

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462229

研究課題名(和文) マルファン症候群における脊柱過成長および側弯症発症のメカニズム解明を目指した研究

研究課題名(英文) What causes overgrowth and scoliosis in Marfan syndrome?

研究代表者

谷口 優樹 (Taniguchi, Yuki)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80722165

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではin vivoでは遺伝子改変マウスを用いてマルファン症候群における椎間板組織および脊柱アライメントの解析を行い、また平行してマウス椎間板変性モデルを確立することを目的とした。遺伝子改変マウスの交配がすすまず、研究期間内での遺伝子改変マウスの解析を終了するにはいたらなかったが、その一方でマウス椎間板変性モデルの確立には成功し、論文投稿中である。本モデルマウスを用いて、椎間板変性過程における椎間板組織でのFBN1遺伝子の発現変化を解析し、椎間板線維輪での恒常性寄与にFBN1が重要な機能を果たしている可能性をつぎとめた。また解析の過程でFBN1と相互作用する新規遺伝子の同定に成功した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we succeeded in establishing the novel mouse intervertebral disc degeneration model by surgically resecting lumbar facet joint, although we were not able to satisfactorily analyze the spine and intervertebral disc of the conditional FBN1 knockout mice because of delayed crossbleeding. By utilizing our novel mouse disc degeneration model and laser micro-digestion instrument, we analyzed the expression change of the FBN1 gene during the disc degeneration process and found the possible critical role of the FBN1 for the homeostasis in annulus fibrosus of the intervertebral disc. Also by utilizing the same model, we identified novel gene "X" which interacts with FBN1 in annulus fibrosus and promotes microfibril biogenesis in vitro. Now we are investigating the physiological functions of this new gene "X", and exploring the possibility of this new gene as a novel drug for the disc degeneration.

研究分野：脊椎外科

キーワード：椎間板変性 椎間板変性モデル FBN1 マルファン症候群

1. 研究開始当初の背景

マルファン症候群は大動脈弁輪拡張症・大動脈解離を中心とした心臓血管症状、水晶体転位を含む眼症状、四肢・脊柱の過成長と脊柱側弯症および関節弛緩性を特徴とする筋骨格系症状を主徴とする疾患で、罹患率は3,000~10,000人あたり1人で国内にはおよそ20,000人の患者がいると推定されており、罹患頻度の高い疾患である。本疾患は75%が常染色体優性遺伝例、25%が孤発例とされ、原因遺伝子としてこれまでに *FBN1*、*TGFBR2* が同定されている。マルファン症候群の患者では主に大動脈解離により30~40歳代で突然死を来たすことが生命予後上、最も問題となるため主に心血管合併症の分野を中心に病態研究が進んできた。最近になって、マルファン症候群における心臓血管症状において細胞内のTGFシグナル経路の活性化が病態の主因となっていることが明らかとなり、ロサルタンに代表されるアンギオテンシン受容体拮抗薬によって、病勢の進行を遅延させることが可能であることが証明され、診断の早期化と相俟ってマルファン症候群患者の生命予後が今後改善されていくことが予想される。しかしその一方でマルファン症候群の筋骨格系症状とりわけ脊柱の異常に関する病態解析はほとんど進んでいない。マルファン症候群では脊柱側弯症による頑強な腰背部痛を生じることが非常に多く、また脊柱側弯症の進行に伴い胸郭圧排による呼吸機能の低下も生じADL上大きな問題となるが、脊柱の病態に関する解析がすすんでいないため脊柱の異常に対する治療ターゲットはその足掛かりさえつかめていないのが現状である。本研究によってマルファン症候群において脊柱の異常を来たす病態を詳細に解明することは、数多くいるマルファン症候群の治療ストラテジーを抜本的に変える次世代の治療への開発につながり、その意味で本研究のもたらす意義は計り知れない。申請

者の所属する東京大学医学部附属病院では2005年に日本で唯一の診療科横断的なマルファン症候群専門外来が開設され、以来我々はマルファン症候群における整形外科分野の診療・解析に取り組んできており、現在にいたるまで手術療法・保存療法を含めて数多くのマルファン症候群患者を診療してきた。本研究では豊富なマルファン症候群の治療経験を背景にこれまでの分子生物学的手法を踏襲し、マルファン症候群モデルマウスや手術時に得られる臨床サンプルを用いた解析を通じてマルファン症候群の脊柱の表現型を来たす病態を分子生物学的視点から詳細に解明することを目的とした。

