

最終講義

神経変性疾患の克服をめざして

名古屋大学 神経内科

祖父江 元

平成27年3月20日

大学院生時代

- Primitiveな神経変性疾患研究 -

私の神経変性疾患研究の揺籃期

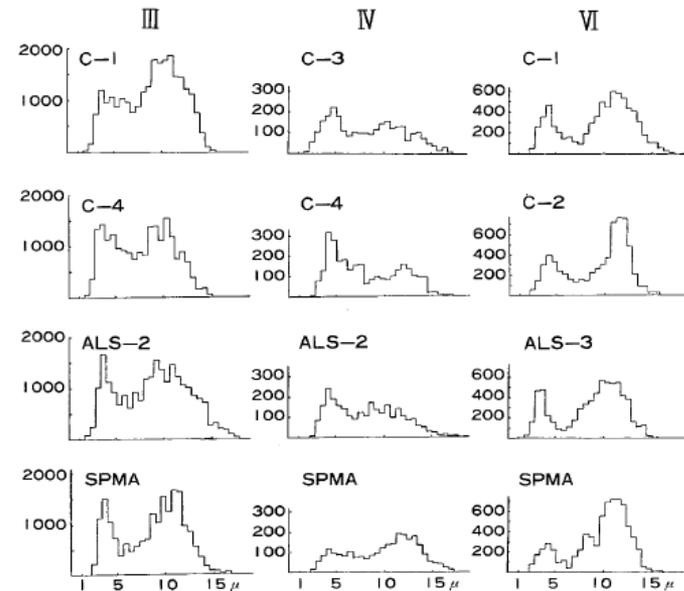
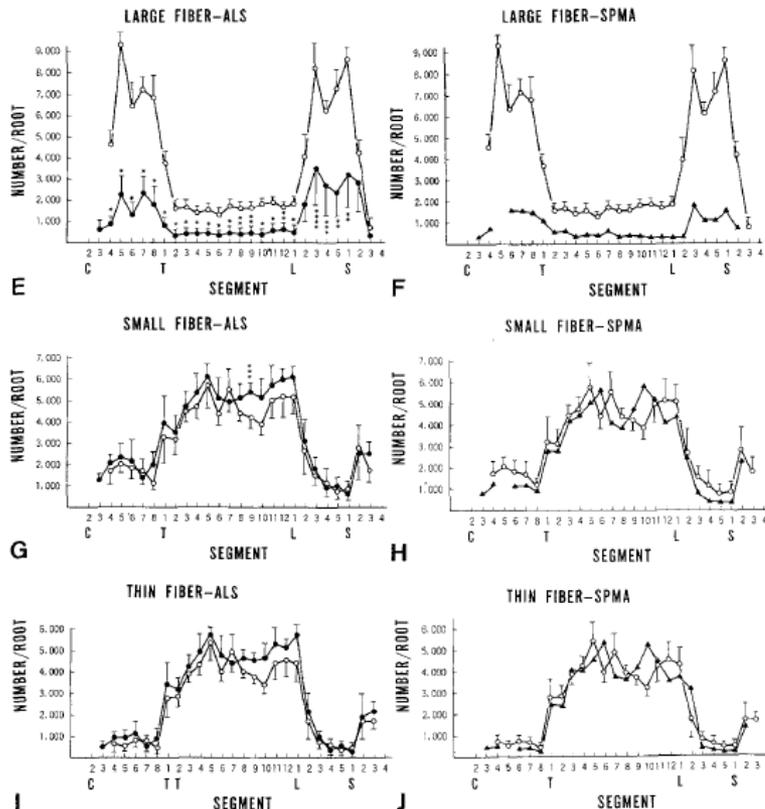
(分子生物学の前の時代)

(大学院時代) 運動ニューロン疾患 (ALS, SBMA) の病理学的研究3部作(1)

Spinal and Cranial Motor Nerve Roots in Amyotrophic Lateral Sclerosis and X-linked Recessive Bulbospinal Muscular Atrophy: Morphometric and Teased-fiber Study

