

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15231

研究課題名（和文）プリオン遺伝子変異が原因の稀少神経難病に対するiPS細胞を用いた創薬研究

研究課題名（英文）Study using patient iPSC drug repositioning model for rare relentless prion gene mutated disease

研究代表者

松園 構佑（Matsuzono, Kosuke）

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：80809070

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）：PRNPY162X患者からiPS細胞の作製、神経細胞への分化を行った。酸化ストレスに対して、患者群では神経細胞生存率が減少していた。また、患者群では健常群に比べ、50%以上プリオン蛋白の転写が低下していた。以上から、正常なプリオン蛋白が神経細胞に強く発現しているのは酸化ストレスに対する耐性獲得のためとても重要であることが示された。エダラボンとリコンビナントのプリオン蛋白をそれぞれiPS細胞神経に加えると、脆弱だった過酸化水素に対する耐性改善を認めた。そのため、我々は現実のPRNP Y162X患者に対して、エダラボンの投与を行ったところ、投与前に比べ悪化遅延または改善効果を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プリオン遺伝子患者からiPS細胞を樹立して行った研究は世界でも稀少である。本研究ではプリオン病の中でも稀少なY162X変異例からiPS細胞の樹立に成功したが、その結果正常なプリオン蛋白が神経細胞にとって酸化ストレス耐性を獲得する上で重要な機能を果たしていることが明らかとなった。実際の患者に対して、研究の結果同定したエダラボンの投与を行ったところ、延命と症状改善効果が得られており、社会に与えるインパクトが大きい研究である。

研究成果の概要（英文）：Prion disease is the fetal neurological relentless disease. Due to the rarity, it is hard to develop the treatment for this rare prion disease. For finding the effective treatment, we studied the using patient iPSC drug repositioning approach. We developed three each iPSC clone from the 58 age PRNP Y162X variant female and 63 age healthy control female. We differentiated these iPSCs to cortical neurons and found the effective drug for the PRNP Y162X variant case by using these iPSC-neurons for disease modeling. Finally, we show that using PRNP Y162X patient iPSC drug repositioning model was available not only in basic but also in actual prion disease case, which can be the breakthrough approach for rare neurological relentless disease.

研究分野：神経内科学

キーワード：神経難病 プリオン iPS細胞

様式 F - 19 - 2

1. 研究開始当初の背景

プリオン遺伝子変異で起こる疾患は脳や脊髄などの中枢神経に限局した難病とされてきたが、申請者らの研究成果もあり、一部のプリオン遺伝子変異では家族性に自律末梢神経障害を来し、全身に異常なプリオン蛋白が沈着する病態があることが近年明らかとなった。「PrP Systemic Deposition Disease (PSDD)」と命名された本病態では、C末端の部分が終止コドンとなる変異のため、GPI アンカーの欠如したプリオン遺伝子変異を片方持つこととなる。しかし、PSDDの詳細な病態機序は未だに解明されておらず、PSDDは致死的な疾患であり治療方法がない。

