

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07992

研究課題名(和文) リピート病の中樞神経病態の多面的解明 筋強直性ジストロフィーを中心に

研究課題名(英文) Multidimensional Analyses of the Central Nervous System Pathophysiology of Repeat Expansion Disease: Focusing on Myotonic Dystrophy

研究代表者

高橋 正紀 (Takahashi, Masanori)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20359847

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：神経変性疾患研究において重要な課題として残されている領域選択性障害の機序を明らかにすることを最終的目標とした。RNA病としての病態理解が非常に進んでいることから、筋強直性ジストロフィー(DM)を主たる対象とした。剖検脳を用いて脳領域ごとにRNAseqによる網羅的解析を行った。側頭葉において既報を含め多数のスプライス異常が同定された。小脳特異的な異常も同定された。前頭 側頭葉での領域間類似性が確認された。また、臓器間についても比較検討するため、肝臓についても、RNAseq解析を実施した。さらに、臨床神経心理学的検査・MRI画像計測データの蓄積を行い、その特徴についても明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義
リピート病のひとつである筋強直性ジストロフィーを対象として、中枢神経におけるRNA異常の病態を網羅的解析により明らかにした。この成果は、他のリピート病や変性疾患での解析に役立つ基礎的データとなることが期待される。また、明らかにされた画像や神経心理学的特徴は、患者の臨床評価、治験におけるアウトカムメジャーとしても役立つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The ultimate goal of this study was to elucidate the mechanisms of region-selectivity, which remain a crucial issue in the study of neurodegenerative diseases. Myotonic dystrophy (DM) was chosen as the primary focus of the study, as the understanding of its pathogenesis as an RNA disease is very advanced. We performed a comprehensive RNAseq analysis of each brain region using autopsied brains. We identified many splice abnormalities, including those previously reported, in the temporal lobe. Cerebellar-specific abnormalities were also identified. Inter-regional similarities were revealed between frontal and temporal lobes. RNAseq analysis was also performed on the liver to compare the differences between organs. We accumulated neuropsychological and MRI data and clarified the clinical characteristics of DM patients.

研究分野：脳神経内科

キーワード：筋強直性ジストロフィー RNA スプライシング 中枢神経 認知機能

1. 研究開始当初の背景

神経変性疾患の分子病態解明は急速に進んできているものの、残された重要な疑問のひとつは、その脳領域・細胞選択的障害性である。近年、霊長類や正常ヒトの網羅的トランスクリプトーム解析やエピゲノム解析が行われ、正常ヒト脳の各部位における物質的知見が蓄積しつつある(Xu et al. Genome Research 2018 など)。

遺伝性神経変性疾患には、数塩基の繰り返し配列が伸長することによる、いわゆるリピート病が多数存在する。リピート病の分子病態はリピートの存在する部位により異なる病態が提唱されてきた。翻訳領域にリピートの存在する多くの遺伝性脊髄小脳変性症やハンチントン病などでは、CAG 繰り返し配列伸長を含む翻訳産物であるグルタミンの伸長したタンパクの異常凝集が細胞毒性を呈するとされてきた(ポリグルタミン病態)。一方、非翻訳領域の繰り返し配列伸長による疾患として、筋萎縮性側索硬化症の一種である ALS_{C9ORF72} や DM1 が知られている。DM1 の分子病態としては、伸長リピートを含む RNA の核内凝集により RNA 結合タンパクの核内での量的・質的变化が生じ、二次的にさまざまなスプライス異常を生じ、多彩な症状を呈するとされてきた(RNA 病態)。そのような中、あらたなリピート病に共通する画期的な病態が近年提唱された。すなわち、リピート周辺での逆方向(アンチセンス)の RNA 転写が存在すること、さらにフロリダ大の Ranum 教授らが示した、リピートにおいて開始コドン(ATG)以外からいろいろなフレームでのタンパク翻訳がなされるという RAN translation である。

DM1 は筋疾患とされるが、成人型での性格変化・高次機能障害、先天型での精神発達遅滞、学習障害、自閉症スペクトラム障害(ASD)など、中枢神経症状も呈し、QOL や就労などに関わる、臨床的にもっとも重要な症状である。DM1 の中枢神経病態解明は、大きな障害に直面している。一つは、適切な動物モデルが存在しないことであり、もう一つは、遺伝性脊髄小脳変性症におけるプルキンエ細胞の脱落や細胞内のポリグルタミン凝集タンパクといった疾患特異的な病理学的変化が、DM1 の脳において認められないことである。このような特徴的な病理学的変化の乏しさは、症状の類似する ASD などと共通している。ASD では、近年脳機能ネットワーク異常という考え方が有力になりつつあるが、DM1 においてそのような解析はほとんど存在していない。

2. 研究の目的

先天型 DM における精神発達遅滞、自閉傾向や学習障害、成人型での性格変化、認知機能障害などの中枢症状は、QOL に大きな影響を与える DM の重要な臨床的課題である。DM の骨格筋、心筋などの分子病態はスプライス異常でかなり説明できるものの、中枢神経症状の分子病態については依然として解決できていない。そこで、本研究は DM における中枢神経の分子病態を明らかにすることを第一義的目的とした。