G. Sobue¹, Y. Matsuoka¹, E. Mukai¹, T. Takayanagi¹, I. Sobue¹, and Y. Hashizume²

Acta Neuropathol (Berl) 1981; 55(3): 227-235



定量的な解析で、病変分布の特異性を示した

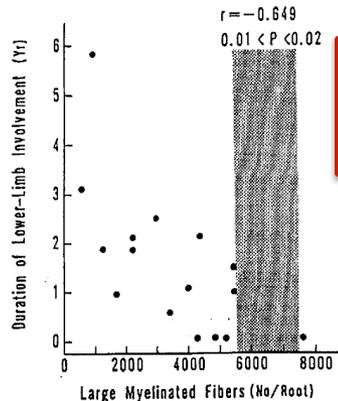
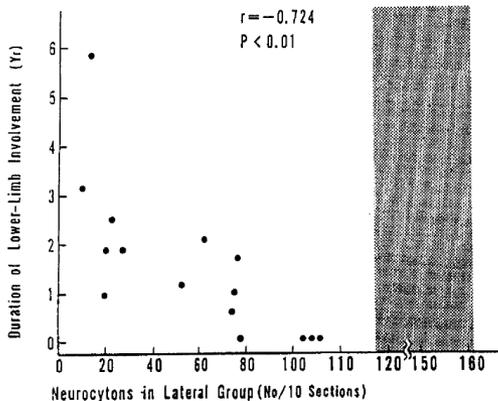
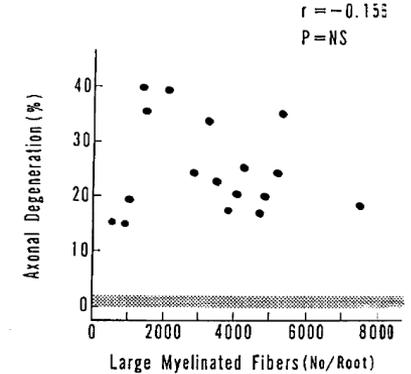
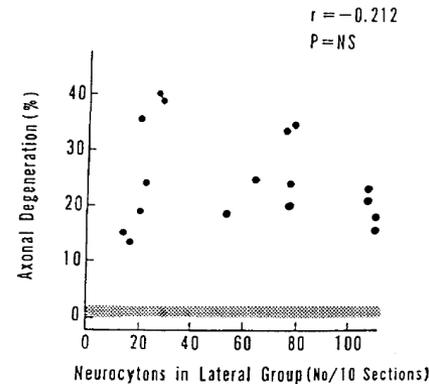
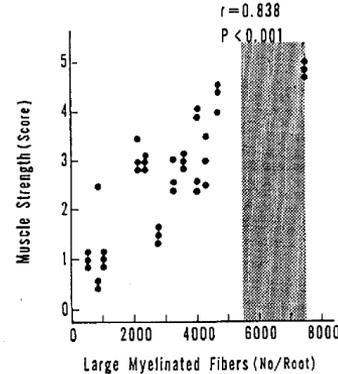
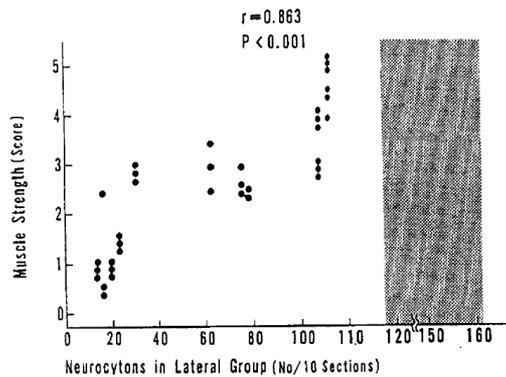
- ALSとSBMAは極めて似た病変選択性を示す。
- ALS、SBMAともに α 運動ニューロンが選択的障害。自律神経、 γ 運動ニューロン、脳神経、Onuf核、クラーク柱は保存される。

(大学院時代) 運動ニューロン疾患(ALS, SBMA)の病理学的研究3部作(3)

Degenerating compartment and functioning compartment of motor neurons in ALS: Possible process of motor neuron loss

Gen Sobue, MD; Ko Sahashi, MD; Akira Takahashi, MD; Yukihiro Matsuoka, MD;
Tatsuo Muroga, MD; and Itsuro Sobue, MD

