発予防効果が期待される。今後はクレアチンによる髄鞘保護メカニズムを明らかにし、多発性硬化症の治療法開発に繋げたいと考えている。

謝 辞

この度は公益財団法人難病医学研究財団からのご支援をいただきありがとうございました。この場をお借りして心より感謝を申し上げますとともに、貴財団のますますの発展と少しでも早く多くの難病が克服されることをお祈りいたします。

論 文

Reiji Yamazaki, Yasuyuki Osanai, Tom Kouki, Yoshiaki Shinohara, Jeffrey K. Huang & Nobuhiko Ohno

Macroscopic detection of demyelinated lesions in mouse PNS with neutral red dye
scientific reports; <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96395-4>

Klippel-Trenaunay症候群におけるPI3K経路の遺伝子変異解析

北海道大学病院形成外科・助教 石川 耕資



背景と目的

Klippel-Trenaunay症候群は、皮膚のポートワイン母斑（毛細血管奇形）、静脈瘤（静脈奇形）、患肢の骨軟部組織肥大の3徴をもつ疾患として報告されました。毛細血管奇形、動静脈瘻、患肢の過成長を伴うParkes Weber症候群と混同されることが多いですが、自然経過や治療法が異なることから明確な鑑別診断が求められます。しかし、幼小児期におけるKlippel-Trenaunay症候群とParkes Weber症候群の区別は困難な場合が多く、両者を包含したクリッペル・トレノネー・ウェーバー症候群（指定難病281）という病名が慣用的に用いられています。いずれも過成長を伴う混合型脈管奇形ですが、原因遺伝子の違いが明らかになってきています。

近年、細胞増殖やエネルギー代謝に重要なPhosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) /AKT/mTOR経路(図)の上流に位置する酵素PI3K α をコードする*PIK3CA*遺伝子の体細胞性活性化突然変異により、一連の疾患が生じることがわかり、それらは*PIK3CA*関連過成長スペクトラム(*PIK3CA*-related overgrowth spectrum: PROS)と呼ばれ、Klippel-Trenaunay症候群もPROSの一疾患として捉えられるようになりました¹⁾。2018年PROSに対するPI3K α 阻害薬の有効性がフランスから報告²⁾されましたが、遺伝子変異の人種間における違いは明らかになっていません。そこで、日本人のKlippel-Trenaunay症候群における遺伝子変異を明らかにし、新たな薬物療法の適応を明らかにするべく本研究を行いました。

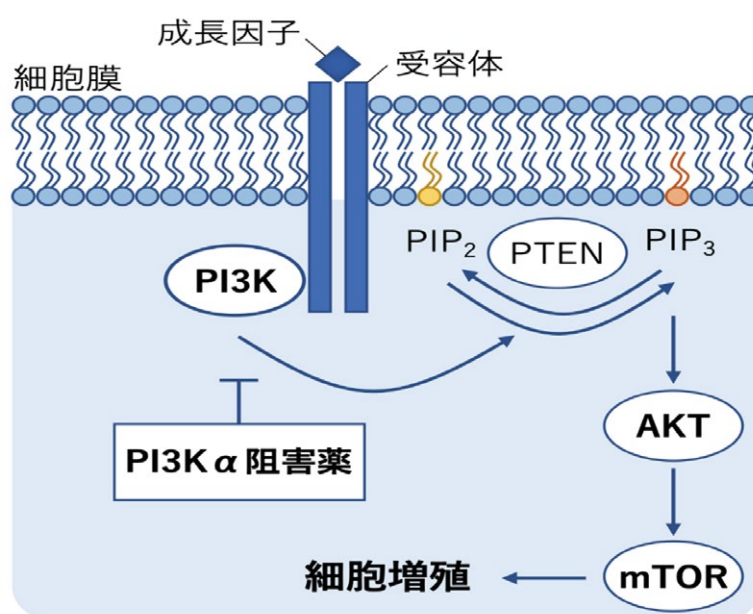


図. PI3K/AKT/mTOR 細胞内シグナル伝達経路

方法と結果

2011年～2020年にクリッペル・トレノネー・ウェーバー症候群の病名登録がなされ、その手術を受けたISSVA (International Society for the Study of Vascular Anomalies) 分類2018の診断基準による下肢Klippel-Trenaunay症候群のうち、研究に対して文書による同意を得られた14症例を対象としました。過去の手術により得られたホルマリン固定パラフィン包埋組織標本よりDNAを抽出し、*PIK3CA*全エクソンを対象にデザインしたカスタムパネルを用いて次世代シーケンスによる遺伝子変異解析を行いました。結果、対象となった14例のうち、12例で*PIK3CA*遺伝子変異を認めました(論文投稿準備中)。

考察・今後の展望

欧米からの既報^{3, 4)}と同様に、日本人のKlippel-Trenaunay症候群を対象とした本研究でも、86%の症例で*PIK3CA*遺伝子変異を確認できました。現在、遺伝型と表現型の関係性の解析を進め、表現型から遺伝型を推測できないか検討しています。

2022年4月5日、米国食品医薬品局(FDA)によりPI3Kα阻害薬であるAlpelisibが2歳以上のPROSに対して承認されました。本研究成果により、日本人のKlippel-Trenaunay症候群においてもPI3Kα阻害薬が有効である可能性が示され、我が国においてもPROSがPI3Kα阻害薬による薬物療法の適応疾患として承認されることが期待できます。

謝 辞

本研究は公益財団法人難病医学研究財団の令和2年度医学研究奨励助成事業により実施することができました。本助成事業にご支援賜りました皆様に深く感謝申し上げます。今回の研究内容をさらに発展させ、新規治療の発展に貢献できればと考えております。

参考文献

- 1) Vahidnezhad H, et al: Exp Dermatol 25: 17-9, 2016
- 2) Venot Q, et al: Nature 558: 540-6, 2018
- 3) Luks VL, et al: J Pediatr 166: 1048-54 e1-5, 2015
- 4) Brouillard P, et al: Orphanet J Rare Dis 16: 267, 2021

digital PCRを用いた筋萎縮性側索硬化症患者 体液中マイクロRNAの検証

北海道大学病院脳神経内科・助教 岩田 育子



【研究概要】

筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic Lateral Sclerosis：ALS）は運動ニューロンが脱落することで、全身の筋力が低下する疾患です。その終末期には筋萎縮が進行し、食べ物や飲み物を飲み込むこと、及び呼吸を行うことも困難になる神経難病です。主に成人期に罹患し、日本では人口10万人あたり、1-2人に新たに発症します。全体の10%程度に、遺伝子の異常が関連する家族性ALSが存在することが指摘されています。現在、その原因に関して完全な理解には至っておりません。

近年、TDP-43タンパク質が運動ニューロン内に蓄積することが指摘されました。このTDP-43タンパク質の本来の役目は、細胞の中と外を、タンパク質作成の鋳型であるRNAを乗せて往復することです。このような、RNAを乗せる役割を持つタンパク質をRNA結合タンパク質と呼びます。家族性ALSの原因遺伝子には、RNA結合タンパク質の遺伝子異常や、非コード性RNAのリPEAT数異常伸長によるものが数多く発見されました。以上から、ALSの発症原因の1つとして、RNAを介した異常が注目されるようになりました。

