

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09334

研究課題名(和文)多系統萎縮症のバイオマーカー探索

研究課題名(英文)The search for a biomarker for multiple system atrophy

研究代表者

三井 純 (Mitsui, Jun)

東京大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号：70579862

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)：多系統萎縮症(MSA)患者群と健常対照者群に対して、血漿コエンザイムQ10濃度測定を行い、MSA患者ではCOQ2変異の有無にかかわらず血漿コエンザイムQ10濃度が有意に低いことを見出した。また、MSA患者からiPS細胞を樹立し、iPS細胞由来の神経細胞の分化誘導を行ったうえで機能解析をした。複合ヘテロ接合性にCOQ2変異をもつMSA患者では、ミトコンドリア呼吸機能ならびに抗酸化機能が低下していること、またCOQ2変異を持たないMSA患者でもアポトーシスが增加していることを認めた。これらの知見から、コエンザイムQ10の補充がMSA患者にとって有益である可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：We compared the levels of plasma CoQ10 in patients with MSA with those in age-, sex-, and COQ2 genotype-matched controls and found decreased levels of plasma CoQ10 in patients with MSA regardless of the COQ2 genotype. We found functional deficiency of mitochondrial respiration and anti-oxidative system in induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived neurons from an MSA patient with the compound heterozygous COQ2 mutations. We also found an increase in apoptosis of iPSC-derived neurons from MSA patients. These findings support a hypothesis that supplementation with CoQ10 is beneficial for patients with MSA.

研究分野：神経変性疾患

キーワード：多系統萎縮症 神経変性疾患 バイオマーカー コエンザイムQ10 酸化ストレス 電子伝達系 iPS細胞

## 1. 研究開始当初の背景

多系統萎縮症 (以下, MSA) は, 孤発性脊髄小脳変性症の大部分を占める, 原因不明で有効な治療法のない神経変性疾患の一つである。50 代後半と比較的若年で発症し, 発症から平均 5 年で歩行不能になるなど急速に進行するため, 社会的な損失も大きい。

代表的な神経変性疾患であるアルツハイマー病, パーキンソン病, 筋萎縮性側索硬化症では, 大部分が孤発性であるが, 10% 程度の患者に家族歴があり, そのような家系例の解析から, 原因遺伝子が同定されてきた。アルツハイマー病におけるアミロイド前駆体タンパク質 (APP 遺伝子), パーキンソン病における シヌクレイン (SNCA 遺伝子), 筋萎縮性側索硬化症における TDP-43 (TARDBP 遺伝子) など, 原因遺伝子の発見によって, 家族性患者のみならず, 孤発性患者の病態解明にも大きな貢献を果たしてきた。すなわち, これらの家族性発症の病因遺伝子は, 孤発性発症の病態機序にも共通して関与する分子であると考えられている。

例えばアルツハイマー病においてはアミロイド仮説が唱えられ, 実際にアミロイドに集積する放射性アイソトープを用いたイメージング, アミロイドの蓄積を防ぐ治療戦略 (セクレターゼやセクレターゼの阻害薬, アミロイドの抗原や抗体を用いる免疫療法) が, 臨床応用を目指した開発研究の対象となっている。

それらの神経変性疾患と比べて, MSA では遺伝因子が長らく不明で, バイオマーカーや治療法開発の手掛かりがない状態が続いていた。これまでに申請者らは, 家族性 MSA の家系解析から, 家族性 MSA の発症に強く関与する COQ2 遺伝子のホモ接合性変異及び複合ヘテロ接合性変異を同定した。さらに孤発性 MSA の関連解析を行い, COQ2 遺伝子変異のキャリアが, 孤発性 MSA 発症の危険因子であることを示した (Mitsui J, et al. N Engl J Med. 2013; 369: 233-44; Mitsui J, et al. N Engl J Med. 2014; 371: 82-3; Mitsui J, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2014; 452: 221-225)。COQ2 遺伝子は, コエンザイム Q10 (CoQ10) を生合成する酵素をコードしており, その変異によって CoQ10 の生合成が障害されることが予想されていた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は, 申請者らが同定している多系統萎縮症の遺伝因子の知見をもとに, 多系統萎縮症患者の血漿から代謝物質を分析し, 病態を反映する新たな代謝物質を発見す