さらに、神経変性疾患の病態解明について、領域あるいは細胞選択性障害の機序が重要な課題として残されている。近年、霊長類や正常人の網羅的トランスクリプトーム解析やエピゲノム解析が行われ、正常ヒト脳の各部位における物質的知見が蓄積しつつある。そこで本研究では、DM をモデルとして、神経変性疾患の領域・細胞選択性障害の機序についてもあわせて検討することとした。

いっぽう、自閉症スペクトラム障害などでは物質的側面ではなく、脳神経ネットワーク機能の異常が病態機序として注目されている。そこで、脳画像・脳磁図(MEG)などを用いた機能面での解析もあわせて行い、神経変性疾患の領域・細胞選択性について多面的に理解することを目指した。

3. 研究の方法

研究は、剖検脳を用いた分子レベルの網羅的解析と、患者を対象とした神経心理学および神経生理学的ネットワークの解析に大きく分かれる。

剖検脳を用いた分子レベルの網羅的解析については、DM1 および疾患対照(筋萎縮性側索硬化症)について、大脳(前頭葉、側頭葉)・小脳など大きな領域別の比較解析を行った。遺伝子発現の変化(DEG解析)および mRNA スプライス異常を検討するため、RNA-seq による網羅的トランスクリプトーム解析を実施した。

患者を対象とした脳画像・脳磁図などによる神経ネットワーク機能の解析については、MMSE, Trail Making Test, verbal fluency, FAB, Wisconsin Card Sorting Test, 標準注意検査法(CAT), Apathy, ESS, MF120, MDQoL60 などにより、患者の神経心理学的評価を網羅的に行った。そのうえで、構造 MRI および MEG による解析を行った。

4. 研究成果

DM1 および疾患対照(筋萎縮性側索硬化症)について、剖検脳を用いて脳領域ごと(大脳(前頭葉、側頭葉)・小脳)に RNAseq による網羅的トランスクリプトーム解析を行った。

RNA 発現については、DM1 の前・側頭葉においては疾患対照より発現上昇がみられる遺伝子が

多く、小脳においては逆に発現低下を呈する遺伝子が多かった。GO 解析では、側頭葉において細胞死の制御、アポトーシスプロセスの制御、プログラム細胞死の制御に関する遺伝子群において down-regulation が検出された。

スプライス異常については、既報の MAPT などを含め様々な RNA スプライス異常が同定された。一方でこれまで異常が少ないとされてきた小脳において、小脳特異的なスプライス異常も同定された。同一患者の前頭葉、側頭葉、小脳の間でのスプライス変化の類似性について複数患者の検体で検討し、前頭葉 側頭葉では類似する傾向が確認された。

また、全身疾患としての本症の臓器間の RNA 異常についても比較検討することとした。そこで、本症ではインスリン抵抗性・脂肪肝などの代謝障害を呈することから、剖検肝臓組織での RNAseq 解析も実施した。

さらに、DM1 型患者での、臨床神経心理学的検査・MRI 画像・MEG 計測データの蓄積を行い、臨床神経心理学的な特徴についても明らかにすることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujino Haruo, Saito Toshio, Takahashi Masanori P., Takada Hiroto, Nakayama Takahiro, Imura Osamu, Matsumura Tsuyoshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Quality of life and subjective symptom impact in Japanese patients with myotonic dystrophy type 1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Neurology	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) 10.1186/s12883-022-02581-w	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 -
1. 著者名 Sugimoto Marika, Kuru Satoshi, Takada Hiroto, Horie Riho, Yamauchi Kosuke, Kubota Tomoya, Matsumura Tsuyoshi, Nakamura Harumasa, Kimura En, Takahashi Masanori P.	4. 巻 432
2. 論文標題 Characteristics of myotonic dystrophy patients in the national registry of Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 120080 ~ 120080
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2021.120080	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 Hama Manami, Horie Riho, Kubota Tomoya, Matsumura Tsuyoshi, Kimura En, Nakamura Harumasa, Takahashi Masanori P., Takada Hiroto	4. 巻 427
2. 論文標題 Metabolic complications in myotonic dystrophy type 1: A cross-sectional survey using the National Registry of Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 117511 ~ 117511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2021.117511	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 高橋正紀	4. 巻 27
2. 論文標題 これから変わる筋強直性ジストロフィーの医療	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 難病と在宅ケア	6. 最初と最後の頁 21-24
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 2. Itoh H, Hisamatsu T, Tamura T, Segawa K, Takahashi T, Takada H, Kuru S, Wada C, Suzuki M, Suwazono S, Sasaki S, Okumura K, Horie M, Takahashi MP, Matumura T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Cardiac conduction disorders as markers of cardiac events in myotonic dystrophy type 1.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc.	6. 最初と最後の頁 e015709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.119.015709.	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 -