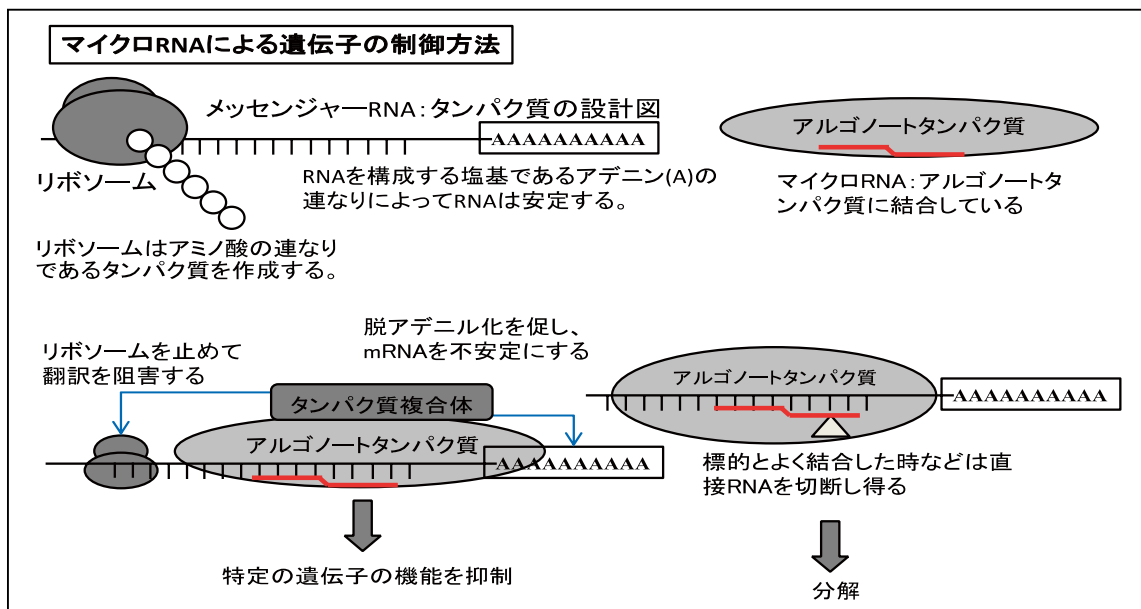


図1：マイクロRNAの概要：主にマイクロRNAによる標的遺伝子の制御方法

ALSの研究に関するもう1つの課題として、診断、疾患進行や治療効果の指標として活用できるバイオマーカー開発があります。特に、病態と関連し、ALS特有のものとして十分満足できるバイオマーカー物質はこれまで特定できていませんでした。私は、ALSの新規バイオマーカー候補として、RNA

の中でも極めて短く、それ自身がタンパク質の鋳型になるのではなく、鋳型であるメッセンジャーRNAに対して制御する機能を持つ特殊なRNAであるマイクロRNAに着目しました（図1）。ヒトではおおよそ2000種のマイクロRNAが存在していると言われており、このどれがALSに関連が深いのか、患者の実際の血液及び脳脊髄液を用いて検討しました。

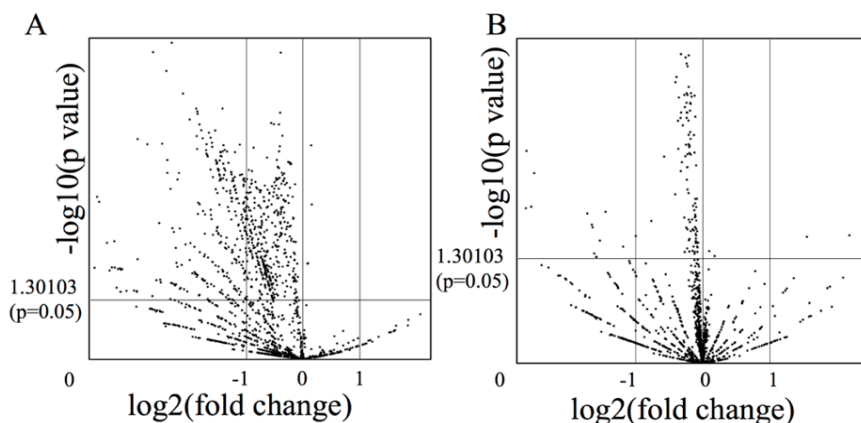


図2：ALS患者のマイクロRNAプロファイル：右上ほど増加し、左上ほど減少している。

具体的には、同時にたくさんの遺伝子などを比較検討する技術である、マイクロアレイを用い、ALS患者で特に増加、減少しているマイクロRNAを検出しました（図2）。次に、逆転写PCRを用いて、再現性があるのか、またALSの進行を加速させるものがないか、あるいはその逆に遅らせるものがないかを検討しました。結果として、いくつかのマイクロRNAがALSの発症や、進行に影響することがわかりました。

この結果を検証するため、ALS患者さんから頂いた血液150例、健常の方からご提供を頂いた血漿150例、ALS患者さんから頂いた脳脊髄液80例、それ以外の患者さんから頂いた脳脊髄液80例を使用し、デジタルPCRによる解析を現在進めています。血漿と脳脊髄液より、薬剤を用いてRNAを抽出し、さらに、それを鋳型として合成DNAを作成します。今回使用するデジタルPCRでは、非常にたくさんの微細な枠に少数の合成DNAが入るか、あるいは入らないような濃度に設計しています。合成DNAは枠の中で増幅し、通常のPCRと同じように、ある程度増幅すると、光ることで検出できるようになります。そのため、光らなかった枠と光った枠の数を数えることで、存在していた合成DNAの量を計算します。この方法は、血液や脳脊髄液に存在するマイクロRNAのような極めて微量のRNAを測定する上で、最適な方法と考えられます。

現在、国内外の他の研究においても特定のマイクロRNAがALS患者の体液中で変動を示すことが報告されています。これまでに特定されてきた数種類のマイクロRNAについて、実際の患者さんの診断や進行の予測に役立てるため、より安定した測定システムを開発する必要があります。私は、新しい遺伝子検出システムである、デジタルPCRを用いて、これらの候補の中で最も患者さんの診断に役立てられるマイクロRNAは何なのか、また、その抑制対象となる遺伝子によって治療へも役立てたいと考えています。

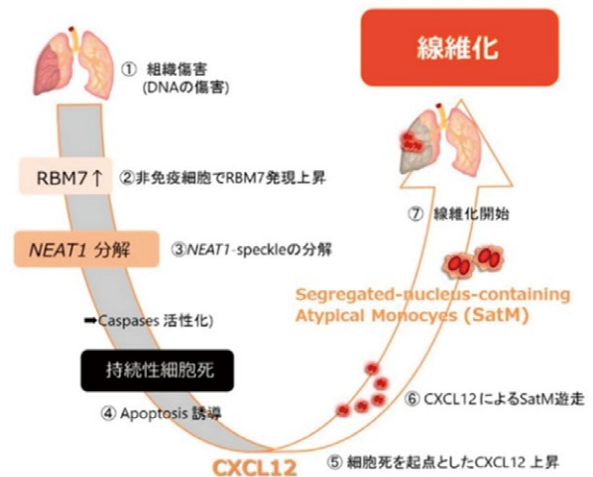
線維症誘導遺伝子RBM7および肺線維症特異的単球サブセットを標的とした肺線維症治療戦略

大阪大学大学院医学系研究科呼吸器・免疫内科・助教 福島 清春



特発性肺線維症（Idiopathic Pulmonary Fibrosis: IPF）は予後不良の指定難病です。従来、肺線維症の病態は「慢性の胞隔の炎症から肺障害、そして線維化に至る過程」として捉えられてきました（慢性炎症仮説）（Raghu, G. et al. AJRCCM 2015）。しかしながら、近年の分子生物学的研究の進歩により、線維症とは慢性炎症自体に起因するものではなく、異常な創傷治癒過程としての持続的な繊維芽細胞巢の増生・進行性の線維化が起こるものとして理解されるに至り、線維化それ自体のメカニズムが研究・創薬の標的として中心的な存在となり病態をめぐる理解に関しても近年大きな転換がもたらされました。