2. 研究の目的

本研究ではマルファン症候群患者のADL低下の大きな要因となる脊柱の異常に特に注目し、脊柱の過成長および脊柱側弯症発症のメカニズムを細胞外基質およびTGFシグナル経路の関与の観点から明らかにすることを目的とし、マルファン症候群の筋骨格系症状に対する新たな治療ターゲットの探索につなげていくことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では疾患モデルマウスを用いた *in vivo* の解析および *in vitro* の解析を行うことを予定した。具体的にはマルファン症候群モデルマウスの脊椎および椎間板の各組織をLMDにて採取し、網羅的な発現解析をマイクロアレイベースで行い、活性化また抑制されているシグナル経路をパスウェイ解析を用いて検索し、また手術で得られたヒトサンプルにて上記の知見がヒトでもあてはまるかを確認したのちに、*in vitro*にてTGFシグナルや上記で着目したシグナルの脊椎骨・椎間板組織の成長・成熟における影響を各種阻害薬を用いた器官培養系で検討する予定とした。続いてこれまでの過程で着目し

たシグナルの阻害薬をモデルマウスに *in vivo* でも投与することで脊柱側弯症の発症・進行が予防できるかを最終的に検討する予定とした。

4. 研究成果

本研究では遺伝子改変マウスの交配がすまず、研究期間内での遺伝子改変マウスの解析を終了するにはいたらなかったが、現在解析を進めているところである。その一方で平行してすすめていた新規のマウス椎間板変性モデルの確立に成功した。これまでは再現性の高いマウスの椎間板変性モデルがないことが椎間板研究の大きな支障となっていたため、本成果は椎間板分野の研究の今後の大きなブレイクスルーとなる成果であり、現在論文投稿中である。本モデルマウスおよび Laser-micro digestion (LMD)を用いて、椎間板変性過程における椎間板組織での FBN1 遺伝子を中心とする周辺遺伝子の発現変化を解析し、椎間板線維輪での恒常性寄与に FBN1 が重要な機能を果たしている可能性をつきとめた。また解析の過程で FBN1 と相互作用する新規遺伝子の同定に成功した。本遺伝子は椎間板線維輪組織において FBN1 と共局在し、また *in vitro* でフィブリリンファイバーの生合成を促進することを確認した。本遺伝子はマルファン症候群や椎間板変性そのものの新規治療薬候補となると考えられ、現在引き続き解析を続けているところである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

Taniguchi Y, Kawata M, Chang SH, Mori D, Okada K, Kobayashi H, Sugita S, Hosaka Y, Inui H, Taketomi S, Yano F, Ikeda T, Akiyama H, Mills AA, Chung UI,

Tanaka S, Kawaguchi H, and Saito T. p63 Regulates Chondrocyte Survival in Articular Cartilage. *Arthritis Rheumatol.* 2016

Taniguchi Y, Takahashi M, Matsudaira K, Oka H, Momose T. Potential use of (18)F-FDG-PET/CT to visualize hypermetabolism associated with muscle pain in patients with adult spinal deformity: a case report. *Skeletal Radiol.* 2016 Nov;45(11):1577-81.

Taniguchi Y, Chikuda H, Oshima Y, Ohya J, Matsubayashi Y, Morikawa T, Shirai H, Sasaki O, Shibuya M, Fujio K, Yamamoto K, Tanaka S. Thoracic intradural extramedullary lesions causing progressive myelopathy as an initial manifestation of granulomatosis with polyangiitis: a case report and review of literature. *J Spinal Cord Med.* 2016 Apr 22:1-4. [Epub ahead of print]

[学会発表](計4件)

谷口優樹 岡敬之 松林嘉孝 筑田博隆 大島寧 田中栄: Lenke type2 特発性側弯症の上位胸椎カーブにおける椎弓根スクリュー刺入の安全性に関する検討 第46回日本脊椎脊髄病学会 ロイトン札幌(北海道 札幌市) 2017.4.13

谷口優樹 尾市健 筑田博隆 大島寧 松林嘉孝 大谷隼一 田中栄 康永秀生: 本邦における小児側弯症術後の入院中死亡率および術後合併症の調査 - DPC データベースを用いた検討 - 第50回側弯症学会 国立京都国際会館(京都府京都市) 2016.11.17

尾市健、谷口優樹、相馬一仁、矢野文子、

松林嘉孝、大島寧、筑田博隆、田中栄、齋藤琢：腰椎椎間関節切除によるマウス椎間板変性モデルの樹立、第 29 回日本軟骨代謝学会、広仁会館（広島県広島市）2016.2.19-20

谷口優樹、筑田博隆、大島寧、松林嘉孝、武田憲文、藤田大司、犬塚亮、縄田寛、小野貴司、田中栄：マルファン症候群に伴う側弯症における FBN1 遺伝子変異パターンとの関連性の解析 第 49 回側弯症学会 りゅーとぴあ新潟市民芸術文化会館（新潟県新潟市）2015.11.6

(3) 連携研究者
該当なし

(4) 研究協力者
該当なし

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷口優樹 (Taniguchi Yuki)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80722165

(2) 研究分担者

竹下克志 (Takeshita Katsushi)
自治医科大学・教授
研究者番号：30262009

池田敏之 (Ikeda Toshiyuki)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：80322759