ることである。診断や病勢の評価に用いるバイオマーカーや, 新たな治療法開発の手掛かりとして活用することを期待している。

## 3. 研究の方法

COQ2 遺伝子の複合ヘテロ接合性変異を有する家族性 MSA 患者, COQ2 遺伝子のヘテロ接合性変異を有する孤発性 MSA 患者の血漿を用いてメタボローム解析を行い, 健常対照者と比べて顕著に変化している代謝性物質を網羅的に探索する。

家族性 MSA 患者が呈する代謝性変化は, 孤発性 MSA 患者でも観察できるという仮説のもと, 規模を拡大して, 孤発性 MSA と健常対照者の血漿を分析し, 病態を反映するバイオマーカーを探索する。

COQ2 遺伝子の複合ヘテロ接合性変異を有する家族性 MSA 患者, COQ2 遺伝子変異を持たない孤発性 MSA 患者から iPS 細胞を樹立し, 病態に関連する機能についての評価を行う。

## 4. 研究成果

COQ2 変異を持つ多系統萎縮症 (MSA) 患者, COQ2 変異を持たない MSA 患者, 健常対照者の血漿のメタボローム解析を行い群間比較をしたが, 群間差が有意な化合物は同定できなかった。しかし, 酸化ストレスに関連した化合物では, COQ2 変異を持つ MSA 患者, COQ2 変異を持たない MSA 患者, 健常対照者の順に変化している傾向があった。

の結果を踏まえて, メタボローム解析の解析対象外だった血漿コエンザイム Q10 (CoQ10) 濃度を測定した。MSA 患者 44 人と健常対照者 39 人の平均血漿 CoQ10 濃度を比較して, 患者群  $0.51 \mu\text{g}/\text{mL}$  (標準偏差  $0.22$ ), 健常対照群  $0.72 \mu\text{g}/\text{mL}$  (標準偏差は  $0.42$ ) と患者群が有意に低かった。病型別では, 小脳運動失調型 26 人では  $0.58 \mu\text{g}/\text{mL}$  (標準偏差  $0.19$ )、パーキンソン症状型 18 人では  $0.49 \mu\text{g}/\text{mL}$  (標準偏差  $0.26$ ) だった。血漿 CoQ10 濃度と患者の有病期間, 歩行状態は関連しなかった。血漿 CoQ10 濃度, 年齢, 性別, COQ2 遺伝子変異の有無を独立変数として多変量ロジスティック回帰分析を行ったところ, 血漿 CoQ10 濃度だけが MSA の発症と有意な関連を示した。患者群と健常対照群から COQ2 遺伝子変異がある例を除外しても, 血漿 CoQ10 濃度と MSA の有意な関係は維持された。以上のことから, 血漿 CoQ10 濃度は COQ2 遺伝子変異と独立して MSA と関連することが示された。ただし, 患者群と健常対照群で血漿 CoQ10 濃度のオーバーラップがあり, 診断的な意義は乏しい。また, 疾患特異的かどうかは検討課題である。また, 経時的な変化はまだわかっていない。

CoQ10 の相対的な欠乏が, どのように MSA の病態機序と関連するのかを深く検討するため, COQ2 遺伝子の複合ヘテロ接合性変異を

有する家族性 MSA 患者,COQ2 遺伝子変異を持たない孤発性 MSA 患者, 健常対照者の血球細胞から iPS 細胞を樹立し, 神経細胞やグリア細胞へ分化させた細胞系を確立した. この細胞モデルに対して, グルコースフリー培地におけるアポトーシスマーカーや酸化ストレスマーカーの評価, CoQ10 投与時のそれらの評価を行った. その結果, COQ2 遺伝子の複合ヘテロ接合性変異を有する家族性 MSA 患者, COQ2 遺伝子変異を持たない孤発性 MSA 患者では, 文化したニューロンにおけるアポトーシスマーカーが増加しており, CoQ10 投与により減少が認められた (論文準備中).