申請者らはマウス肺線維症モデルにおいて線維化の進行とともに患部に集まるある特定の単球が線維症の発症に関与していることを解明し、特徴的な2核様の核型からSegregated atypical monocyte (SatM) と名前を付けて報告しました（Nature 2017）。続いて、申請者は線維化の発症時には非免疫系細胞の細胞死が起こり始めること、またその死にゆく細胞からCXCL12が発現され、線維化の起点となるマクロファージであるSatMが患部に集積することを明らかにし、免疫細胞と非免疫細胞の相互作用が線維症発症の鍵であることを見出しました。さらに、線維化期に誘導されるRBM7という遺伝子が、NEAT1というlong non-coding RNAの分解を介して線維症の発症に関与していることを解明しました。（Immunity 2020）。



また、進行性線維化を伴う間質性肺疾患（progressive fibrosing interstitial lung disease : PF-ILD）患者を対象に、ニンテダニブ投与時の有効性および安全性を検討したINBUILD[®]試験において、主要評価項目である努力肺活量FVCの年間減少率において、患者集団全体で肺機能低下がプラセボ投与に対し57%抑制されました。（Flaherty KR, et al. NEJM 2019）。以上より、慢性線維化性肺疾患は多種の原因により多様な病態を呈しますが、疾患の進展に関わる共通な分子メカニズムを共有すると考えられるにいたっています。すなわち、肺線維症の病態・治療を明らかにすることはIPFのみならず多数の進行性線維化を伴う間質性肺疾患患者の新たな治療法開発への道を開くことになります。

間質性肺疾患は多様な病態を呈し、ステロイドなどの免疫抑制療法が奏功し線維化を伴わずに病態がコントロール可能な一群と免疫抑制療法に対する反応性に乏しく進行性線維化を伴うものに大別されます。線維化促進性免疫細胞サブセットの重要性が認識されつつあるが、その多くは線維化肺vs健常肺の比較であり、間質の病態の反映であり真に線維化と関連しているか不明な点が多い。

以上より、健常、非線維化性間質性肺疾患、進行性線維化を伴う間質性肺疾患を比較検討することで

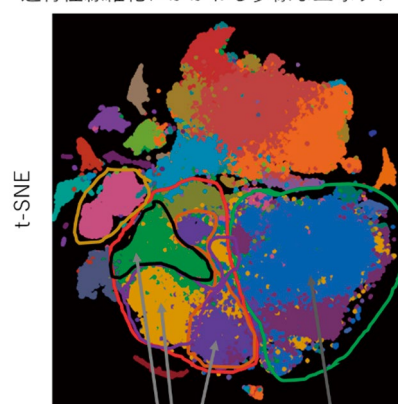
はじめて、間質に病態を有し真に線維化と関連する新規の標的を見出すことが出来ると考えられます。

RBM7は線維化とともに著しく増加しますが、その発現を制御するメカニズムは不明でした。RBM7の発現上昇はRNAレベルよりもタンパクレベルで顕著であること、プロテアソーム阻害薬であるMG132投与によりRBM7の発現が上昇することにより、タンパク分解のレベルでの制御が重要であると考えました。共免疫沈降-質量分析により、RBM7がE3ユビキチンリガーゼであるHUWE1, LTN1, SHPRH, RNF140と相互作用することを見出しました。現在、これらのE3ユビキチンリガーゼに関してsiRNAを用いて発現を抑制しRBM7発現との関連性を検討しており、今後ノックアウトマウスを作成することで治療標的としての妥当性の検討をおこなう予定としています。

複雑で多様な肺線維症の病態の理解のために、バルク解析による平均値を捉えるこれまでの手法では見逃されてきた特定の細胞集団の同定をシングルセル解析により解決することをめざしました。申請者はすでに線維症特異的血球サブセットであるSatM (Nature 2017) を見出しているとともに、線維化肺において非免疫細胞との相互作用による細胞内代謝変化により、特定の単球由来マクロファージ細胞群に線維化促進性の形質が誘導されることを見出しました。間質性肺疾患患者さんの気管支肺胞洗浄液のシングルセル解析により、複数の異なった免疫細胞サブセットが線維化の進行と関連していることを見出しました。これら細胞群はそれぞれ特徴的な遺伝子発現、表面マーカーを有し、密接な相互連関が進行性線維化病態を形成していると考えます。この事実は間質の病変の反映としての免疫細胞サブセットと、進行性線維化に特異的な免疫細胞サブセットを、非線維化性間質性肺疾患患者の免疫細胞動態を考慮することにより明確に分離することが出来ることを示唆しています。

さらには、遺伝子発現パターンの類似性から細胞を擬似時間軸で並べ細胞の分化経路を調べるTrajectory解析をおこなったところ、これらの細胞群は単一のサブセットに由来することがわかった。このことより、間質性肺疾患において特徴的なマクロファージサブセットの分化が促進されるとともに、多様な細胞間相互作用の中で線維化を運命づけるpopulationと炎症病態の増悪にかかわるpopulationに分離し、複雑な病態形成が行われている可能性が示唆されました。

間質性肺疾患における
進行性線維化にかかわる多様な血球サブセット



線維化関連マクロファージ 常在性マクロファージ

【論文】

Yuko Abe, Yasuhiko Suga, Kiyoharu Fukushima, Hayase Ohata, Takayuki Niitsu, Hiroshi Nabeshima, Yasuharu Nagahama, Hiroshi Kida and Atsushi Kumanogoh

Advances and Challenges of Antibody Therapeutics for Severe Bronchial Asthma

Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 83.

Kiyoharu Fukushima, Seigo Kitada, Yuki Matsumoto, Sho Komukai, Tomoki Kuge,

Takahiro Kawasaki, Takanori Matsuki, Daisuke Motooka, Kazuyuki Tsujino, Mari Miki, Keisuke Miki, Shota Nakamura, Hiroshi Kida

Serum GPL core antibody levels are associated with disease activity and treatment outcomes in Mycobacterium avium complex lung disease following first line antibiotic treatment

Respiratory Medicine 187 (2021) 106585

最強度近視・病的近視の遺伝子診断法の確立

京都大学大学院医学研究科眼科学・特定講師 三宅 正裕



失明に至る極端な近視（最強度近視、病的近視）は家族性に発症することが多く、疫学的にも、1）京都大学のコホート研究であるながはまスタディでは、通常の近視は若い世代ほど増加するのに対し、最強度近視は年代によらずほぼ一定の割合で存在する事から、最強度近視では環境因子の影響がほとんどない（ほとんどが遺伝因子である）可能性が高いという知見を得ている（*Ophthalmology*, 2020）ほか、2）東京医科歯科大学の解析により、成人以降に病的近視を発症した患者の83%では、小児期にすでに網膜萎縮がみられ、通常の学童近視と異なることが示されている。一方で、これまで少数の強度近視家系で全エクソン解析が行われているが、強度近視家系に共通するような単一の原因遺伝子は見つかっていない。上記のことから、申請者は、最強度近視は、網膜色素変性症などと同様に、「表現型に基づいて同一疾患として括られた、異なる原因遺伝子を持つメンデル遺伝性疾患の集合」ではないかと考え（=最強度近視は遺伝的異質性を持つ疾患だと考え）、京都大学眼科の強度近視専門外来に通院する最強度近視患者の全ゲノムシーケンスを進めた。家系データを十分に揃えることは難しいため、short tandem repeat (STR) やcopy number variant (CNV) を含むレアバリエーション解析を行った。

