

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390223

研究課題名(和文)ジストニア・パーキンソニズムの分子病態の解明と画期的治療法開発に関する総合的研究

研究課題名(英文) Research on molecular pathogenesis and next-generation therapeutic agent for dystonia-parkinsonism

研究代表者

梶 龍児 (KAJI, Ryuji)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：00214304

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,400,000円

研究成果の概要(和文)：コンサルトを受けた61症例のうち18症例(29.5%)において、既知のDYT遺伝子に変異を認めた。全エクソーム解析を行ったところ、2症例においてエピジェネティクス遺伝子に変異が見つかり、新規候補遺伝子と考えた。現在、モデルマウスを作製し、解析を行っている。DYT1モデルマウスの線条体において、ストリオゾーム優位のmu-opioid receptorの発現低下が認められた。現在、このメカニズムについて培養細胞を用いて検索している。A2NTXとonabotulinumtoxinAの効果を短趾伸筋に施注して調べたところ、A2NTXの効果の優位性を確認できた。

研究成果の概要(英文)：We performed genetic testing for the currently-known DYT genes and found mutations in 18 out of 61 cases (29.5%). Whole exome sequencing in two patients demonstrated a new candidate gene for dystonia, which is related to epigenetics. We are now analysing the biological abnormalities using conditional knock-out mice. In the study of DYT1 model mice, we found a down-regulation of mu-opioid receptor dominant in striosome, and are now confirming this using neuronal cell culture. As for A2NTX, the next generation botulinum toxin with high safety and efficacy than onabotulinumtoxinA (BOTOX), we finalized the patent applications all over the world by adding animal and human data.

研究分野：神経内科

キーワード：ジストニア A2-NTX ストリオゾーム 基底核 ボツリヌス毒素

1. 研究開始当初の背景

ジストニアは、基底核を中心とし、小脳、視床、大脳皮質のネットワークに異常を来す疾患である。ジストニアの大部分において、病理学的所見、神経画像所見に特異的なものはなく、病態には不明点が多い疾患である。病態解明において、遺伝性ジストニアの原因遺伝子の研究は重要であり、研究の手がかりになる。我々は DYT3 の原因遺伝子である TAF1 を発見し、神経可塑性の障害、ストリオゾーム細胞の脱落、感覚運動連関の異常を明らかにした。そうした実績を背景に、ジストニアの分子病態機序をさらに解明しようとした。さらに、次世代のボツリヌス毒素製剤 (A2-NTX) の臨床応用のためのトランスレーショナル研究を行うことを目標とした。

2. 研究の目的

(1)ジストニアの分子病態機序を明らかにすること

(2)次世代のボツリヌス毒素製剤 (A2-NTX) の臨床応用

3. 研究の方法

(1). ジストニアの分子病態機序に関する研究

ジストニア患者のコンサルテーション組織 (Japan Dystonia Consortium) を立ち上げた。そして、日本全国からの依頼において、ビデオファイルを提供して頂き、症候学的見地より診断に関してフィードバックを行った。ジストニアと診断された症例で、遺伝子異常の疑われる症例では、書面での同意を得て遺伝子採血を行った。そして、既知のジストニア遺伝子を調べ、変異がないものに対しては、全ゲノム exome シークエンス解析を行った。新規ジストニア候補遺伝子が見つければ、iPS 細胞構築やモデルマウスの作製を行い、既知のジストニア遺伝子との関連 (interaction) を調べた。

DYT1 モデルマウスにおいて、ニューロペプチドを中心に免疫組織学的検討を行い、組織・細胞レベルでの異常所見の有無を評価した。

(2). 次世代のボツリヌス毒素製剤 (A2-NTX) の臨床応用

健常ボランティアにおいて、A2-NTX の効果を電気生理学的に行い、既に使用されている onabotulinumtoxin A の効果と比較検討を行った。さらに徳島大学倫理委員会承認を受け、ジストニア・痙縮患者を対象に投与を行い、disability score の評価を行った。