1. 著者名 高橋正紀	4. 巻 91
2. 論文標題 筋強直性ジストロフィーの臨床および病態機序	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 脳神経内科	6. 最初と最後の頁 436-442
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 中森雅之、高橋正紀	4. 巻 83
2. 論文標題 神経筋疾患、新たな治療の時代へ 各疾患の治療の現状 筋強直性ジストロフィー	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 小児科診療	6. 最初と最後の頁 45-50
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 Plantie E, Nakamori M, Renaud Y, Huguet A, Choquet C, Dondi C, Miquero L, Takahashi M, Gourdon G, Junion G, Jagla T, Zmojdian M, Jagla K	4. 巻 8
2. 論文標題 Straightjacket/ 2 3 deregulation is associated with cardiac conduction defects in myotonic dystrophy type 1.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e.51114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.51114.	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 該当する

1. 著者名 Nakamori M, Panigrahi G, Lanni S, Gall-Duncan T, Hayakawa H, Tanaka H, Luo J, Otabe T, Li J-X, Sakata A, Caron M-Ch, Niraj J, Prasolava T, Chiang K, Masson J-Y, Wold MS, Wang X, Lee MYWT, Huddleston J, Munson KM, Davidson S, 中略 Takahashi MP, Eichler EE, Shlien A, Nakatani K, Mochizuki H, Pearson CE.	4. 巻 52
2. 論文標題 A slipped-CAG DNA-binding small molecule induces trinucleotide-repeat contractions in vivo.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nat Genet.	6. 最初と最後の頁 146-159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41588-019-0575-8.	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14件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 高橋正紀
2. 発表標題 神経筋疾患、新しい治療の時代へ 筋強直性ジストロフィーにおける病態解明の進歩と治療開発
3. 学会等名 第63回日本小児神経学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋正紀
2. 発表標題 筋強直性ジストロフィー 最近のトピックス
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruo Fujino, Yukihiro Ueda, Shugo Suwazono, Tsuyoshi Matsumura, Osamu Imura, Masanori Takahashi
2. 発表標題 Examination of Neuropsychological Tests to Measure Cognitive Functions in Myotonic Dystrophy Type 1.
3. 学会等名 The 19th Asian-Oceanian Myology Center Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hana M, Horie R, Kubota T, Matsumura T, Kimura E, Nakamura H, Takahashi MP, Takada H
2. 発表標題 Liver dysfunction and dyslipidemia in myotonic dystrophy type 1: A cross-sectional study using the National Registry of Japan.
3. 学会等名 26th International Congress of the World Muscle Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋正紀
2. 発表標題 「筋強直性ジストロフィー」 病態と疾患管理 脳神経内科・遺伝診療の立場から
3. 学会等名 第7回産科婦人科遺伝診療学会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田博仁、高橋正紀、松村 剛、松井未紗、岩橋博見
2. 発表標題 筋強直性ジストロフィー合併糖尿病に対するDPP-4阻害剤の有効性に関する検証
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 久留聡、高橋俊明、鈴木幹也、斎藤利雄、松村剛、高橋正紀
2. 発表標題 筋強直性ジストロフィーに対する呼吸療法の実態調査
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 濱真奈美、堀江里歩、久保田智哉、松村 剛、高田博仁、高橋正紀
2. 発表標題 患者登録データおよび二次調査における筋強直性ジストロフィー1型患者の代謝障害についての臨床調査
3. 学会等名 第7回筋ジストロフィー医療研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井村 修、松村 剛、諏訪園秀吾、上田幸彦、藤野陽生、高橋正紀
2. 発表標題 筋強直性ジストロフィータイプ1(DM1)における疲労感の問題
3. 学会等名 第7回筋ジストロフィー医療研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高田博仁、松井未紗、高橋正紀、松村 剛、岩橋博見
2. 発表標題 筋強直性ジストロフィーにおける耐糖能障害の進展に関する経時的観察
3. 学会等名 第7回筋ジストロフィー医療研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Itoh h, Hisamatsu T, Tamura T, Segawa K, Takahash T, Takada H, Kuru S, Wada C, Suzuki M, Suwazono S, Sasaki S, Okumura K, Horie M, Takahashi M, Matumura T.
2. 発表標題 Cardiac conduction disorders as markers of cardiac events but not sudden death in myotonic dystrophy type 1.
3. 学会等名 The 12th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamauchi K, Horie R, Kubota T, Matsumura T, Kimura E, Nakamura H, Takahashi M.
2. 発表標題 Registry of myotonic dystrophy in Japan: Current status and genotype-phenotype correlation.
3. 学会等名 The 12th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujino H, Matsumura T, Saito T, Nakayama T, Takahashi MP, Imura O.
2. 発表標題 Discrepancy between patient and clinician evaluation of symptoms in myotonic dystrophy.
3. 学会等名 The 12th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤野陽生、上田幸彦、諏訪園秀吾、松村 剛、高橋正紀、井村 修
2. 発表標題 筋強直性ジストロフィーにおける認知機能評価バッテリーの提案
3. 学会等名 第6回 筋ジストロフィーの CNS障害研究会
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			
フランス	University of Clermont Auvergne			
カナダ	The Hospital for Sick Children, Toronto			