我々は、CNVに関して、最強度近視125名の全ゲノム解析（WGS）結果を、京都大学が保有する全ゲノムパネル3,489例と比較した。5,000bp以上の長さを持つ遺伝子20,392個を対象として検定を行った。ゲノムワイド有意水準を $P=0.05/20392$ にセットしたところ、計13個の遺伝子において、遺伝子コピー数に統計学的にゲノムワイドに有意な偏りがあることが同定された（preliminary data, 表1）。非常に興味深いことに、ムチンファミ

リーのうちMUC1, MUC3A, MUC12, MUC6, MUC4が上位に集積していることが分かる。更に、パスウェイ解析を行ったところ、O-グリカンパスウェイなどが統計学的に有意に関連していることが分かった。ムチンには膜型と分泌型があるが、主に膜型ムチンの関連が強く、このコピー数多型によって、形成されるムチンが短くなる。

gene	detail	id	type	pvalue	minus_log10_pvalue	odds
TMEM242	TMEM242 (transmembrane protein 242)	729515	cnv_increase	5.57E-15	14.3	0.236
MUC1	MUC1 (mucin 1, cell surface associated)	4582	complete_del_or_het_del	9.70E-15	14.0	0.128
MUC3A	MUC3A (mucin 3A, cell surface associated)	4584	cnv_high_increase	7.61E-12	11.1	0.275
MUC12	MUC12 (mucin 12, cell surface associated)	10071	cnv_increase	1.82E-10	9.7	0.313
MUC6	MUC6 (mucin 6, oligomeric mucus/gel-forming)	4588	cnv_increase	2.01E-09	8.7	0.000
TTC34	TTC34 (tetra-ricopeptide repeat domain 34)	100287898	cnv_high_increase	2.50E-08	7.6	0.000
LINC01043	LINC01043 (long intergenic non-protein coding RNA 1043)	101928752	cnv_increase	3.99E-08	7.4	0.000
KCNJ12	KCNJ12 (potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 12)	3768	cnv_increase	5.44E-08	7.3	2.690
GOLGA8G	GOLGA8G (golgin A8 family member G)	283768	cnv_increase	1.47E-07	6.8	3.336
MUC4	MUC4 (mucin 4, cell surface associated)	4585	cnv_increase	1.57E-07	6.8	0.000
GTPBP6	GTPBP6 (GTP binding protein 6 (putative))	8225	cnv_increase	3.65E-07	6.4	0.082
TRPM2-AS	TRPM2-AS (TRPM2 antisense RNA)	101928607	cnv_increase	3.96E-07	6.4	0.000
FSCN2	FSCN2 (fascin actin-bundling protein 2, retinal)	25794	cnv_increase	1.98E-06	5.7	0.283

表1：近視のエクストリームフェノタイプとコピー数多型の関連

ムチンにコピー数多型がよく見られ、特定の表現型と強く関連することは最近、UKバイオバンクの41万人のデータを用いた研究で報告されている。その報告によると、UKバイオバンクのデータを用いてあらゆるコピー数多型とあらゆる表現型との間連を網羅的に調べた中で、MUC1と尿素の関連が上位3位に入るほど強かったと報告されており、同じ傾向は我々のながはまスタディのデータでも確認された。現在、この再現性を確認するため、追加で行った最強度近視の全ゲノム解析149例の解析を進めている。ムチンファミリーと最強度近視との関係についてはこれまで報告はなく、再現性が確認されれば世界初の知見となる。

この他、STRの解析も進めている。我々が行った短鎖シーケンサーによるシーケンス結果からはリピート数の推定に限界があり、適切にリピート数を推定できないSTRが存在する。このため我々は、京都大学附属ゲノム医学センターが構築している、同一検体における短鎖シーケンサーと長鎖シーケンサー解析結果（日本人70検体分）のデータを用いることで、「短鎖シーケンサーによるシーケンス結果であっても適切にリピート数を推定可能なSTR」をリスト化し、対象とするSTRを絞る戦略を取った。具体的には、長鎖シーケンサーのシーケンス結果から推定されたリピート数と0.8以上の相関係数を示したSTRに絞ることで、295,536個のSTRのうち109,622個を評価対象のSTRとして選定した。これらについて最強度近視症例と対象で比較したところ、表2に示すように、STRワイドに有意なSTRが12個同定され、このうち

5つはprotein-coding領域内のSTRであった。現在、これらの結果を更に確度の高いものとするために、国立国際医療研究センターの徳永先生とのコントロールパネル解析の共同研究を開始し、症例数を大幅に増加させて再解析を行っているところである。

genes	regionname	gitype	pvalue
RNF150;protein_coding	chr4-141158288-141158327-CAAAAA	repsum	2.54E-07
RP11-260O18.1:lincRNA	chr3-81986760-81986788-T	repmax	7.59E-08
	chr3-88680115-88680177-TTTTC	repmax	7.29E-08
AC007040.11:protein_coding ATP6V1B1;protein_coding ATP6V1B1-AS1;antisense	chr2-70940886-70940931-T	repmax	3.79E-08
ZMYM4;protein_coding	chr1-35380294-35380341-TTTA	repmax	2.87E-08
AL163953.3:processed_transcript	chr14-53665945-53666071-ATCT	repmax	2.28E-08
MGAT5;protein_coding	chr2-134225077-134225102-A	repsum	7.67E-09
DNAJC7;protein_coding	chr17-42010142-42010189-AAAG	repsum	4.93E-09
Intergenic	chr2-142590592-142590633-AC	repsum	2.35E-09
Intergenic	chr2-142590592-142590633-AC	repmax	1.06E-09
Intergenic	chr6-151649652-151649684-TTCTT	repsum	1.25E-10
Intergenic	chr14-88801753-88801793-AC	repmax	4.51E-11

表2：近視のエクストリームフェノタイプとSTRの関連

このように、最強度近視に着目し全ゲノム解析を行うことで、これまでのゲノムワイド関連解析では見えてこなかった構造多型についての評価が進んでおり、近視の病態解明に大きく近づいている。

痙攣重積型（二相性）急性脳症の発病予測と 後遺症軽減のためのレジストリ構築

兵庫県立こども病院神経内科・医長 西山 将広



1. 本研究の目的

けいれん重積型（二相性）急性脳症（AESD）は、発熱に伴うけいれん重積と意識障害を特徴とする疾患です。年間100-200人に発症し、患者さん3人のうち2人には永続的な神経学的後遺症（知能障害、運動障害）が残ります。ウイルス感染症を契機に発症することが多く、典型例では第1病日に30分以上のけいれん重積に続く意識障害を呈し、いったん意識障害は改善傾向となるものの、発症後3-7病日にけいれん再発と意識障害の再増悪をきたし、そのまま重篤な後遺症が残ります。（図1）

発病の機序は明らかとなっておらず、発熱に伴いけいれん重積と意識障害のあった患者さんのうち、AESDを発病する患者さんの割合や特徴も十分にはわかっていません。抗けいれん薬による治療に加えて、ステロイドパルス療法や体温管理療法なども試みられていますが、はっきりと効果のある治療法は確立していません。