2. 研究の目的

プリオン遺伝子 *PRNP* Y162X 患者の血液から iPS 細胞を作製し、PSDD の病態について解明し、有効な治療薬を同定することが目的である。

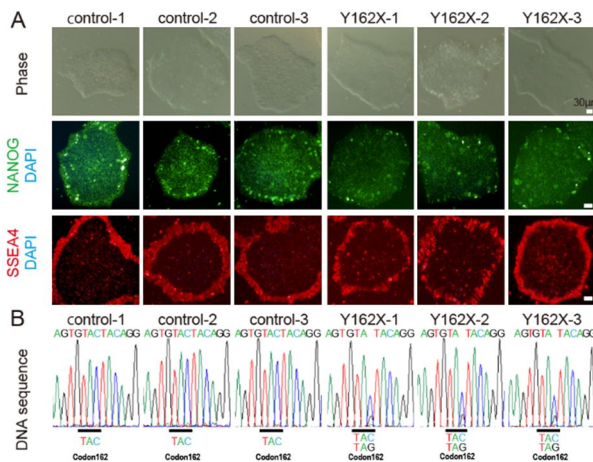
3. 研究の方法

PSDD を呈した Y162X 患者由来 iPS 細胞と健常者由来の iPS 細胞から、それぞれ神経細胞を分化させる。PSDD 患者由来の iPS 細胞群で、異常なプリオン蛋白が凝集しているかについて生化学的に検証する。次に酸化ストレスにより、PSDD の病態進行が促進されるかを検証し、既に脳梗塞や筋萎縮性側索硬化症に対して保険承認されているフリーラジカルスカベンジャーのエダラボンが病態の進行抑制に有効であるかを iPS 細胞モデルを用いて検証する。iPS 細胞のモデルでエダラボンの効果を検証し、有効性が示されれば、適切な指針と承認に基づいた上で同薬を実際の Y162X 患者に投与する。

4. 研究成果

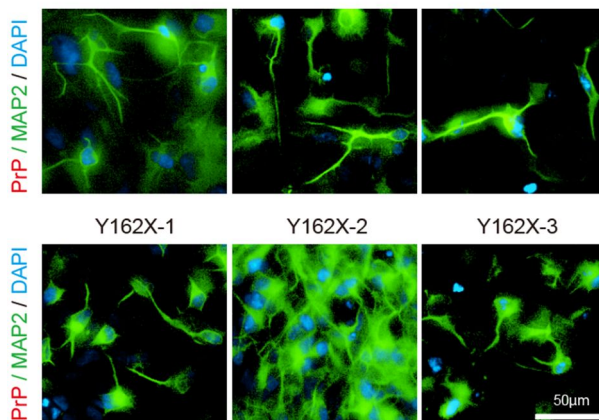
健常者及び Y162X 患者から 3 クローンずつ iPS 細胞を樹立することに成功した(図 1)

図 1 作製した iPS 細胞



健常者及び Y162X 患者由来 iPS 細胞から分化させた神経細胞共に、神経細胞内には異常なプリオン蛋白の凝集は認められなかった (図 2)。

図 2 iPS 細胞から分化させた神経細胞, 上段が健常群, 下段が Y162X 患者群



しかし、予想していた通り、Y162X 患者由来 iPS 神経細胞群では健常群に比べて、酸化ストレスに対する顕著な脆弱性を認めた (図 3, 図 4)

図 3 細胞生存率

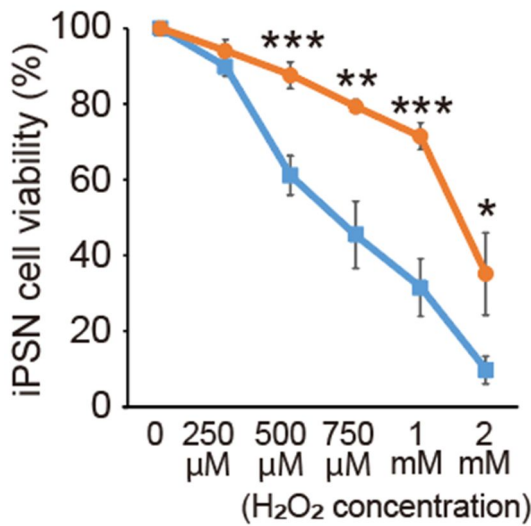
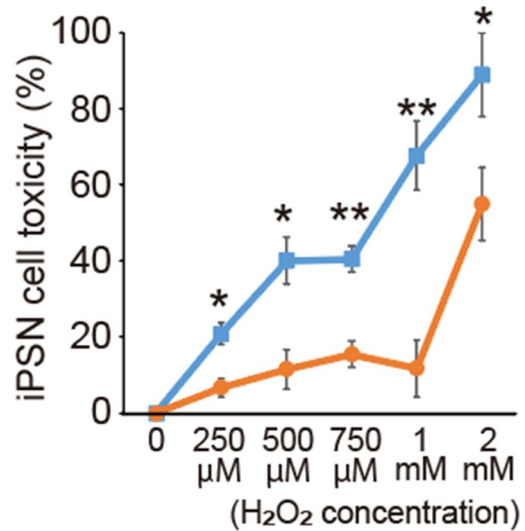


