

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群の病態解明と治療法の開発
2. 研究開発代表者：古庄知己（国立大学法人信州大学・医学部附属病院遺伝子診療部）
3. 研究開発の成果：研究開発代表者らは、進行性結合組織脆弱性（皮膚過伸展・脆弱性、全身関節弛緩・脱臼・変形、巨大皮下血腫）、発生異常（先天性多発関節拘縮、顔貌上の特徴、眼・内臓奇形）を特徴とするエーラスダンロス症候群（Ehlers-Danlos Syndrome ; EDS）の新病型を見出した。原因遺伝子が *CHST14* であることを示し、疾患概念を構築、「デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 (D4ST1) 欠損に基づくエーラスダンロス症候群（古庄型 ; DDEDS）」と命名した。研究開発代表者は、2015 年国際 EDS コンソーシアムにおける DDEDS 研究の責任者となり、世界の DDEDS 研究を牽引する責務を有することとなった。本研究開発の目的は、①次世代シーケンスによる全世界規模での新規患者収集および臨床的検討・患者由来検体を用いた病態解析研究の推進、②iPS 細胞や KO マウスによる病態解析および遺伝子治療開発を含む基礎研究の展開である。

次世代シーケンスによる遺伝子解析を駆使した全世界規模での新規患者収集は研究代表者、福嶋義光博士、高橋淳博士、上原将志医師（信州大学）、簗持淳博士（獨協医科大学）、三宅紀子博士（横浜市立大学）が中心となり実施し、国内 2 症例に関して症例報告を完成した（Mochida et al., 2016; Kono et al., 2016）。これまでに全世界で 27 家系 40 症例が論文報告され、新たに 14 家系 16 患者を見出し、うち 31 家系 35 症例の詳細な臨床情報を収集した。臨床的分析により、診断基準、健康管理指針を構築し、国際学会、国際誌に発表した（Kosho, 2016）。また、皮膚病理分析は、中山淳博士（信州大学）、広瀬拓哉氏、竹花一成博士（酪農学園大学）が実施、疾患特異的所見を見出し、投稿準備中である。尿中の糖鎖分析においても、水本秀二博士、山田修平博士（名城大学）により、尿中 DS が著減または消失するという疾患特異的所見が見出され、投稿準備中である。このことは本症が、全身性の DS 欠乏状態に起因することを示す重要な結果である。さらに、松本健一博士（島根大学）は、血中バイオマーカーの探索に向けた基礎研究に着手した。

iPS 細胞研究は、岳鳳鳴博士、佐々木克典博士が実施した。研究協力者の江良沢実博士（熊本大学）により樹立された 3 患者由来の iPS 細胞を用いて、未分化能、多能性を確認した後、種々の細胞系列への分化誘導実験を開始した。特に、患者の生命予後、QOL に大きく影響する巨大皮下血腫の病態解明を視野に入れて、血管平滑筋細胞への分化誘導に成功した。患者 iPS 細胞および健常人 iPS 細胞由来の血管平滑筋細胞を用いて、刺激に対する血管収縮能を解析した。結果、患者 iPS 細胞由来の血管平滑筋細胞では、健常人 iPS 細胞由来の血管平滑筋細胞よりも収縮能が低下していることが明らかになった。現在、その検証とさらなる病態解明を目指し、研究を継続している。

KO マウス研究は、増田千明博士、笠原優子博士、渡邊淳博士、岡田尚巳博士（日本医科大学）、積田奈々氏、野村義宏博士（東京農工大）、青木吉嗣博士（国立精神神経医療研究センター）、吉沢隆浩博士、松本清司博士（信州大学）が実施、従来法で作出したマウスの多くが周産期致死であったため、従来法に加えて CRISPR/cas9 法による作出を試み、成功した。縦断的な表現型の観察により、多発関節拘縮は呈さなかったものの体重増加不良、脊椎変形、筋力低下傾向、皮膚脆弱傾向が示された。胎盤病理分析により周産期致死には胎盤の血管異常が関与している可能性が示された。これらは国際学会で発表した。

遺伝子治療開発研究は、日本医科大学の研究者により実施され、*CHST14* 遺伝子を導入したアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを改良し、細胞モデル、動物モデルへの導入実験を計画している。