#### 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 4 件)

Mitsui J, Koguchi K, Momose T, Takahashi M, Matsukawa T, Yasuda T, Tokushige SI, Ishiura H, Goto J, Nakazaki S, Kondo T, Ito H, Yamamoto Y, Tsuji S. Three-Year Follow-Up of High-Dose Ubiquinol Supplementation in a Case of Familial Multiple System Atrophy with Compound Heterozygous COQ2 Mutations. *Cerebellum*. 2017 Jun;16(3):664-672. doi: 10.1007/s12311-017-0846-9.

Mitsui J, Tsuji S. Plasma Coenzyme Q10 Levels and Multiple System Atrophy-Reply. *JAMA Neurol*. 2016 Dec 1;73(12):1499-1500. doi: 10.1001/jamaneurol.2016.4133.

Mitsui J, Matsukawa T, Yasuda T, Ishiura H, Tsuji S. Plasma Coenzyme Q10 Levels in Patients With Multiple System Atrophy. *JAMA Neurol*. 2016 Aug 1;73(8):977-80. doi: 10.1001/jamaneurol.2016.1325.

Mitsui J, Matsukawa T, Sasaki H, Yabe I, Matsushima M, Dürr A, Brice A, Takashima H, Kikuchi A, Aoki M, Ishiura H, Yasuda T, Date H, Ahsan B, Iwata A, Goto J, Ichikawa Y, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Hara K, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Watanabe H, Ito M, Sobue G, Ishikawa K, Mizusawa H, Kanai K, Hattori T, Kuwabara S, Arai K, Koyano S, Kuroiwa Y, Hasegawa K, Yuasa T, Yasui K, Nakashima K, Ito H, Izumi Y, Kaji R, Kato T, Kusunoki S, Osaki Y, Horiuchi M, Kondo T, Murayama S, Hattori N, Yamamoto M, Murata M, Satake W, Toda T, Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S, Tanner CM, Kukull WA, Stern MB, Lee VM, Trojanowski JQ, Masliah E, Low PA,

Sandroni P, Ozelius LJ, Foroud T, Tsuji S. Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015 Apr;2(4):417-26. doi: 10.1002/acn3.185.

##### [学会発表](計 4 件)

F. Nakamoto, S. Okamoto, J. Mitsui, H. Ishiura, S. Tsuji, O. Hideyuki. Induced pluripotent stem cell-derived neuronal cells from patients with multiple system atrophy as a model for investigating the pathogenesis linked to coenzyme Q10 insufficiency. The XXIII World Congress of Neurology, 国立京都国際会館, 京都, 日本. 2017 年 9 月 21 日

Jun Mitsui, Ken Koguchi, Toshimitsu Momose, Miwako Takahashi, Takashi Matsukawa, Tsutomu Yasuda, Shin-ichi Tokushige, Hiroyuki Ishiura, Jun Goto, Shigeaki Nakazaki, Tomoyoshi Kondo, Hidefumi Ito, Yorihiro Yamamoto, and Shoji Tsuji. Three-year follow-up of high-dose ubiquinol supplementation in a case of familial multiple system atrophy with compound heterozygous COQ2 mutations. 21st International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Vancouver Convention Centre, Vancouver, Canada. 2017 年 6 月 6 日

近田彩香, 松川敬志, 三井純, 辻省次. 多系統萎縮症の自然歴・予後解析のための単施設後ろ向き調査. 第 11 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres. 品川プリンスホテル, 東京, 日本. 2017 年 10 月 28 日.

松川 敬志, 三井 純, 辻 省次. 多系統萎縮症の革新的治療法の創出を目指した研究. 東京大学医学部附属病院先端医療シーズ開発フォーラム 2017. 東京大学伊藤国際学術研究センター, 東, 日本. 2018 年 2 月 1 日.

##### [図書](計 0 件)

##### [産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

三井 純 (MITSUI, Jun)  
東京大学・医学部附属病院・特任准教授  
研究者番号：70579862