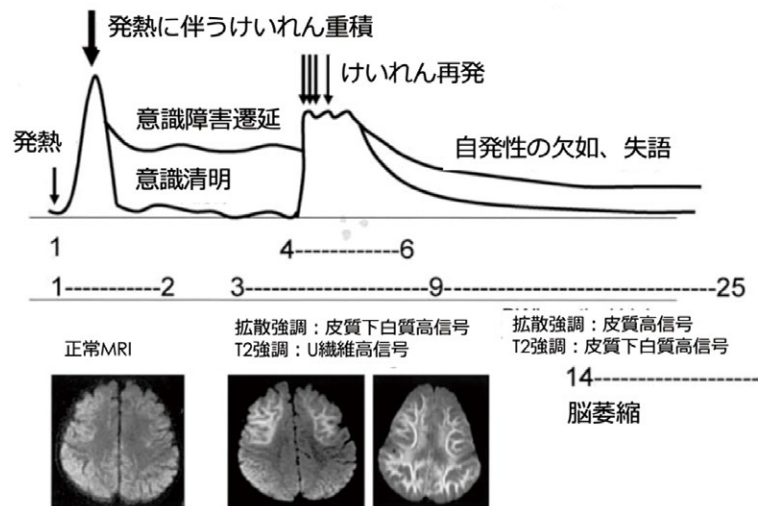


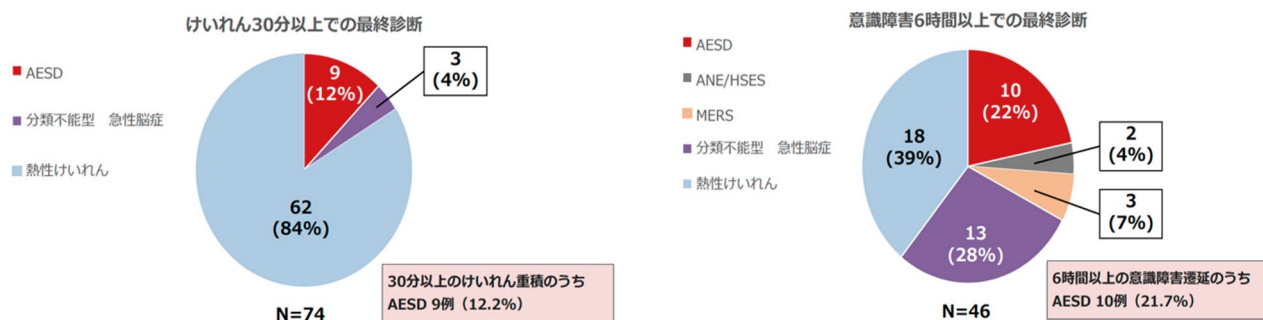
図1. けいれん重積型（二相性）急性脳症（AESD）の臨床経過

本研究では、AESDの発病予測を可能とし、発病抑止および後遺症軽減のための介入・治療法確立のために、発熱に伴うけいれん重積と意識障害を呈する症例のレジストリ構築を目指しました。さらに、蓄積されたデータに基づいて、AESD発病の割合を明らかにし、発病抑止および後遺症軽減のための介入・治療法を探索することも目的としました。

2. 研究成果

2-1 レジストリ構築とAESD発病割合の調査

現時点で全国の8施設がレジストリに参加しています。参加施設の規模は小児集中治療室のある高次医療機関、大学附属病院、地域拠点病院と幅広く、これまでに約400症例（うちAESD 17例）が登録されました。発熱に伴うけいれん重積が30分以上つづいた74症例のうちAESDは9例（12.2％）に発病し、後遺症を11例（14.9％）に認めました。意識障害が6時間以上も遷延した46例のうちAESDは10例（21.7％）に発病し、後遺症を12例（26.0％）に認めました。



2-2 治療戦略の違いによる後遺症およびAESD発病の割合

多施設前向きレジストリで蓄積されたデータ解析に向けて、まずは既に単一施設で集めていたデータを活用して、治療戦略の違いにより後遺症およびAESD発病の割合が異なるかを検討しました¹⁾。治療戦略が時代とともに変化したことに基づき、治療戦略を比較しました。(治療戦略Ⅰ：プロトコルなし、治療戦略Ⅱ：第1選択の抗けいれん薬が無効な場合に麻酔療法および体温管理療法を行う、治療戦略Ⅲ：第1および第2選択の抗けいれん薬が無効な場合に麻酔療法および体温管理療法を行う)。発熱に伴うけいれん重積が60分以上つづいた110例において、治療戦略Ⅰに比べて治療戦略ⅡまたはⅢでは後遺症の割合が少なく(治療戦略Ⅰ：23%，治療戦略ⅡまたはⅢ：7%， $p=0.03$)、AESD発病も少ない傾向がありました(治療戦略Ⅰ：19%，治療戦略ⅡまたはⅢ：7%， $p=0.12$)。

多施設前向きレジストリにより、30分以上のけいれん重積症例、6時間以上の意識障害遷延症例におけるAESDの発病および後遺症の割合を明らかにできました。治療戦略によってAESD発病および後遺症の割合が変化したことから、よりよい治療・介入を行うことでAESDの発病を防ぎ、後遺症が軽減されることが示唆されました。今後もレジストリを続けることで症例を蓄積し、発病予測、発病抑止および後遺症軽減のための治療法の確立を目指します。

AESDは乳幼児に発症し永続的な後遺症を残すことが多い疾患です。この疾患により後遺症が残るとは、患児本人や家族はもちろん、臨床現場の医療者にとっても非常に苦しい経験となります。よって、この難病の克服は小児救急・小児神経疾患に携わる者たちにとっての念願でもあります。今回、研究助成を受けられたことで研究は大きく進展しました。多大なご支援を賜りましたことに心より御礼申し上げます。ありがとうございました。

- 1) Tokumoto S, Nishiyama M, Yamaguchi H, Tomioka K, Ishida Y, Toyoshima D, Kurosawa H, Nozu K, Maruyama A, Tanaka R, Iijima K, Nagase H. Prognostic effects of treatment protocols for febrile convulsive status epilepticus in children. *BMC Neurol.* 2022 Mar 5;22(1):77.

網膜色素変性疾患コホートをを用いた進行リスクスコアの 確立と個別化医療の基盤作成

九州大学眼科・臨床助教 藤原 康太



【研究の背景・目的】

網膜色素変性（RP）はメンデル遺伝病であり発症には遺伝子が原因となる難病です。近年の分子遺伝学の進歩により、RPの原因遺伝子が90種類以上にもわたることが明らかとなっていますが、遺伝型とその進行度との関連は十分に分かっていないのが現状です。RPの原因遺伝子は杆体に関連するものが多く、典型的には夜盲や視野狭窄で発症します。一方で、錐体が担う中心視力は病中期まで保たれるものの、病期の進展とともに錐体も障害されて失明に至ります。この二次的な錐体変性には、杆体細胞死に引き続いて起こる網膜微小環境の変化として神経炎症や酸化ストレス、エネルギー代謝などが関与していることが明らかとなっています。

錐体由来の中心視機能はRP患者さんのQuality of Visionに直結しており、そのリスク因子を同定することは視力予後の予測や、将来的な治療介入に向けて重要な課題です。我々の研究グループでは、RPへの神経炎症の関与について着目し、RPの眼内で炎症性分子・炎症マーカーが上昇しており、中心視機能やその悪化速度に影響を及ぼしていることを明らかにしてきました。またRP患者さんが定期的に通院していただいているデータから、その遺伝子変異ならびに中心視機能のナチュラルヒストリーデータについても解析を行い、その結果を報告しております。

