

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07790

研究課題名（和文）福山型筋ジストロフィーの中核症状の克服を目指した評価系構築と治療法の確立

研究課題名（英文）Central Nervous System Involvement of Fukuyama type muscular dystrophy

研究代表者

池田 真理子（谷口）（Ikeda, Mariko）

藤田医科大学・大学病院・准教授

研究者番号：00410738

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：FCMDは乳幼児発症の筋ジストロフィーに滑脳症等の先天性の脳奇形・知的障害を伴う、本邦特有の常染色体劣性の遺伝性難病である。スプライシング異常症であり核酸医薬による骨格筋に対する初の治療法が期待されるが中枢奇形やてんかんなど神経症状は患者及び家族のQOLを骨格筋症状同様に脅かすものであるが、その病態は未解明な点が多く治療法がない。本研究では中枢神経症状にも応用可能なFCMDに対する治療法確立を目指し、FCMD患者神経症状の評価系（バイオマーカー評価系）構築、モデルマウスや疾患特異的iPS細胞など疾患モデルによる病態評価と治療法開発研究を行った。バイオマーカー候補と疾患モデル作成に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

福山型筋ジストロフィーは本邦に特異的に発症する知的障害を合併する重度筋ジストロフィーである。治療法開発や治療の程度を把握するためのバイオマーカー検索、疾患モデル作成は本邦研究者の責務であると考え。申請者は本研究において、FCMDの疾患由来iPSの中核モデルの機能異常の検討を行った。動物では中枢神経症状が出ない、あるいは軽いため（おそらく種の違いによる）ヒトのモデルが完成したことは社会的に大きな意義があると考え。今後は低分子化合物や核酸の効果をもて治療の臨界期を同定したい。

研究成果の概要（英文）：Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMD) is a severe, intractable genetic disease that affects the skeletal muscle, eyes, and brain and is attributed to a defect in alpha dystroglycan glycosylation. We previously established disease models of FCMD such as murine model. However, they did not fully recapitulate the phenotypes observed in human patients. In this study, we generated induced pluripotent stem cells (iPSCs) from a human FCMD patient and differentiated these cells into three-dimensional brain organoids and skeletal muscle. The brain organoids mimicked patient phenotypes not reliably reproduced by existing models, including decreased DG glycosylation.

研究分野：小児科

キーワード：福山型筋ジストロフィー 筋ジストロフィー 創薬開発 低分子化合物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD) は、乳幼児発症の重度の筋ジストロフィーに滑脳症等の先天性の脳奇形・重度知的障害を伴う、本邦特有の常染色体劣性の遺伝性難病である。申請者は FCMD が、原因遺伝子フクチンに挿入されたトランスポゾン配列により引き起こされる「スプライシング異常症」であることを見出し、核酸医薬による骨格筋に対する初の根治療法の可能性を報告し、まもなく臨床試験が開始される。一方、中枢奇形やてんかんなど神経症状は患者及び家族の QOL を骨格筋症状同様に脅かすものであるが、その実態や病態は未解明な点が多く治療法がない。

2. 研究の目的

本研究は骨格筋に加え中枢神経症状にも応用可能な FCMD に対する治療法確立を目指し

FCMD 患者の中枢・末梢神経症状を含めた評価系 (機能・バイオマーカー評価系) の構築、モデルマウスや疾患特異的 iPS 細胞などの疾患モデルによる病態評価と、治療アッセイ系構築、核酸に加え低分子化合物・酵素補充療法・細胞治療法などの新たな治療法開発研究を行う。本年度は以下について研究をすすめた。

本研究では骨格筋に加え中枢神経症状にも応用可能な FCMD に対する治療法確立を目指し

FCMD 患者の中枢・末梢神経症状を含めた評価系 (機能・バイオマーカー評価系) の構築、モデルマウスや疾患特異的 iPS 細胞などの疾患モデルによる病態評価と、治療アッセイ系構築、核酸に加え低分子化合物・酵素補充療法・細胞治療法などの新たな治療法開発研究を行うものである。

3. 研究の方法

中枢神経系の評価系構築 (池田・石垣) 血清由来の産物をメタボロームや発現解析を行

い疾患・病態特異的マーカーを検索した。疾患モデルを用いた病態評価と核酸の適応拡大疾患特異的 iPS 細胞を用いた中枢神経系の機能評価 神経分化誘導法・分散培養法を用いた中枢神経系の機能評価・表現型の評価をおこなった。とくに分化培養法の refinement を中心におこなった。低分子化合物や酵素補充療法などの新規治療法確立低分子化合物での検討をすすめた。

分子化合物や酵素補充(コレラトキシンと架橋剤を用いた融合蛋白作成・フクチンノックアウト細胞への投与と病態改善の検討)での評価を行う。スプライシング補正・糖鎖補正を検出する細胞アッセイ系の作成、低分子化合物スクリーニング・モデル系での評価を試みる。

4. 研究成果

FCMD の病状を反映するバイオマーカー研究においては FCMD 特異的 microRNA を検出した。正常とのバリデーションを行い論文化し(作成中)臨床治験などで探索的に検討を予定している。また、機能のアッセイ系として難聴を指標に患者の聴覚特性を検出する聴力テストを行い、DG 糖鎖の減少による聴覚特性を見出した。患者由来 iPS 細胞より中枢神経系の三次元オルガノイドモデルを構築し、病態をウエスタンブロットや免疫染色で確認した。また、FCMD の病状や治療の指標となりうるバイオマーカーの抽出(投稿リバイス中)とあらたな低分子化合物の効果を確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Rie Kawamura, Takema Kato, Shunsuke Miyai, Fumihiko Suzuki, Yuki Naru, Maki Kato, Keiko Tanaka, Miwako Nagasaka, Makiko Tsutsumi, Hidehito Inagaki, Tomoaki Ioroi, Makiko Yoshida, Tomoya Nao, Laura K Conlin, Kazumoto Iijima, Hiroki Kurahashi, Mariko Taniguchi-Ikeda | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 A case of a parthenogenetic 46,XX/46,XY chimera presenting ambiguous genitalia. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of human genetics | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

| |
|---------------------------------|
| 1. 発表者名 池田真理子 |
| 2. 発表標題 福山型筋ジストロフィーに対する治療法開発 |
| 3. 学会等名 第46回日本脳科学会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Mariko Taniguchi-Ikeda |
| 2. 発表標題 Optimizing antisense oligonucleotides for the treatment of Fukuyama muscular dystrophy |
| 3. 学会等名 World Muscle Society（国際学会） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 池田真理子 |
| 2. 発表標題 Severe mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy caused by DNA ligase enzyme deficiency |
| 3. 学会等名 日本人類遺伝学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------|
| 1. 発表者名 池田真理子 |
| 2. 発表標題 福山型筋ジストロフィーの中樞治療 |
| 3. 学会等名 日本小児科学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 池田真理子 |
| 2. 発表標題 'Evaluating motor functions and biomarkers for Fukuyama muscular dystrophy.' |
| 3. 学会等名 欧州人類遺伝学会(国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 長坂美和子 池田真理子 | 4. 発行年 2019年 |
| 2. 出版社 筋ジストロフィーと遺伝カウンセリング | 5. 総ページ数 6 |
| 3. 書名 遺伝子医学 MOOK別冊 | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------|---|-------------------------------------|----|
| 研究 分担者 | 石垣 景子 (ISHIGAKI KEIKO) (10366304) | 東京女子医科大学・医学部・准教授 (32653) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|---|----|
| 研究分担者 | 小林 千浩 (KOBASHI KAZUHIRO) (90324780) | 神戸大学・医学研究科・准教授 (14501) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |