

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05293

研究課題名(和文)わが国で発見されたTFG遺伝子異常による運動ニューロン病の海外学術調査と病態解明

研究課題名(英文)Overseas research for motor neuron disease with TFG gene mutation

研究代表者

中川 正法 (Naskagawa, Masanori)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50198040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、台湾、韓国でTFG遺伝子異常症の疫学調査を行った。台湾では兄妹例の診察を行い、国内例との臨床的相違点を明らかにした。韓国では、症例検討会を開催し、両国の症例は臨床的に同一であることを確認した。TFG遺伝子異常症を含む遺伝性ニューロパチーの共同研究のために、2016年9月に第1回Asia-Oceanic Inherited Neuropathy Consortium (AOINC) 会議をマラヤ大学で開催し、第2回を2017年9月に京都市で開催した。AOINCには、韓国、台湾、中国、タイ、マレーシア、シンガポール、オーストラリア、ニュージーランド、日本の9カ国の研究者が参加している。

研究成果の概要(英文)：We have a special interest in Hereditary Motor Sensory Neuropathy with Proximal dominant involvement (HMSN-P) in Asian-Oceanic area. In 2012, we identified the causative gene of HMSN-P, TRK-fused gene (TFG), by exome sequencing. After the report of TFG, new families with HMSN-P have been reported from Korea, Taiwan, Iran, Brazil, Peru and USA.

We have held the inaugural meeting of Asia-Oceanic Inherited Neuropathy Consortium (AOINC) at University of Malaya, August 22, 2016 and the second AOINC meeting at Kyoto, September 22, 2017. The aims of this international collaboration study are to establish an Asia-Oceanic Inherited Neuropathy (HN) patient registry and an affordable molecular diagnostic system, and to search new therapies for HN and prepare the clinical trial system in this region in collaboration North America/European HN study groups.

研究分野：神経内科学

 キーワード：TFG遺伝子異常 神経科学 運動ニューロン病 遺伝性ニューロパチー 分子疫学 アジア・オセアニア
地域

1. 研究開始当初の背景

われわれは沖縄県と滋賀県に多発する感覚障害を伴う常染色体優性遺伝の家族性運動ニューロン病(以下 HMSN-P)家系を報告し、その遺伝子座を第3染色体セントロメア近傍にマッピングした。その特徴は、成人発症の近位筋優位の筋萎縮、運動感覚神経障害、脊髄前角細胞脱落と後索障害、常染色体優性遺伝である。HMSN-Pは、家族性筋萎縮性側索硬化症(FALS)や脊髄性筋萎縮症との鑑別を必要とする進行性の疾患であり、人工呼吸器使用を余儀なくされることも少なくない。「家族性ALS」、「Kugelberg-Welander病」、「Charcot-Marie-Tooth病2型亜型」などと診断がなされている場合が多い。前田らは、沖縄出身日系ブラジル人家系のHMSN-Pを報告した。注目すべき点は、沖縄家系、滋賀家系と同様に、このブラジル人家系も当初は「家族性ALS」と診断されていたことである。

一方、過去6年間の科学研究費補助金海外学術調査(JSPS21406026、24406030)にて、ブラジル在住の沖縄出身日系ブラジル人HMSN-P家系の調査をサンパウロ大学神経内科と共同で行い、わが国でみられるHMSN-Pと臨床的に同一であることを確認した。2011~2013年にかけて同大学でHMSN-Pに関する教育講演を行い、共同研究を進めてきた。

2012年にHMSN-Pの原因遺伝子がTRK-fused gene (TFG)変異であることを解明した。ハプロタイプ解析の結果、沖縄家系と滋賀家系のTFG変異は独立した起源をもっていることも明らかとなった。TFGの解明は大きな反響を呼びHMSN-Pにおける変異と異なる新たなTFG変異を示す家系が米国、欧州、韓国、台湾、イラン、ペルーから報告されている。これらの家系の中には、CMT2、遺伝性痙性対麻痺、家族性筋萎縮性側索硬化症(FALS)などがあり、われわれが予想していたように、HMSN-Pおよび関連疾患が国内のみならず世界中にひろく存在すること、HMSN-Pの研究がFALSの病態解明につながることで、そして、TFG変異による新たな病態(TFG異常症)が明らかとなった。

以上より、HMSN-Pおよびその類似症例は、海外に広く存在する可能性が高く本研究の学術的意義は極めて高いと考える。本研究は、HMSN-Pの解明にとどまらず、TFG異常症として運動ニューロン病全体の病態解明と治療法開発に結びつくものである。

2. 研究の目的

本研究では、過去6年間の海外学術調査(JSPS21406026、24406030)の研究成果を踏まえて、1)北米、欧州、南米、アジア諸国でのHMSN-P家系および類似家系の国際疫学調査、2)HMSN-P患者の神経組織における家族性ALS関連遺伝子の分子病理学的検討、3)HMSN-Pの原因遺伝子であるTFG

の詳細な機能解明、4)TFG変異動物モデル・iPS細胞の作成等による病態解明と治療法の開発を目的とする。

3. 研究の方法

ブラジルにおけるHMSN-Pの疫学調査を行うために、ブラジルのサンパウロ大学神経内科の研究チームDr. Angelina Lino (Neurology Clinic, School of Medicine, Sao Paulo University, Brazil)と協力して、ブラジル神経内科医と学術カンファレンスを行い、HMSN-Pの臨床的、病理学的、分子遺伝学的特徴に関する最新の知見を共有する。その上でブラジルとわが国とのHMSN-Pの臨床症状、神経生理学的所見、神経病理学的所見等の類似点、相違点を詳細に検討する。同意を得られた家系については、遺伝子解析用の採血または口腔粘膜組織・唾液採取を行う。北米、欧州、韓国のHMSN-P家系および類似家系の疫学調査についても、ブラジルと同様の方法でDr. Michael Shy (Department of Neurology, Iowa University, USA)の研究チーム、Dr. Luca Padua (Neurology, Universita Cattolica del Sacro Cuore, Italy)、韓国Dr. Byung-Ok Choi (Department of Neurology, Sungkyunkwan University, Korea)教授ら協力して行う。TFG遺伝子解析については、DNAシークエン싱、遺伝子発現についての検討を行う。ブラジルHMSN-P家系と国内のHMSN-Pとのハプロタイプの比較検討を行う。患者の病理解剖が行われた場合は、脊髄、後根神経節などの組織を中心に神経病理学的検討、TDP-43、OPTN、FUSなどのALS関連蛋白を中心とする分子病理学的検討を行う。

さらに、ブラジル以外の南米諸国(ペルー、アルゼンチン)、韓国以外のアジア諸国の神経内科医を対象として、HMSN-P/TFG異常症の臨床病態についての学術カンファレンスを行い、HMSN-P/TFG異常症の臨床的、病理学的、分子遺伝学的特徴に関してコンセンサスを得る。

一方、TFG遺伝子の特性を明らかにするために、培養細胞への異常遺伝子の導入、ショウジョウバエのモデルの作成、トランスジェニックモデルマウスの作成、文科省疾患特異的iPS細胞拠点と協力したTFG異常iPS細胞の作成等により本症の病態を分子レベルで明らかにする。HMSN-P/TFG異常症の分子病態に基づいた治療法の開発を目指す。以上の研究成果を踏まえて、最終年度にHMSN-P/TFG異常症に関する国際会議を京都または米国で開催する。

4. 研究成果

台湾、韓国でTFG遺伝子異常症の国際疫学調査を行った。台湾では、兄妹例の診察を行い、国内例との臨床的相違点を明らかにした。韓国では、症例検討会を開催し、両国の症例は臨床的に同一であることを確認した。イラ

ン、ペルーからも TFG 遺伝子異常症の報告があり調査を計画したが、今回は実現しなかった。TFG 遺伝子異常症を含む遺伝性ニューロパチーを共同で研究するために、2016年9月に第1回 Asia-Oceanic Inherited Neuropathy Consortium (AOINC) ミーティングをクアラルンプールのマラヤ大学で開催した。さらに、第2回ミーティングを2017年9月22日に京都市内で開催した。AOINCには、韓国、台湾、中国、タイ、マレーシア、シンガポール、オーストラリア、ニュージーランド、日本の9カ国の遺伝性ニューロパチーに関する代表的な研究者参加している。この国際ミーティングでは、アジア・オセアニア地域での遺伝性ニューロパチー患者レジストリーの必要性と最低限のデータセットの討議を行った。第3回AOINCミーティングを2018年11月にソウルで行い、本研究の内容について共通認識を深める予定である。TFG 遺伝子異常症の病態解明のために、ショウジョウバエモデルや患者末梢血由来の iPSC 細胞から神経組織を作成し、その特性を明らかにしている。疾患バイオマーカーに関して、多チャンネル表面筋電図や血漿中微量蛋白分析を行う準備を行った。

AOINC 参加国：韓国、台湾、中国、タイ、マレーシア、シンガポール、オーストラリア、ニュージーランド、日本(2017年12月現在)

なお、ブラジルの調査に関しては、ブラジル国内の治安上の問題もあり、今回は実施できなかった。

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 16 件)

1. Kushimura Y, Nakagawa M, Yamaguchi M (他8名、7番目). Overexpression of ter94, Drosophila VCP, improves motor neuron degeneration induced by knockdown of TBPH, Drosophila TDP-43. *Am J Neurodegener Dis.* 2018;7(1):11-31. (査読有)
2. Saito K, Nakagawa M, Mizuno T, Koizumi S (他10名、12番目). Aberrant astrocyte Ca²⁺ signals "AxCa signals" exacerbate pathological alterations in an Alexander disease model. *Glia.* 2018;66(5):1053-1067. (査読有)
3. Fujisaki N, Suwazono S, Takashima H,

Nakagawa M (他6名、最終著者). The natural history of hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement (HMSN-P) in 97 Japanese patients. *Intractable Rare Dis Res.* 2018;7(1):7-12. (査読有)

4. Minami K, Takashima H, Suzuki N (他5名、7番目). The First Report of a Japanese Case of Seipinopathy with a BSCL2 N88S Mutation. *Intern Med.* 2018;57(4):613-615. (査読有)
5. Dung VM, Takashima H, Yamaguchi M (他5名、7番目). Neuron-specific knockdown of Drosophila PDHB induces reduction of lifespan, deficient locomotive ability, abnormal morphology of motor neuron terminals and photoreceptor axon targeting. *Exp Cell Res.* 2018; 0014-4827(18)30118-6. 3. (査読有)
6. Yuan JH, Takashima H (他13名、最終著者). Clinical and mutational spectrum of Japanese patients with recessive variants in SH3TC2. *J Hum Genet.* 2018;63(3):281-287. (査読有)
7. Tanabe H, Takashima H (他22名、最終著者). Clinical and genetic features of Charcot-Marie-Tooth disease 2F and hereditary motor neuropathy 2B in Japan. *J Peripher Nerv Syst.* 2018; 23(1):40-48. (査読有)
8. Kitani-Morii F, Nakagawa M, Inoue H (他9名、11番目). Analysis of neural crest cells from Charcot-Marie-Tooth disease patients demonstrates disease-relevant molecular signature. *Neuroreport.* 2017;28(13):814-821. (査読有)
9. Ohara R, Nakagawa M (他8名、9番目). Modeling drug-induced neuropathy using human iPSCs for predictive toxicology. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;101(6):754-762. (査

- 読有)
10. Murakami N, Imamura K, Izumi Y, Egawa N, Tsukita K, Enami T, Yamamoto T, Kawarai T, Kaji R, Inoue H. Proteasome impairment in neural cells derived from HMSN-P patient iPSCs. *Mol Brain*. 2017;10(1):7. (査読有)
 11. Kondo D, Takashima H, Kira JI (他4名、6番目). A novel mutation in FGD4 causes Charcot-Marie-Tooth disease type 4H with cranial nerve involvement. *Neuromuscul Disord*. 2017;27(10):959-961. (査読有)
 12. Yoshimura A, Takashima H (他20名、最終著者). Clinical and mutational spectrum of Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease caused by GDAP1 variants. *Clin Genet*. 2017;92(3):274-280. (査読有)
 13. Ando M, Takashima H (他14名、最終著者). Clinical and mutational spectrum of Charcot-Marie-Tooth disease type 2Z caused by MORC2 variants in Japan. *Eur J Neurol*. 2017 Oct;24(10):1274-1282. (査読有)
 14. Tsuji Y, Noto Y, Shiga K, Yokota I, Nakagawa M, Mizuno T. Does hand dominance affect peripheral nerve excitability? *Clin Neurophysiol*. 2016 Apr;127(4):1921-1922. (査読有)
 15. Kyotani A, Azuma Y, Yamamoto I, Yoshida H, Mizuta I, Mizuno T, Nakagawa M, Tokuda T, Yamaguchi M. Knockdown of the Drosophila FIG4 induces deficient locomotive behavior, shortening of motor neuron, axonal targeting aberration, reduction of life span and defects in eye development. *Exp Neurol*. 2016 ;277:86-95. (査読有)
 16. Tokuda N, Noto Y, Kitani-Morii F, Hamano A, Kasai T, Shiga K, Mizuta I, Niwa F, Nakagawa M, Mizuno T. Parasympathetic Dominant Autonomic Dysfunction in

Charcot-Marie-Tooth Disease Type 2J with the MPZ Thr124Met Mutation. *Intern Med*. 2015;54(15):1919-1922. (査読有)

〔学会発表〕(計 7 件)

1. XXIII World congress of Neurology, Poster session. Masanori Nakagawa, Yukiko Tsuji, Yu-ichi Noto, Kensuke Shiga, Toshiki Mizuno, The research group of clinical evidence to improve Charcot-Marie-Tooth Disease patient care. 「Charcot-Marie-Tooth disease Patient Registry (CMTPR) in Japan」 September 19, 2017, Kyoto, Japan
2. The 2nd AOINC meeting in Kyoto. Masanori Nakagawa. Clinical and genetic aspects of hereditary neuropathy in Japan」 September 22, 2017, Mielparque Kyoto
3. The inaugural meeting of the Asia-Pacific CMT Consortium. Masanori Nakagawa. “Overview of inherited neuropathies in Japan”. Faculty of Medicine, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia. August 22th (Monday), 2016
4. International Conference of the Genetic Society of Korea 2016 (ICGSK 2016). Masanori Nakagawa. “Clinical and genetic aspects of hereditary neuropathy in Japan”. November 11th (Friday), 2016, Ramada Plaza in Jeju, Korea,
5. 第113回日本内科学会総会・講演会 教育講演。中川正法。「シャルコー・マリー・トウス病の遺伝子診断の進歩と治療戦略」。2016年4月17日(日) 東京国際フォーラム
6. 第57回日本神経学会学術大会、シンポジウム(英語) : Hot topics 3 : Cutting edge of metabolic/hereditary neuropathies. Masanori Nakagawa. “Therapeutic strategy for Charcot-Marie-Tooth disease”. 2016年5月18日(水) 神戸コンベンションセンター

7. 中川正法、滋賀健介、能登祐一、辻 有希子、水野敏樹。第26回日本末梢神経学会学術集会 パネルディスカッション「シャルコー・マリー・トゥース病患者WEB登録システム」2015年9月18日 松本

〔図書〕(計1件)

シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル改訂2版。CMT診療マニュアル編集委員会編(編集責任者中川正法) 金芳堂、京都、2015。(査読無)

〔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: cmt-japan.com

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 正法 (Nakagawa, Masanori)
京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号: 50198040

(2) 研究分担者

梶 龍兒 (Kaji, Ryuji)
徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授
研究者番号: 00214304

高嶋 博 (Takashima, Hiroshi)
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号: 80372803

滋賀 健介 (Shiga, Kensuke)
京都府立医科大学・医学研究科・准教授
研究者番号: 90336751

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

出雲周二 (Izumo, Shuji)
鹿児島大学・医歯薬総合研究科・教授

山口政光 (Yamaguchi, Masamitsu)
京都工芸繊維大学応用生物学・教授

前田憲吾 (Maeda, Kengo)・医長
国立病院機構滋賀病院神経内科

滋賀健介 (Shiga, Kensuke)
京都府立医科大学・医学研究科・准教授

Angelina Lino・教授

ブラジル・サンパウロ大学神経内科
Michael Shy・教授
米国 アイオワ大学神経内科

Luca Padua・教授
イタリア カソリック大学神経内科

Byung-Ok Choi・教授
韓国 Sungkyunkwan 大学神経内科