

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17001

研究課題名(和文) 副腎白質ジストロフィーの臨床病型を規定する修飾因子の探索研究・個別化医療への応用

研究課題名(英文) The search for modifying genetic factors for phenotypes of adrenoleukodystrophy and application to personalized medicine

研究代表者

松川 敬志 (Matsukawa, Takashi)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80755760

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：全身性Abcd1ノックアウトマウス(ヘミ接合性)と、野生型マウスでは生存率が異なることを示すことができた。さらに、ABCD1全身性ノックアウトマウスと、PEX5遺伝子をCre-loxP systemを用いてオリゴデンドロサイトにおいてノックアウトしたPEX5コンディショナルノックアウトマウスを掛け合わせたマウス(PEX5^{flox/flox}*CNP-Cre/WT*ABCD1^{-/-}Y)の作成を行い、PEX5コンディショナルノックアウトマウスと比較して、表現型に違いがないかを検討している。各マウスにおいて血漿スフィンゴミエリン中の極長鎖脂肪酸の上昇の確認を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

副腎白質ジストロフィー(Adrenoleukodystrophy: ALD)は、ABCD1を原因遺伝子とするX連鎖遺伝性の神経変性疾患である。中枢神経の炎症性脱髄を来し、時に副腎不全を認める。様々な臨床病型を認めるが、遺伝子表現型連関は明らかでない。予後不良である大脳型に対しては早期の造血幹細胞移植が症状進行停止に有効であり、大脳型を生じやすい背景因子を同定することができれば、臨床上有用となる。

研究成果の概要(英文)：We were able to show that general Abcd1 knockout mice (hemizygous) and wild-type mice have different survival rates. In addition, we crossed general ABCD1 knockout mice with oligodendrocyte specific PEX5 conditional knockout mice using the Cre-loxP system mice (PEX5^{flox/flox}*CNP-Cre/WT*ABCD1^{-/-}Y) and compared to oligodendrocyte specific PEX5 conditional knockout mice to see if there were any phenotypic differences. We checked for elevated plasma levels of very long chain fatty acids in each mouse.

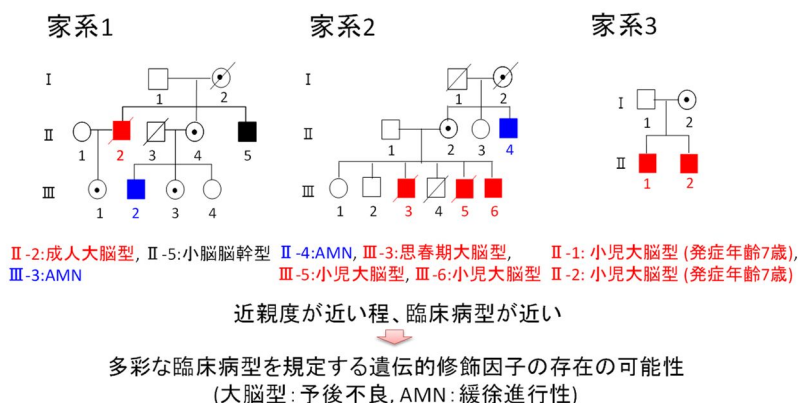
研究分野：神経遺伝

キーワード：副腎白質ジストロフィー

1. 研究開始当初の背景

副腎白質ジストロフィー(Adrenoleukodystrophy:ALD)は、*ABCD1* を原因遺伝子とする X 連鎖性劣性遺伝性の神経変性疾患である。中枢神経の炎症性脱髄を来し、時に副腎不全を認める。様々な臨床病型を認めるが、遺伝子表現型連関は明らかでない(同一家系内症例でも様々な臨床病型を来し得る。)。よって *ABCD1* 遺伝子変異の種類で表現型を予測できない。予後不良である大脳型に対しては早期の造血幹細胞移植が症状進行停止に有効であり、大脳型を生じやすい背景因子を同定できれば臨床上有用である。特に大脳型(小児大脳型、思春期大脳型、成人大脳型)では中枢神経の炎症性脱髄が急速に進行し、数年で植物状態となり予後不良である。一方で副腎脊髄ニューロパチー(Adrenomyeloneuropathy:AMN)等の非大脳型では緩徐進行性の経過を辿る。発症早期の大脳型に対しては造血幹細胞移植が症状の進行停止に有用であるため、大脳型の発症に関わる背景因子を同定できれば臨床上有用である。ALD では近親度が高いほど臨床病型に近い傾向にあり(Takemoto Y, J Hum Genet, 2002)、多彩な臨床病型を規定する遺伝的修飾因子の存在を仮定した(図 1)。

図 1. 複数の ALD 患者を有する家系



2. 研究の目的

本研究では特に原因遺伝子 *ABCD1* の発現産物が局在するペルオキシソームの遺伝子群に着目し、これまで得られた ALD 81 症例の exome 解析データ、モデルマウスを用いた行動解析、発現解析、病理学的解析を用いて臨床病型と関連した遺伝的因子の解明を目指す。