Neurology. 1983; 33(5): 654-657

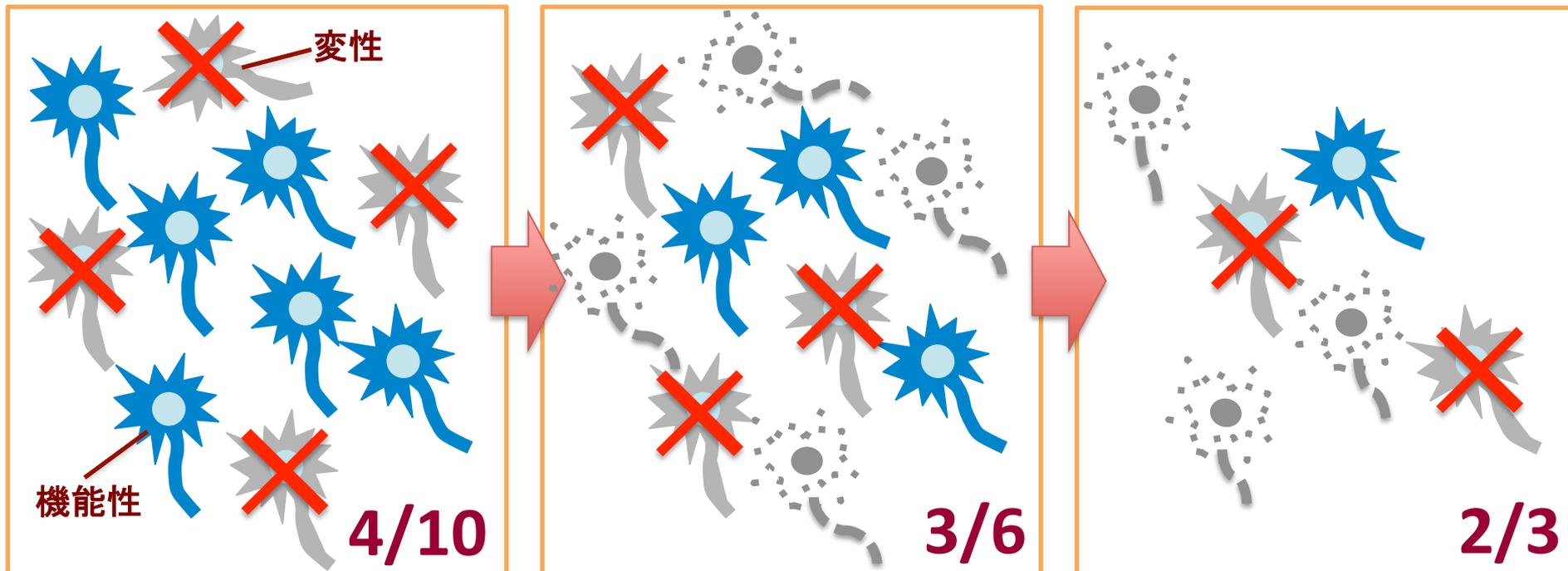


- 症状は残存運動ニューロン数と相関するが、
- 活動性の神経変性は一定の頻度で出現し



- 終末に至るまで停止しない

ALSの運動ニューロン変性・脱落



時間軸(経過、年)

Neurology 1983;33:654-7

- ALSの運動ニューロンの変性・脱落は、ある一定の割合でコンスタントに、ランダムに出現し、終末に至るまで停止しない。
- 残存ニューロンは機能し、症状と平行である。
- 「散る桜 残る桜も 散る桜」
- 「がんと似ている」