本研究では、これまでの研究成果を土台としてRPの疾患コホートを作成し、中心視機能進行の危険因子・防御因子を明らかにします。また視機能の進行リスクスコアを解析により算出することで、RPの錐体変性に対する遺伝因子・環境因子の関与の大きさを可視化し、RPの個別化医療に向けたエビデンスを構築することを目的としています。

【方法と結果】

中心視機能評価としてハンフリー視野計を用いて測定し、その後定期的に視野検査を実施し2年間の追跡データを得ました。これを測定点毎にプロットし回帰式のスロープ値を算出することで視野進行の指標として用いています。また臨床データから得られた炎症マーカー等を、ゲノム解析で得られた遺伝子データと統合して解析できるようにデータベース化しています。続いてRPの遺伝子型、炎症マーカーを含めた全身疾患との関係をそれぞれの因子の影響の強さを示すスコア値を確定し、集積リスクスコアを算出することで、リスクレベルを数値化し進行リスクによる層別化が可能となるように設定しました。

また、これまでの蓄積されたデータから得られた新たな知見として、RPの進行には白内障手術や黄斑部合併症である黄斑浮腫、また黄斑浮腫に対する治療抵抗性が関与していることを明らかにしまし

た。^{1, 2, 3)} さらに2年以上追跡可能であった27名54眼の多変量解析の結果では、関連因子（年齢、性別、C反応性蛋白、黄斑部合併症、前房内フレア値、酸化ストレス）を考慮しても酸化ストレス（SOD3活性）の低下がRPの中心視機能進行の独立した危険因子になることも分かりました。今後はリスクレベルによる層別化により低リスクの方に対しては視力予後が良好であることを説明し、高リスクの方には早期のロービジョンケア介入、リスク因子を対象とした治療開発に繋がると考えております。さらにリスクスコアの妥当性、再現性を疾患レジストリ、多国籍研究において確認する予定です。

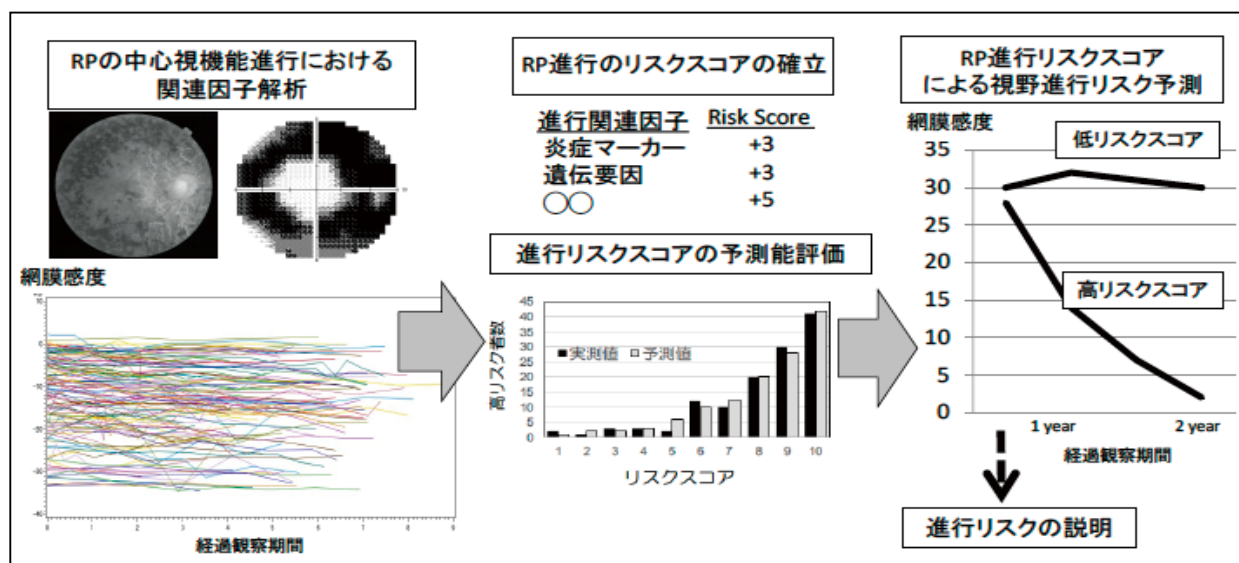
【まとめと今後の展望】

RPの病態のみならず、その進行速度においても酸化ストレスが重要な役割を担っていることが推察されました。今後はこれまでの研究を継続して行い、環境要因を含めて網羅的に解析することで酸化ストレスを含めた進行に影響する因子をさらに明らかにしたいと考えております。さらに進行スピードに影響するそれぞれの遺伝要因や環境因子の交互作用を解明し、網膜色素変性の個別の治療法確立に向けて取り組んでいきたいです。

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進めることができております。心より感謝申し上げます。

1. Shimokawa S, Murakami Y, Fujiwara K, et al. Recurrence rate of cystoid macular edema with topical dorzolamide treatment and its risk factors in retinitis pigmentosa. Retina. 1;42(1):168-173, 2022
2. Nakamura S, Fujiwara K, Yoshida N, et al. Long-term Outcomes of Cataract Surgery in Patients with Retinitis Pigmentosa. Ophthalmol Retina. 16 : S2468-6530(21)00384-5, 2021
3. Shimokawa S, Fujiwara K, Murakami Y, et al. Effect of Topical Dorzolamide on Cystoid Macular Edema in Retinitis Pigmentosa. Ophthalmology Retina 24:S2468-6530(20)30204-9, 2020.

研究の概要



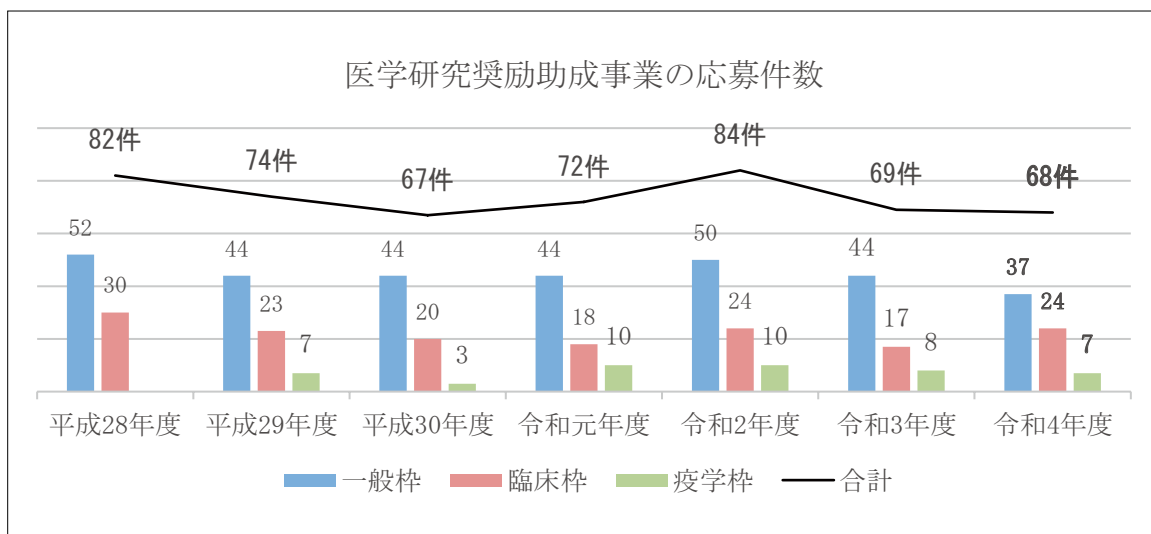
3

令和4年度の公募事業について

1. 医学研究奨励助成事業

6月1日よりインターネットによる受付を開始し、7月20日に応募を締め切りました。今年も全国から多くの研究課題が寄せられ、厳正、公正なる審査の結果、一般枠から7件、臨床枠から4件、疫学枠から1件の合計12件を採択いたしました。

	応募件数	採択件数	採択率
一般枠	37	7	18.9%
臨床枠	24	4	16.7%
疫学枠	7	1	14.3%
合計	68	12	17.6%



2. 国際シンポジウム開催事業

令和5年度に開催する国際シンポジウムについて、3件の開催計画の応募がありました。

厳正、公正なる審査の結果、ハイブリッド型（会場開催とWEB併用）とする1件を採択いたしました。

4

難病相談支援センターの活動状況

和歌山県難病・子ども保健相談支援センター

難病相談支援員 大原 美沙

和歌山県難病・子ども保健相談支援センターは、平成11年度に子ども保健福祉相談センターとして和歌山県立医科大学附属病院内に開設され、平成18年度に組織改正され現在の体制となり、「難病患者、長期療養児が安心して暮らせる環境づくり」を目指して活動を行っています。

当センターは県が直営する相談機関であり、職員は、所長、難病相談支援員1名、就労支援担当2名、子供の長期療養支援担当2名の6名体制で年間約1,000件の相談に、関係機関と連携しながら対応しています。

センター事業としては、医療講演会や患者・家族交流会、難病患者就職サポーター出張相談会、就労の講演会等を開催しており、特に次の事業に力を入れて実施していますのでご紹介します。



・「輝け・病気の子どもたち！リゾートキャンプ」の開催支援

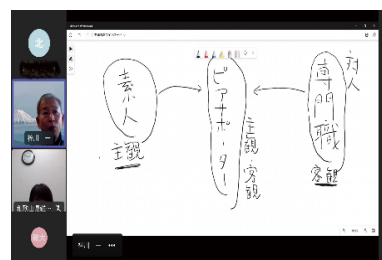
当センターは和歌山県難病の子ども家族会が主催するリゾートキャンプの開催支援を行っています。平成14年度から開始し今年で20回目を迎えました。過去2年間は、コロナの感染拡大により中止を余儀なくされましたが、難病のある子供達や家族が集い楽しめるよう内容を検討し、今年度は時間の短縮を行いミニキャンプとし、オンラインも活用してハイブリット方式で10月に開催しました。



リゾートキャンプの様子 (R4年度)

・ピア・サポーター養成講座

昨年度まではピア・サポート研修として開催してきましたが、患者さんからも「同じ病気の人と話がしたい」等の要望もあり、今年度よりピア・サポーターの養成を開始しました。9月にオンラインを活用して2日間の研修を行い、13人のピア・サポーターに登録をいただきました。今後は、交流会活動や個別相談の充実に向け、ピア・サポーターと協働しながら活動の輪を広げていきたいと考えております。



ピア・サポーター養成講座 (R4年度)

・就労・年金・療養相談会

当県は南北に長く、またセンターは北部に位置しており、南部の患者・家族の方々と直接お会いすることが少ないため、年1回ではありますが、地元のハローワークや年金事務所にご協力いただき県内4か所で出張相談会を開催し、身近で相談しやすい体制づくりに努めています。

新型コロナウイルス感染症により生活様式が変化しつつありますが、オンラインも活用しながら患者さんやそのご家族が安心して日常生活が送れるよう、関係機関と連携を図りながら活動を行っていききたいと思います。

前号（56号）では、「指定難病検討委員会の審議状況（診断基準等のアップデート）」、「難病法の一部改正について（医療受給者証の指定医療機関名記載方法の変更等）」、「難病診療連携拠点病院等の指定状況」及び「難病対策に関する令和4年度予算の概要」についてご紹介しました。財団ニュースのバックナンバーは、当財団のホームページで閲覧することができます。

- 難病財団ニュースバックナンバー

<https://www.nanbyou.jp/project/publish/publish2/>



本号では、前号以降の動向と「難病対策に関する令和5年度概算要求の概要」についてご紹介いたします。

1. 難病医療助成制度（「高額かつ長期」）にかかる改正告示の公布及び適用

難病法による医療費助成は、下表のとおり高額な医療が長期的に継続する難病患者さんのうち一般所得及び上位所得の方について、一般の医療費助成の自己負担上限額より軽減された自己負担上限額が設定されています。（以下「高額かつ長期」という。）

この度「高額かつ長期」について、小児慢性特定疾病の医療費助成制度から難病法に基づく医療費助成制度に移行する患者さんへの配慮の観点から見直しが行われ、令和4年8月2日付けで「難病の患者に対する医療等に関する法律施行令第一条第一項第二号ロの厚生労働大臣が定めるものの一部を改正する告示」が公布され、令和4年10月1日から適用されました。

この改正により、小児慢性特定疾病から指定難病に移行する患者さんに関して、「高額かつ長期」の適用要件について、支給認定を受けた指定難病に係る月ごとの医療費総額に加え、「当該支給認定を受けた月以前の小児慢性特定疾病医療支援に係る月ごとの医療費総額」又は「指定難病に係る月ごとの医療費総額と小児慢性特定疾病医療支援に係る月ごとの医療費総額の合算額」を算定の対象に追加することができるようになりました。

○ 医療費助成における自己負担上限額(月額)

(単位:円)

階 層 区 分	階層区分の基準 ()内の数字は、夫婦2人世帯 の場合における年収の目安		自己負担上限額(外来+入院)(患者負担割合:2割)		
			一般	高額かつ 長期※	人工呼吸器等 装着者
生活保護	――		0	0	0
低所得Ⅰ	市町村民税 非課税 (世帯)	本人年収 ～80万円	2,500	2,500	1,000
低所得Ⅱ		本人年収 80万円超～	5,000	5,000	
一般所得Ⅰ	市町村民税 課税以上7.1万円未満 (約160万円～約370万円)		10,000	5,000	
一般所得Ⅱ	市町村民税 7.1万円以上25.1万円未満 (約370万円～約810万円)		20,000	10,000	
上位所得	市町村民税25.1万円以上 (約810万円～)		30,000	20,000	
入院時の食費			全額自己負担		

※「高額かつ長期」とは、月ごとの医療費総額が5万円を超える月が年間6回以上ある者(例えば医療保険の2割負担の場合、医療費の自己負担が1万円を超える月が年間6回以上)。

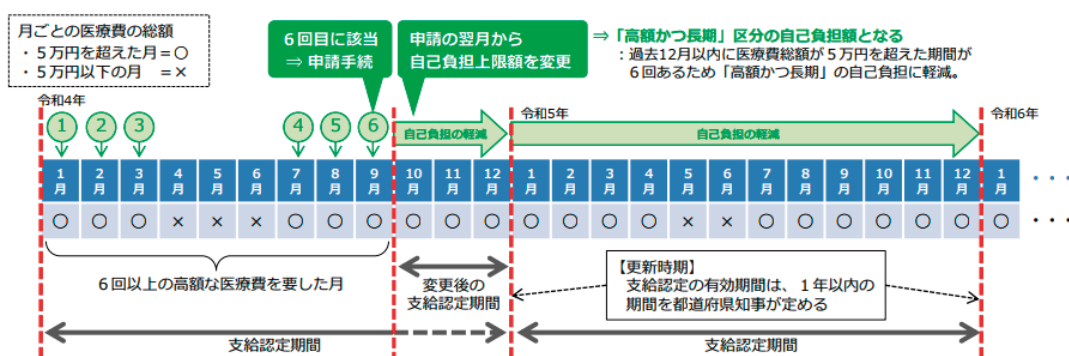
高額かつ長期について

- 特定医療費の受給者のうち所得の階層区分が一般所得Ⅰ以上の者について、支給認定を受けた指定難病及び小児慢性特定疾病^(※)に係る月ごとの医療費総額について5万円を超える月が年間6回以上ある場合は、月額医療費の自己負担をさらに軽減している。
- (※) 算定可能な小児慢性特定疾病に係る月ごとの医療費総額は、指定難病に関する医療費の助成を受ける前のものに限る。

