

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：難治性疾患実用化研究事業

Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases

研究開発課題名：福山型筋ジストロフィー及び類縁疾患の中枢細胞移動障害の拡幅を目指した基盤技術
開発研究

Migration disorder in Fukuyama congenital muscular dystrophy and related disorders.

研究開発担当者 所属 役職 氏名：

国立大学法人神戸大学 大学院医学研究科小児科学 特命准教授 池田 真理子
Mariko Taniguchi-Ikeda, Associate Professor, Department of Pediatrics, Kobe
University Graduate School of Medicine

実施期間：平成 28年 11月 2日 ～ 平成 29年 3月 31日

分担研究開発課題名：疾患特異的 iPSC 細胞の樹立

Generation of iPSC derived from patients with Fukuyama congenital muscular
dystrophy and related disorders.

研究開発分担者所属 役職 氏名：

国立大学法人神戸大学・大学院科学技術イノベーション研究科・神戸大学大学院
科学技術イノベーション研究科 先端医療学分野 教授 青井 貴之

Takashi Aoi, Professor, Division of Advanced Medical Science, Graduate
School of Science, Technology and Innovation, Kobe University

II. 成果の概要（総括研究報告）

福山型筋ジストロフィー（FCMD）は本邦特有の、重篤な難病である。乳幼児期に発症する筋ジストロフィーに加えて滑脳症など重度の中樞神経症状が必発する。これは細胞移動障害によると考えられるが詳細は不明である。日本に約千名程度の患者が存在するが未だ治療法はない。開発代表者は、FCMD が責任遺伝子フクチン非翻訳領域への、レトロランスポゾンの挿入型変異がもたらすスプライシング異常症であることを発見した。また、これを阻止するアンチセンス核酸（AON）を動物・患者細胞系に投与し、骨格筋での正常蛋白の回復、標的蛋白の α ジストログリカンの糖鎖回復に成功した（Taniguchi-Ikeda, et al, *Nature* 2011）。その後、製薬企業と共同開発を行い、人を対象としたAON 開発に成功し、初の骨格筋治療薬として臨床治験に進みつつある。

一方、現時点では中樞神経症状に対する治療法は未開発である。FCMD は骨格筋を治療しても重篤な合併症が残存するため、FCMD に対する中樞治療研究が望まれる。また FCMD の類縁疾患であるアルファジストログリカノパチーは共通の発症機序をもつ難病で世界中に患者は存在し、原因遺伝子は 18 にのぼるが、これらに対する治療法も無い。また、マウスモデルではヒト患者を反映する表現型をもたず、適切な疾患モデルが存在しない。そこで本研究は FCMD 及びその類縁疾患の中樞神経系の治療法を確立するために、iPS 細胞を用いて適切な疾患モデルを作成し、疾患モデルを解析することで治療法の開発の基盤を作ることを目的とする。

本年度は開発代表者神戸大学池田真理子が診療を行う患者の御家族の同意を得て、分担研究者である神戸大学イノベーション研究科青井貴之教授及び理化学研究所六車恵子専門職研究員と共に複数の FCMD 由来、及びその類縁疾患患者末梢血由来の iPS 細胞を樹立し、未分化能チェックや染色体解析などの品質評価を行った。また疾患特異的 iPS 細胞の株を複数作成し、これらを用いて、理化学研究所が開発した三次元培養法を活用し、iPS 細胞由来の脳組織による疾患モデルの作成を試みた。

Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMD) is a severe childhood muscular dystrophy with severe neurological symptom such as lissencephaly, epilepsy and intellectual disability. Migration disorder is suggested as the etiology of these neurological symptoms, but the precise mechanisms are largely unknown. All patients have ancestral insertion of a SINE-VNTR-*Alu* retrotransposal element (SVA) into a causative gene *fukutin*. We have shown that aberrant mRNA splicing, induced by SVA exon-trapping caused FCMD (Taniguchi-Ikeda M et al, *Nature* 2011). Introduction of antisense oligonucleotides (AONs) prevented pathogenic splicing in FCMD patient cells and skeletal tissue in model mice, and normalized protein production and functions of Fukutin as well as *O*-glycosylation of alpha dystroglycan (α -DG). We have also succeeded in optimization of the best, single AON for coming clinical trial.

However, treatment for the neurological symptom for FCMD has yet to be found. In addition, there are several related disorders to FCMD, which commonly lack *O*-glycosylation of α -DG, termed as alpha dystroglycanopathies (α -DGpathies). Eighteen genes have so far been identified to cause α -DGpathies, but no treatment has been found. Moreover, FCMD model mice do not show distinct neurological symptom. Therefore, it is crucial to establish the appropriate disease model to find the treatment of α -DGpathies. Thus, our aim is to investigate the etiology of neurological manifestation of FCMD and related disorders by utilizing induced pluripotent stem cell (iPSC), derived from patients'

blood or fibroblasts.

This year, Dr. Takashi Aoi, Professor at Kobe University and Dr. Keiko Muguruma, Research specialist at RIKEN and Dr. Mariko Taniguchi-Ikeda, Associate Professor at Kobe University have generated several iPSC from patients with FCMD, patients with related disorders, and healthy volunteers. Informed consents were obtained from all the patients or their guardians. We have checked the pluripotency, chromosomal analyses, and potencies of neural differentiation of these iPSCs. Moreover, we have generated several lines from each patient's iPSC and tested on the generation of telencephalic tissues by utilizing the self-organizing three-dimensional culture technique.

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 0件）
なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし
- (4) 特許出願
なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： 難治性疾患実用化研究事業

Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases

研究開発課題名： 福山型筋ジストロフィー及び類縁疾患の中枢細胞移動障害の拡幅を目指した基盤技術
開発研究

Migration disorder in Fukuyama congenital muscular dystrophy and related disorders.

研究開発担当者 所属 役職 氏名：

国立大学法人神戸大学 大学院医学研究科小児科学 特命准教授 池田 真理子
Mariko Taniguchi-Ikeda, Associate Professor, Department of Pediatrics, Kobe
University Graduate School of Medicine

実施期間： 平成 28 年 11 月 2 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究開発課題名：

疾患特異的 iPS 細胞と三次元培養法を活用した in vitro モデルの開発

In vitro modeling of Fukuyama-type congenital muscular dystrophy and α -
dystroglycanopathy using disease specific iPSCs.

研究開発分担者所属 役職 氏名：

国立研究開発法人理化学研究所 多細胞システム形成研究センター 専門職研究員
六車 恵子

Keiko Muguruma, Research Specialist, Center for Developmental Biology, RIKEN
National Research and Development Agency

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：国立大学法人神戸大学 大学院医学研究科小児科学 池田 真理子
総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし
- (4) 特許出願
なし