「がんと同じ」

病理学的研究の支え

橋詰良夫先生(前愛知医大加齢研教授)
当時は名市大病理学教室におられた



橋詰先生ご自身が集められた病理標本を
研究に自由に使うことを許していただいた

(大学院時代) ギランバレー症候群／実験的アレルギー性神経炎
末梢神経障害(ニューロパチー)の研究もやっていた

ALTERATIONS OF LIPID AND PROTEIN COMPOSITION IN MYELIN
OF ACUTE EXPERIMENTAL ALLERGIC NEURITIS

GEN SOBUE and KINYA KOIZUMI

Journal of the Neurological Sciences. 1980; 40(2-3): 229-239

THE ROLE OF MACROPHAGES IN DEMYELINATION IN
EXPERIMENTAL ALLERGIC NEURITIS

G. SOBUE¹, S. YAMATO², M. HIRAYAMA¹, Y. MATSUOKA¹, H. UEMATSU² and I. SOBUE¹

Journal of the Neurological Sciences. 1982; 56(1): 75-87

Sensory Ataxia

A Residual Disability of Guillain-Barré Syndrome

Gen Sobue, MD; Yasuhiro Senda, MD; Yukihiro Matsuoka, MD; Itsuro Sobue, MD

Arch Neurol. 1983; 40(2): 86-89

大学院時代のテーマ(運動ニューロン疾患(ALS, SBMA)と
末梢神経障害(ニューロパチー))が今日までのテーマになっている

ペンシルベニア大学留学時代



Penn大 Wistar研究所



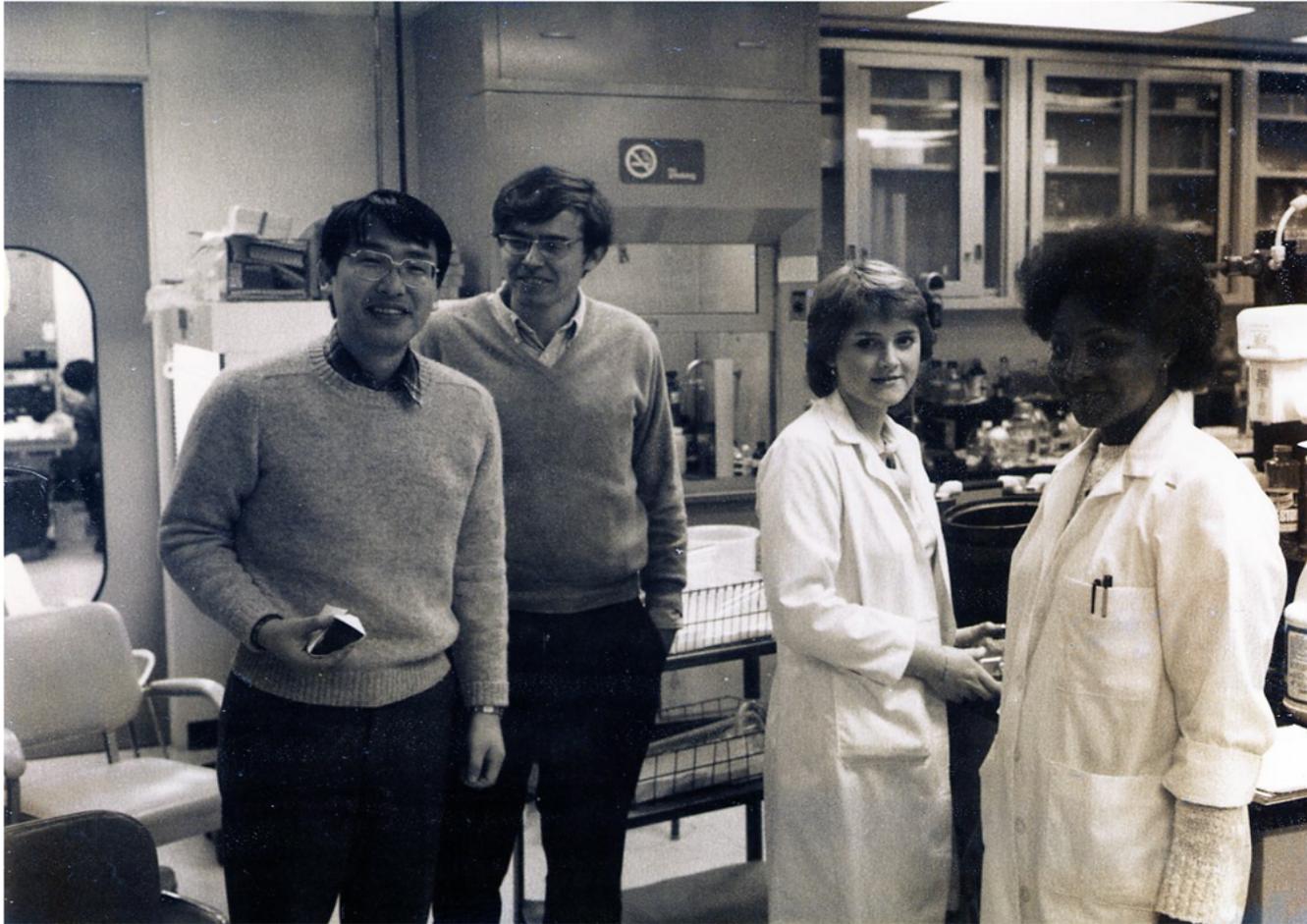
Penn大 医学部

1981 - 1984年

神経変性疾患の研究を求めて米国留学を考えたが、
ただ当時は米国でもほとんど神経変性研究のラボはなかった

→ Schwann細胞の研究を行った

ペンシルベニア大学留学時代



1983年

Penn大の研究室にて。Dr. Pleasureとともに。

ペンシルベニア大学留学時代



1984年

Wistar研究所の仲間と

ペンシルベニア大学 留学時代の論文の1つ

Reprint Series
6 April 1984, Volume 224, pp. 72-74

SCIENCE

Schwann Cell Galactocerebroside Induced by Derivatives of Adenosine 3',5'-Monophosphate