3. 研究の方法

全身性 *Abcd1* ノックアウトマウス(ヘミ接合性:*ABCD1*^{+/Y})と、オリゴデンドロサイトにおける *PEX5* コンディショナルノックアウトマウスを掛け合わせたマウスを作成(*PEX5*^{flox/flox}**CNP-Cre*/*WT***Abcd1*^{+/Y})。 *Pex5* コンディショナルノックアウトマウスとの違いを、行動解析、脳組織検体を用いての病理/免疫組織学的解析で検討する。

SureSelect Human All Exon V5+UTRs キット(Agilent)を用いて exon 領域を濃縮、Hiseq2500 を用いてシーケンス後 BWA でマッピング、samtools で variants のコールを行うことで既に得られている ALD 日本人症例 81 例、コントロール 503 例の in-house exome データを用いて、各表現型毎に頻度の異なる variants が存在するかの検討を行う。

4. 研究成果

全身性 *Abcd1* ノックアウトマウス(ヘミ接合性)と、野生型マウスでは生存率が異なることを示すことができた。さらに、*Abcd1* 全身性ノックアウトマウスと、*Pex5* 遺伝子を *Cre-loxP* system を用いてオリゴデンドロサイトにおいてノックアウトした *Pex5* コンディショナルノックアウトマウスを掛け合わせたマウス (*PEX5*^{flox/flox}**CNP-Cre*/*WT***Abcd1*^{+/Y}) の作成を行い、*Pex5* コンディショナルノックアウトマウスと比較して、表現型に違いがないかの検討を継続している。マウスの脂質解析、病理解析を行った。また、今後、より、進行期のマウスにおける、病理解析も検討している。各マウスにおいて血漿スフィンゴミエリン中の極長鎖脂肪酸の上昇の確認を行った。

極長鎖脂肪酸-CoA の β 酸化・物質輸送に関わる遺伝子群に注目して、variants を抽出した。Loss of function を来す変異 (short insertion/deletion, splicing site mutation, nonsense mutation)、既知の遺伝子変異の抽出、また、コントロールデータベース(gnomAD, 東北メディカルメगाバンクの allele and genotype frequency panel from 8.3K Japanese individuals (8.3KJPN))に基づいた Variants の頻度、variants の機能予測アルゴリズムである Combined Annotation Dependent Depletion (CADD)のスコアを考慮して variant の抽出を行い、予後不良である大脳型、緩徐進行性の副腎脊髄ニューロパチー、コントロールにおいて variants の数、

及びそれらの variants を有する被験者の頻度に差があるかを fisher の正確検定を用いて検討した。解析結果として Loss of function mutation を来す変異は脳型で 4 例見いだされたのに対して、副腎髄ニューロパチーでは見いだされていないという結果であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shibata Y, Matsushima M, Matsukawa T, Ishiura H, Tsuji S, Yabe I.	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Adrenoleukodystrophy sibilings with a novel ABCD1 missense variant presenting with phenotypic differences: a case report and literature review.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Hum Genet.	6. 最初と最後の頁 Online
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s10038-020-00866-x	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 -

1. 著者名 松川 敬志.	4. 巻 32
2. 論文標題 副腎白質ジストロフィー.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 遺伝医学	6. 最初と最後の頁 67-70
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 無
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 -

1. 著者名 Takashi Matsukawa, Tomotaka Yamamoto, Akira Honda, et al.	4. 巻 2
2. 論文標題 Clinical efficacy of haematopoietic stem cell transplantation for adult adrenoleukodystrophy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Communications	6. 最初と最後の頁 fcz048
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/braincomms/fcz048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松川 敬志.
2. 発表標題 副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植.
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会.（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 張 香理, 松川 敬志, 石浦 浩之, 後藤 順, 辻 省次, 戸田 達史.
2. 発表標題 副腎白質ジストロフィーの保因者診断のための遺伝カウンセリング.
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松川 敬志.
2. 発表標題 副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植の適応と有効性.
3. 学会等名 第38回日本神経治療学会学術集会. (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松川 敬志.
2. 発表標題 副腎白質ジストロフィーの治療研究.
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第65回大会. (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takashi Matsukawa, Tomotaka Yamamoto, Akira Honda, Jun Mitsui, Hiroyuki Ishiura, Akihito Hao, Miho Kawabe Matsukawa, Masaki Tanaka, Toji Miyagawa, Masashi Hamada, Yuji Takahashi, Kaori Sakuishi, Atsushi Iwata, Jun Shimizu, Jun Goto, Mineo Kurokawa, Shoji Tsuji, Tatsushi Toda
2. 発表標題 Efficacy of bone marrow transplantation for adolescent/adult-onset cerebral or cerebello-brainstem ALD
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会. 2019年5月22日, 大阪国際会議場, 大阪, 日本
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------