図 4 LDH アッセイによる細胞毒性



青線: Y162X 患者由来 iPS 神経細胞群
 橙線: 健常対照群

これらの酸化ストレス脆弱性は、エダラボン投与により、部分的に改善を認めた (図 5, 図 6)

図 3 エダラボン投与下の細胞生存率

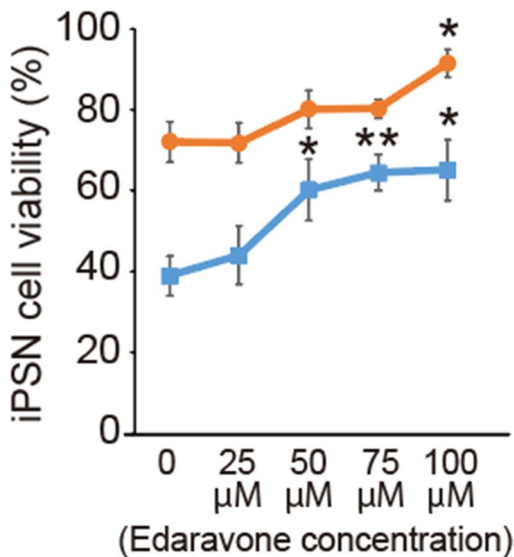
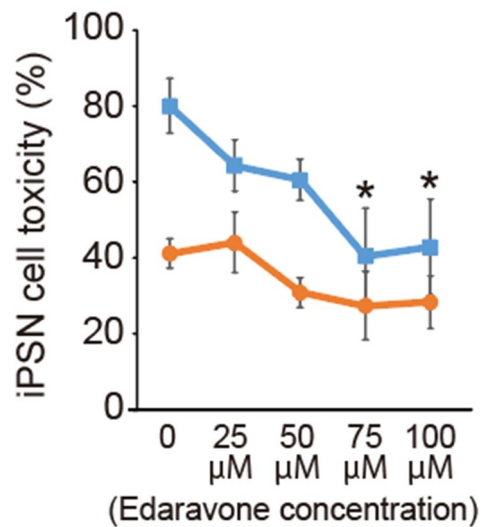


図 4 エダラボン投与下 LDH アッセイ



上記の結果を基に、実際の Y162X 患者にエダラボンの投与を行った所、栄養素に関する血液検査所見、認知機能、MIBG 心筋シンチ所見、末梢神経の反応性、24 時間血圧変動率など多くのパラメータで所見の改善が得られた。

世界的に稀少なプリオン遺伝子変異の iPS 細胞研究を行い、プリオン病態における酸化ストレス耐性の喪失を明らかにした。iPS 細胞研究の結果から、エダラボンの有効性を見出し、実際のプリオン遺伝子変異患者の治療を行い、患者は状態が改善、現在も存命中である。稀少な遺伝性神経疾患に対して、iPS 細胞研究がトランスレーショナルに治療法の開発に有効性を示した研究成果であり、今後世界的に権威あるトランスレーショナル誌での報告を目指している。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Matsuzono K, Kim Y, Honda H, Anan Y, Hashimoto Y, Sano I, Iwaki T, Kitamoto T, Fujimoto S	4. 巻 428
2. 論文標題 Optic nerve atrophy and visual disturbance following PRNP Y162X truncation mutation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 117614
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jns.2021.117614	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松園 構佑, 阿南 悠平, 三浦 久美子, 益子 貴史, 小澤 忠嗣, 鈴木 雅之, 小澤 美里, 小出 玲爾, 田中 亮太, 藤本 茂
2. 発表標題 全身型プリオン蛋白沈着症とクロイツフェルト・ヤコブ病の関係
3. 学会等名 第40回 日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松園 構佑, 阿南 悠平, 三浦 久美子, 益子 貴史, 小澤 忠嗣, 鈴木 雅之, 小出 玲爾, 田中 亮太, 藤本 茂
2. 発表標題 新しいプリオン病の概念、全身型プリオン蛋白沈着症の臨床的特徴について
3. 学会等名 第119回日本内科学会総会・講演会
4. 発表年 2022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
---------	---------