4. 研究成果

61 症例のうち 18 症例 (29.5%) においてジ

ストニア遺伝子異常が見出された。遺伝子異常と臨床表現型は一致しており、特に SGCE-DYT11 では全例において変異が認められた。また PRRT2-DYT10 では半数に於いて遺伝子異常を認めた。孤発例と思われた全身性ジストニアにおいて、GCH1-DYT5 に変異を認めた。父親、同胞 3 名にも同変異を認めたが、発症してはなかった。軽度の精神発育遅滞を伴う全身性ジストニア症例において、既知のジストニア遺伝子には変異は認められなかった。両親、患者を対象に exome 解析 (trio 解析) を行ったところ、エピジェネティクスに関する遺伝子において、*de novo* の frameshift 変異を見出した。変異の影響として、既知のジストニア遺伝子を含め、数多くの遺伝子発現調整に影響が出ると思われる。現在、モデルマウスを作製し、transcriptome 解析を行っている。

DYT1 モデルマウスにおいて、DYT1 マウス線条体においてストリオゾーム優位の mu-opioid receptor の発現低下が認められた。現在、このメカニズムについて培養細胞を用いて検索している。

A2NTX と onabotulinumtoxinA の効果を短趾伸筋に施注して調べたところ、A2NTX は onabotulinumtoxinA よりも効果がより限局しており、効果が持続することが判明した。

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 9 件)

Mukai Y, Shimatani Y, Sako W, Asanuma K, Nodera H, Sakamoto T, Izumi Y, Kohda T, Kozaki S and Kaji R. Comparison between botulinum neurotoxin type A2 and type A1 by electrophysiological study in healthy individuals. 査読有 **Toxicon**. 2014;81:32-36.

Mure H, Morigaki R, Koizumi H, Okita S, Kawarai T, Miyamoto R, Kaji R, Nagahiro S, Goto S. Deep Brain Stimulation of the Thalamic Ventral Lateral Anterior Nucleus for DYT6 Dystonia. 査読有 **Stereotact Funct Neurosurg**. 2014;92:393-396.

Kimura Y, Mihara M, Kawarai T, Kishima H, Sakai N, Takahashi PM and Mochizuki H. Efficiency of deep brain stimulation in an adolescent patient with DYT11 myoclonus-dystonia. 査読有 **Neurology and Clinical Neuroscience** 2014;(2):57-59

Kishore R Kumar, Katja Lohmann, Ikuo Masuho, Ryosuke Miyamoto, Andreas Ferbert, Thora Lohnau, Meike Kasten, Johann Hagenah, Norbert Brüggemann, Julia Graf, Alexander Münchau, Vladimir S Kostic, Carolyn M Sue, Aloysius R Domingo, Raymond L Rosales, Lillian V Lee, Karen Freimann, Ana Westenberger, Youhei Mukai, Toshitaka Kawarai, Ryuji Kaji, Christine Klein, Kirill A Martemyanov and Alexander Schmidt. Mutations in GNAL: a novel cause of craniocervical dystonia. 査読有 **JAMA Neurology**, 2014;71:490-494.

Kawarai T, Miyamoto R, Murakami N, Miyazaki Y, Koizumi H, Sako W, Mukai Y, Sato K, Matsumoto S, Sakamoto T, Izumi Y, Kaji R. Dystonia genes and elucidation of their roles in dystonia pathogenesis. 査読有 **Rinsho Shinkeigaku**. 2013;53:419-429.