《確認方法》

- ・自己負担上限額管理票に、医療費を記載する項目を設け、指定医療機関により記載。
- ・自己負担上限額が5,000円の患者（一般所得Ⅰで既に高額かつ長期の適用を受けている者）については、患者の希望により、自己負担上限額を超えても医療費5万円まで指定医療機関に自己負担上限額管理票に記載。
- ・自己負担上限額管理票の記載が不十分な場合には、医療費申告書及び指定医療機関が発行する領収書等を用いることが可能。

【自己負担軽減の例】



2. 難病診療連携拠点病院等の指定状況

平成30年度より各都道府県では、「難病診療連携拠点病院」「難病診療分野別拠点病院」「難病医療協力病院」を指定し、拠点病院等に「難病診療連携コーディネーター等」を配置するなどして難病の医療提供体制を順次構築しています。

令和4年10月現在の指定及び配置状況は次のとおりです。（当財団調べ）

	都道府県数		病院数	人数
難病診療連携拠点病院	44 (44)		79 (79) 病院	
難病診療連携コーディネーター		37 (37)		60 (61) 人
難病診療分野別拠点病院	24 (24)		63 (63) 病院	
難病診療連携コーディネーター		17 (16)		8 (8) 人
難病診療カウンセラー		1 (1)		1 (1) 人

() は令和4年6月時点

なお、各都道府県の「難病診療連携拠点病院」「難病診療分野別拠点病院」「難病医療協力病院」は難病情報センターのホームページで閲覧することができます。

患者さん及びご家族等関係者が、病院情報へのアクセスが容易となるよう都道府県のご協力を得て順次、病院ホームページへ直接リンク掲載を図り、令和4年9月現在、33道府県のリンク掲載を完了いたしました。

- 難病の医療提供体制

<https://www.nanbyou.or.jp/entry/5215>



3. 難病対策に関する令和5年度概算要求の概要

(単位：億円)

事 項	令和5年度 概算要求額	令和4年度 予算額
難病対策関係概算要求	1,443	(1,384)
(1) 医療費助成の実施	1,281	(1,250)
・ 難病医療費等負担金	1,279	(1,247)
・ 特定疾患治療研究事業	2.1	(2.1)
(2) 難病患者の社会参加と難病に対する国民の理解の促進のための施策の充実	12	(12)
(主な事業)		
・ 難病相談支援センター事業	6.7	(6.7)
(3) 難病の医療提供体制の構築	12	(9.4)
(主な事業)		
・ 難病医療提供体制整備事業	5.6	(5.6)
・ 難病ゲノム等情報利活用検証事業 (令和4年度は難病の全ゲノム解析等実証事業)	3.3	(3.3)
・ 難病情報センター等事業	0.4	(0.4)
(4) 難病に関する調査・研究などの推進	138	(113)
(主な事業)		
・ 難病対策等の推進のための患者データ登録整備事業等	15	(15)
・ 難病等制度推進事業	0.5	
・ 難治性疾患政策研究事業／難治性疾患実用化研究事業	121	

来年4月、東京都で行われます第31回日本医学会総会2023東京において、日本医学会との共催により「難病に関する市民公開講座」を開催いたします。

ビッグデータ（ゲノム医療）を活用した難病の治療や研究について紹介し、難病患者・御家族様、医療関係者、行政関係者はじめ、広く一般の方々に難病研究推進へのご理解を深めていただく機会とさせていただきたいと考えております。

参加方法など詳細は、改めて当財団ホームページ等にてお知らせいたします。

開催概要

- ◇ 日 時 令和5年4月22日（土）15：00～16：30（90分）
- ◇ 会 場 ステーションコンファレンス東京
- ◇ テーマ ビッグデータが拓く難病医学の未来
- ◇ 後 援 厚生労働省、日本医師会、日本歯科医師会、日本薬剤師会、日本看護協会、AMED（日本医療研究開発機構）（予定）
- ◇ 開催様式 ハイブリッド方式（Zoomウェビナー）
パネルディスカッション形式
- ◇ プログラム 座長 北村 聖 東京大学名誉教授
（公財）難病医学研究財団理事
（公社）地域医療振興協会顧問
座長 飯野奈津子 医療福祉ジャーナリスト
（公財）難病医学研究財団評議員

第31回日本医学会総会会頭ご挨拶

春日 雅人 朝日生命成人病研究所所長
国立国際医療研究センター名誉理事長

講演 ①指定難病－難病情報センターの役割

宮坂 信之 東京医科歯科大学名誉教授
（公財）難病医学研究財団理事

②治療実現に向けて（パーキンソン病を例にとって）

ゲノム医療を活用した神経難病の進行阻止

服部 信孝 順天堂大学医学部附属順天堂医院
脳神経内科

③患者さんとともに歩む皮膚難病研究

棚橋 華奈 名古屋大学大学院医学系研究科
皮膚科学分野

④ビッグデータと難病医学研究（未診断疾患イニシアチブ（IRUD）の歩みと未来）

水澤 英洋 国立精神・神経医療研究センター 理事長特任補佐
日本医療研究開発機構IRUDコーディネーティング
センター代表

総合討論

賛助会員へのご加入及びご寄付のお願い

難病医学研究財団は、難病に関する研究の推進とその基礎となる医学研究の振興を図るため、各方面のご賛同を得て、昭和48年10月に財団法人として設立され、平成23年4月1日には内閣府から公益財団法人として認定を受けました。

設立以来、当財団は難病に関する調査研究や難病研究に従事する若手研究者への研究奨励助成並びに難病に関する情報の提供等を行っております。

これらの事業は、財団の趣旨にご賛同をいただいた賛助会員様の会費及び一般の方々や法人様からの善意のご寄付などによって実施しております。

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

- ・ 寄付金は、すべて難病の研究奨励助成等の公益事業に使用させていただきます。
- ・ 寄付金の額は問いませんので、当財団へご連絡をお願いします。
- ・ なお、厚生労働大臣感謝状贈呈実施要領に基づき、厚生労働大臣感謝状の贈呈があります。
- ・ また、当財団は内閣府より公益のために私財を寄付された個人・団体に授与される「紺綬褒章」の公益団体の認定を受けております。

(連絡先)

公益財団法人難病医学研究財団

〒101-0063 東京都千代田区淡路町1丁目7番地 ひまわり神田ビル2階

電 話 03-3257-9021

Eメール zimukyoku@nanbyou.or.jp

ホームページ <https://www.nanbyou.jp/shien>



■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ください。

■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》 ジイキザイダンホウジン 公益財団法人 ナノビヨウイガクケンキョウガイダン 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

<https://www.nanbyou.jp>

【難病情報センター】

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