Gen Sobue and David Pleasure

Abstract. Indirect immunofluorescence was used to show the presence of galactocerebroside (galC), a lipid found in myelin, on the surface of about half of the Schwann cells isolated from neonatal rat sciatic nerves and cultured for 1 day without neurons. By day 4 in vitro, the Schwann cells had all lost their surface galC. Three days after beginning treatment with 10^{-3} molar 8-bromo-adenosine 3',5'-monophosphate (8-bromo cyclic AMP) or N^6,O^2' -dibutyryl adenosine 3',5'-monophosphate (dibutyryl cyclic AMP), galC reappeared on the Schwann cells, and 2 days later 48 percent of the cultured Schwann cells showed surface galC. Tritium from tritiated D-galactose was incorporated into galC by the 8-bromo cyclic AMP- and dibutyryl cyclic AMP-treated cultures at a rate 15 times the control rate.

Schwann細胞のphenotypeのregulatorに関する研究、
色々なミエリン蛋白について広範な追試。
低分子のdrugを使ってphenotypeを大きく変えることができる。

神経変性疾患の克服

→ Disease-modifying therapyの開発

メインストラテジー

患者の病態を表現する(動物)モデルを作って、
病態を担う分子(標的分子)を探索・同定し、
神経変性を止める治療法(Disease-modifying therapy)を開発する

神経変性疾患

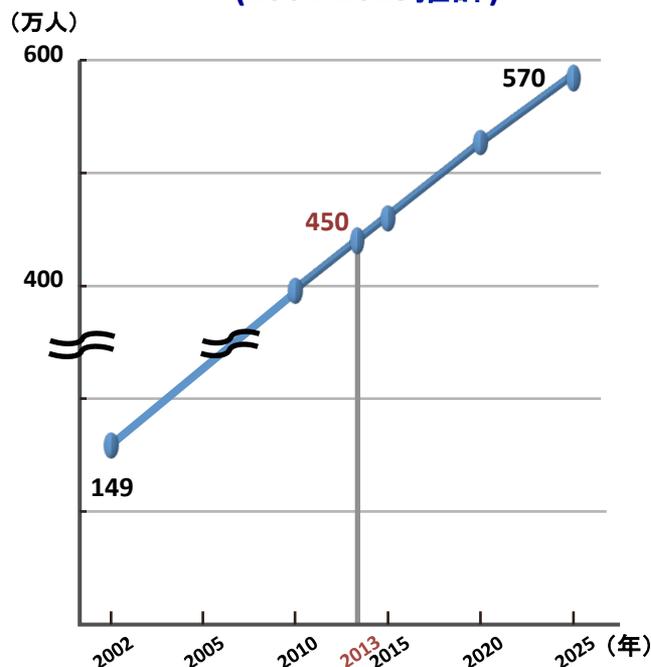
- アルツハイマー病
- パーキンソン病
- 筋萎縮性側索硬化症 (ALS)
- 脊髄小脳変性症 (SCD)
- ハンチントン病
- 球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) など、多種類