Morigaki R, Nakataki M, Kawarai T, Lee LV, Teleg RA, Tabuena MD, Mure H, Sako W, Pasco PM, Nagahiro S, Iga J, Ohmori T, Goto S, Kaji R. Depression in X-linked dystonia-parkinsonism: A case-control study. 査読有 **Parkinsonism Relat Disord**. 2013;19:844-846

Goto S, Kawarai T, Morigaki R, Okita S, Koizumi H, Nagahiro S, Munoz EL, Lee LV, Kaji R. Defects in the striatal neuropeptide Y system in X-linked dystonia-parkinsonism. 査読有 **Brain**. 2013;136:1555-1567

Toshitaka Kawarai*, Paul Matthew D. Pasco*, Rosalia A. Teleg*, Masaki Kamada*, Waka Sakai, Komei Shimozono, Makoto Mizuguchi, Daisy Tabuena, Antonio Orlacchio, Yuishin Izumi, Satoshi Goto, Lillian V. Lee, Ryuji Kaji. *equal contribution
Application of long-range polymerase chain reaction in the diagnosis of X-linked dystonia parkinsonism. 査読有 **Neurogenetics**. 2013;14:167-169.

Toshitaka Kawarai*, Ai Miyashiro*, Katsunobu Sugihara*, Ryosuke Miyamoto, Yuishin Izumi, Hiroyuki Morino, Hirofumi Maruyama, Antonio Orlacchio, Hideshi Kawakami, and Ryuji Kaji. *equal contribution
Oromandibular dystonia associated with SCA36. 査読有 **MovDisord**. 2013;28:558-559.

〔学会発表〕(計 6 件)

Miyamoto R, Sumikura H, Takeuchi T, Fujita K, Mure H, Morigaki R, Goto S, Murayama S, Izumi Y, Kaji R. An Autopsy Case of Predominant Generalized Dystonia in a Patient with Cerebellar Atrophy. **The 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders**. 2014年6月12日、ストックホルム、スウェーデン

Miyashiro A, Miyamoto R, Koizumi H, Kaji R. Lingual Dystonia: A Retrospective Analysis of 21 Patients in Japanese Speaking Cohort. **The 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders**. 2014年6月12日、ストックホルム、スウェーデン

Osaki Y, Nodera H, Shimatani Y, Chimeglkham B, Kaji R. Influence of anesthetic agents on sensory nerve excitability testing in mice. **30th International Congress of Clinical Neurophysiology**. 2014年3月20日、ベルリン、ドイツ

Nodera H, Shimatani Y, Kaji R. Nerve excitability change by chronic administration of methylglyoxal: implication for diabetic neuropathy. **30th International Congress of Clinical Neurophysiology**. 2014年3月20日、ベルリン、ドイツ

Nodera H, Kaji R. Acute effects of methylglyoxal on neuroexcitability. **American Association of Neuromuscular Medicine and Electrodiagnostic Medicine (AANEM)**. 2013年10月16日、サンアントニオ、アメリカ合衆国

瓦井俊孝、宮本亮介、村上永尚、小泉英貴、宮城愛、宮崎由道、藤田浩司、佐藤健太、松井尚子、松本真一、向井洋平、坂本崇、和泉唯信、梶龍兒
遺伝性ジストニアの臨床遺伝学的研究 第54回日本神経学会学術大会、2013年5月31日、東京国際フォーラム

〔図書〕(計 1 件)

梶龍兒 編著「ジストニアのすべて」 診断と治療社 2013

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)
名称: 筋緊張亢進改善薬
発明者: 梶龍兒, 宮城愛
権利者: 国立大学法人徳島大学
種類: 特許
番号: 特願 2013-148475
出願年月日: 2013年7月17日

国内外の別：国内

取得状況（計 0 件）

〔その他〕
ホームページ等

Japan Dystonia Consortium
[http://neuro-tokushima.com/dystonia.htm](http://neuro-tokushima.com/dystonia.html)
l

6．研究組織

(1)研究代表者

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

(2)研究分担者

瓦井 俊孝（ KAWARAI, Toshitaka ）
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研
究部・講師
研究者番号： 50614137

後藤 恵（ GOTO, Satoshi ）
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研
究部・特任教授
研究者番号： 50240916

(3)連携研究者

（ ）

研究者番号：