

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：孤発性 ALS 患者大規模前向きコホートの臨床バイオリソース・ゲノム遺伝子・不死化細胞を用いた病態解明、治療法開発研究
2. 研究開発代表者：祖父江 元（名古屋大学大学院医学系研究科）
3. 研究開発の成果：本研究は多施設共同前向き ALS 患者コホート（JaCALS）を基に、孤発性 ALS 病態関連遺伝子を同定し、病態解明から創薬を進めることを目的としている。JaCALS の患者登録体制は全国 31 施設で整備され、2016 年 3 月末で ALS 患者 1179 例の登録を行い、340 例の正常コントロール検体の保存も行った。登録患者の前向き臨床像の調査を継続しており、前向き調査の同意を得た登録患者の 9 割以上について予後を把握している。

JaCALS に蓄積されたゲノム遺伝子リソースについて、約 70 万の common SNPs と約 25 万のエクソン SNPs のタイピングを進め、孤発性 ALS 患者の多彩な進行パターンと関連する遺伝子多型探索を行った。その結果、急速に症状が進行するタイプと有意に関連する遺伝子多型を見出し、それらが遺伝子 *TTN* の発現低下と関連することを示した。*TTN* 遺伝子は筋の構造と機能に重要な働きをするタンパク Titin を発現する。Titin は ALS 患者の治療標的になりうることが想定される。JaCALS のゲノム遺伝子リソースを用いて 28 個の ALS 関連遺伝子の網羅的シークエンスを実施し、孤発性 ALS 患者において 3.0% の例にこれら遺伝子の既知の変異が見いだされた。さらに 6.8% の例で 1~2 個の有害となりうる新規 variant を認めた。孤発性 ALS の発症についてもこれら遺伝子の rare variant が発症に強く寄与していることを示唆する成果である。また、次世代シークエンサーを用いたエクソーム解析が孤発性 ALS 患者 717 例において終了した。日本人 1000 例以上の正常コントロール例の全ゲノム解析データが蓄積されている東北メディカルメガバンク（ゲノム解析部門、長崎正朗教授ら）との共同研究体制を構築し、ALS 患者エクソームデータとの関連解析を進めつつある。

BMP 阻害剤(Dorsomorphine)、TGF・阻害剤(SB431542)を用いた神経分化誘導法(Dual Smad inhibition)に、GSK3・阻害剤 (BIO) を併用することで、ヒト iPS 細胞から、短期間(2 週間) で高効率(約 50%)に、かつ簡便に HB9 陽性運動ニューロンを誘導する培養法を開発した。また iPS 細胞由来運動ニューロンの可視化と濃縮・純化について、運動ニューロン特異的に蛍光タンパク(Venus)を発現するレポーターレンチウイルス(HB9e438-Venus)を用いて運動ニューロンの変性過程を経時的・定量的に評価することを可能にした。連携する慶應大学岡野研にて、JaCALS に登録された孤発性 ALS 患者 65 例分の株化細胞から、iPS 細胞ライブラリーの作成が行われた。運動ニューロンへの分化誘導が進められ、表現型および薬剤反応性を検証するシステムの開発が推進されている。

JaCALS の縦断的臨床データから、孤発性 ALS 患者における身体機能障害の進行および生命予後に関連する臨床的因子の解析を行い、発症年齢が共通する因子であることを明らかにした。さらに発症年齢が孤発性 ALS の病像に与える影響を明らかにした。2015 年 6 月末に承認された新規の ALS 治療薬であるエダラボンについて、長期的予後の改善につながるかどうか、市販後調査を行い、JaCALS の自然歴情報と比較する計画が進行中である。