全体で500万人を超える患者

神経変性疾患は人口の高齢化とともに増加している

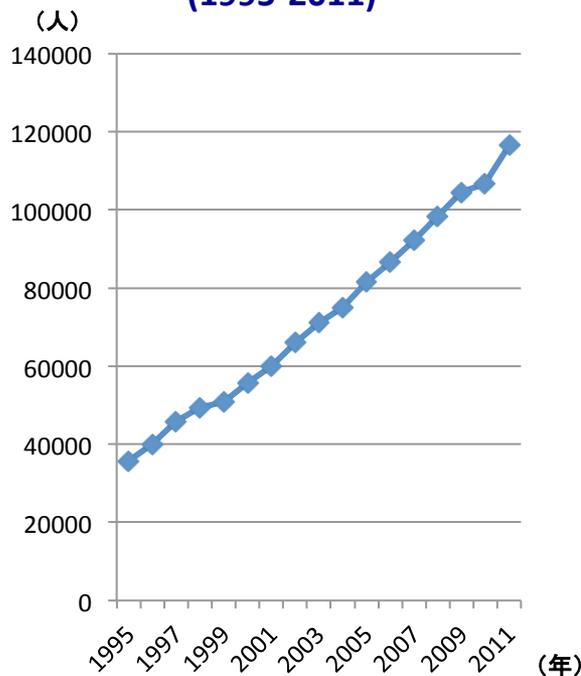
高齢者人口(65歳以上): 1990年 12.0%, 2010年 23.0%

認知症 (2002-2025推計)



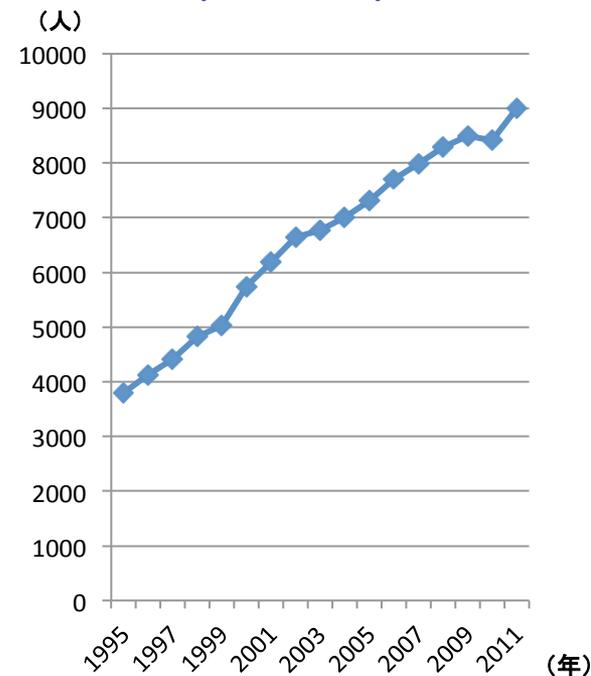
参考: 厚生労働省 2012年8月24日 報道発表資料

パーキンソン病 (1995-2011)



参考: 難病情報センター
特定疾患医療受給者証交付数

ALS (1995-2011)

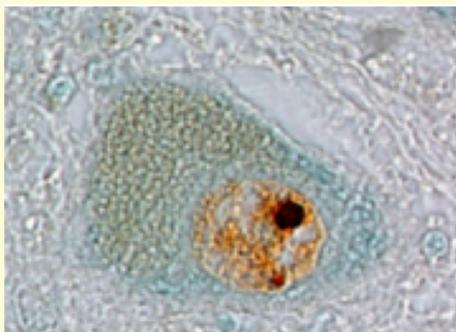


参考: 難病情報センター
特定疾患医療受給者証交付数

この10-15年で各疾患の患者数はほぼ倍になっている

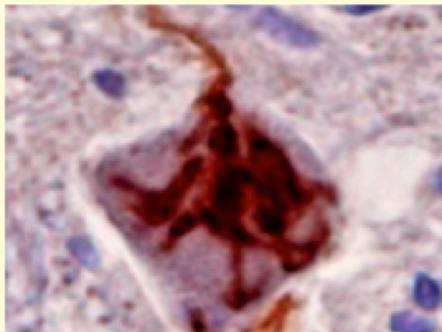
特徴1: 変異蛋白質の凝集・封入体の形成

SBMA



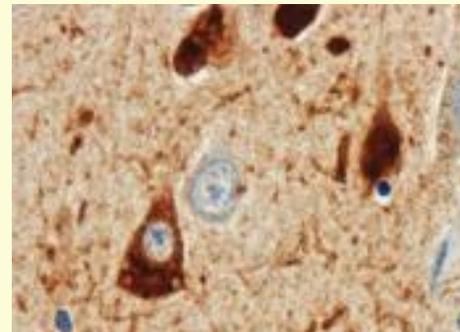
核内封入体
(ARなど)

ALS



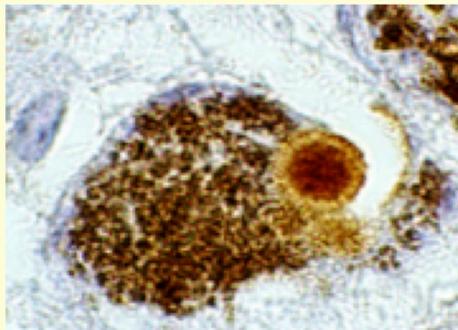
ユビキチン化封入体
(TDP-43など)

アルツハイマー病



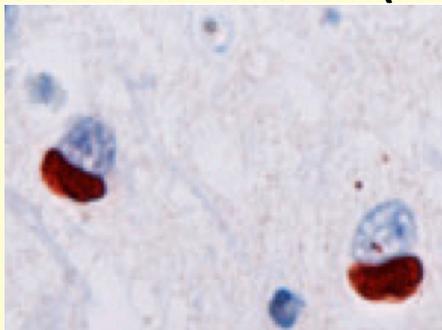
神経原線維変化
(tauなど)

パーキンソン病



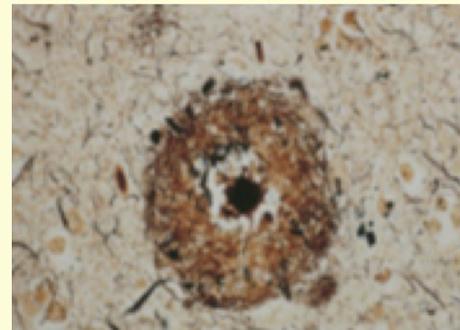
レビー小体
(α -syn)

前頭側頭葉変性症 (FTLD)



核外封入体
(tau)

アルツハイマー病



老人斑
(A β)

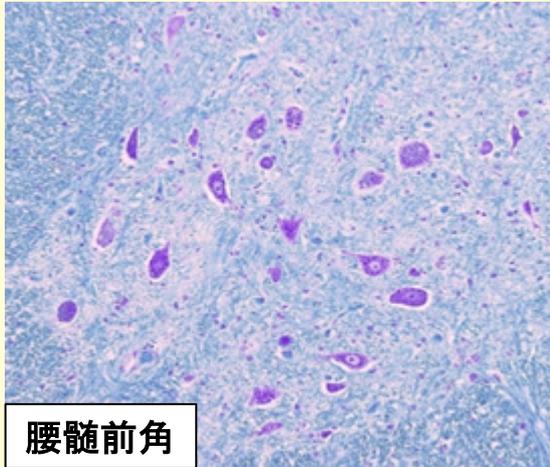
➡ 変性部位に凝集・蓄積がみられる

↔ 一部は構成蛋白質、変異が分かってきている

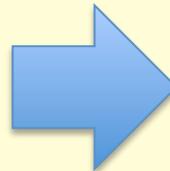
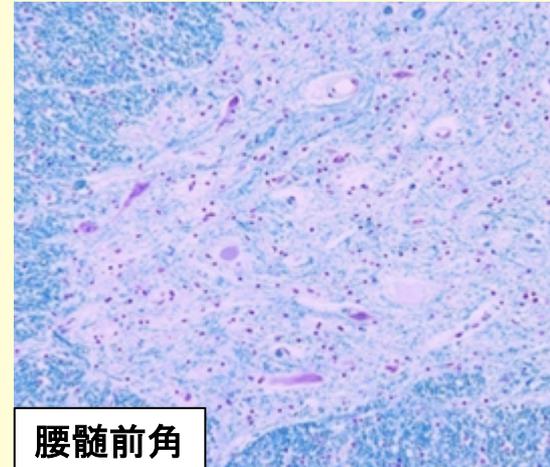
➡ 治療の分子標的になる

特徴2: 神経細胞の機能不全と脱落

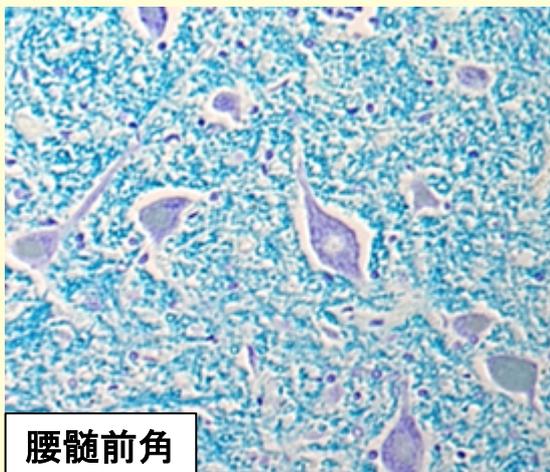
正常



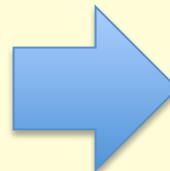
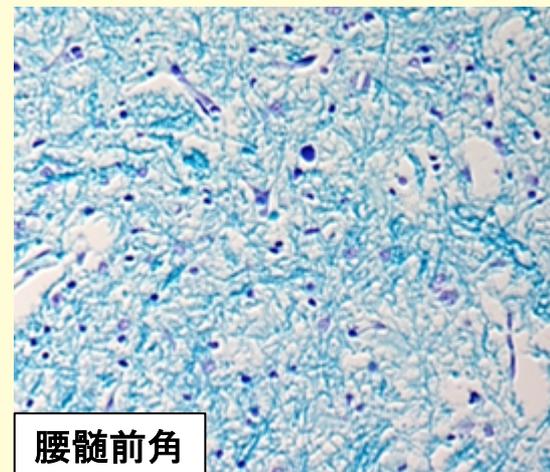
ALS



正常



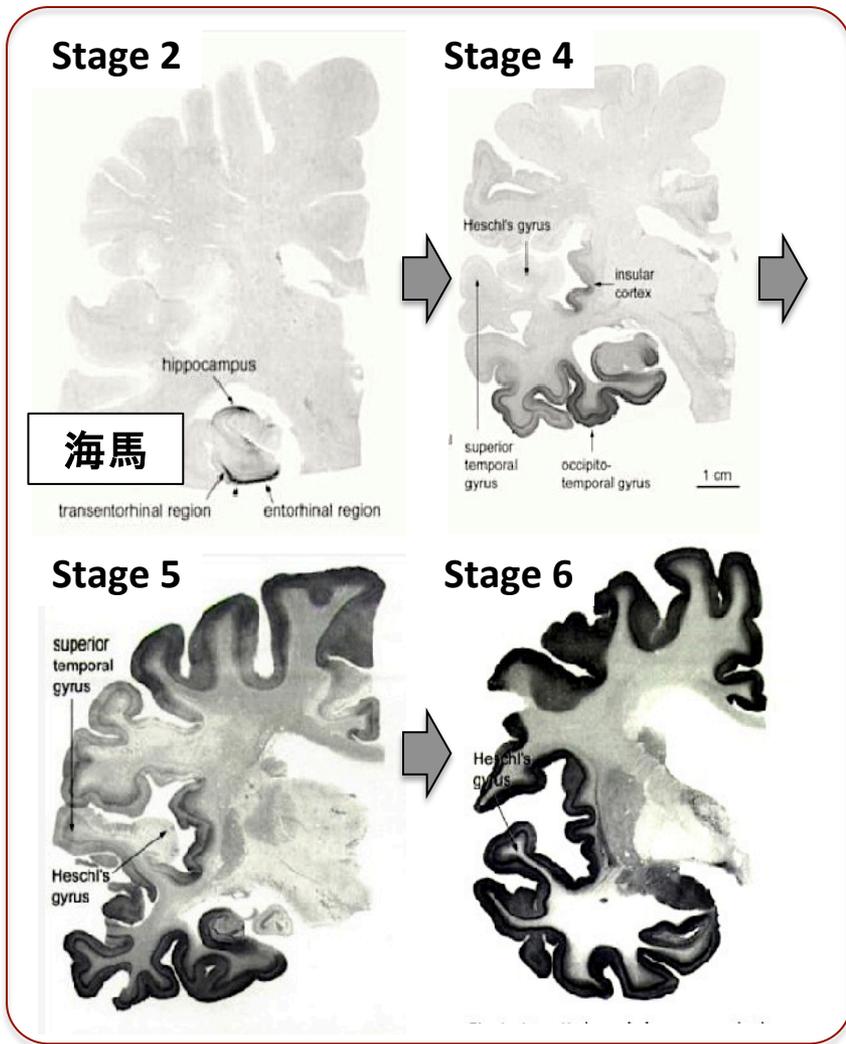
SBMA



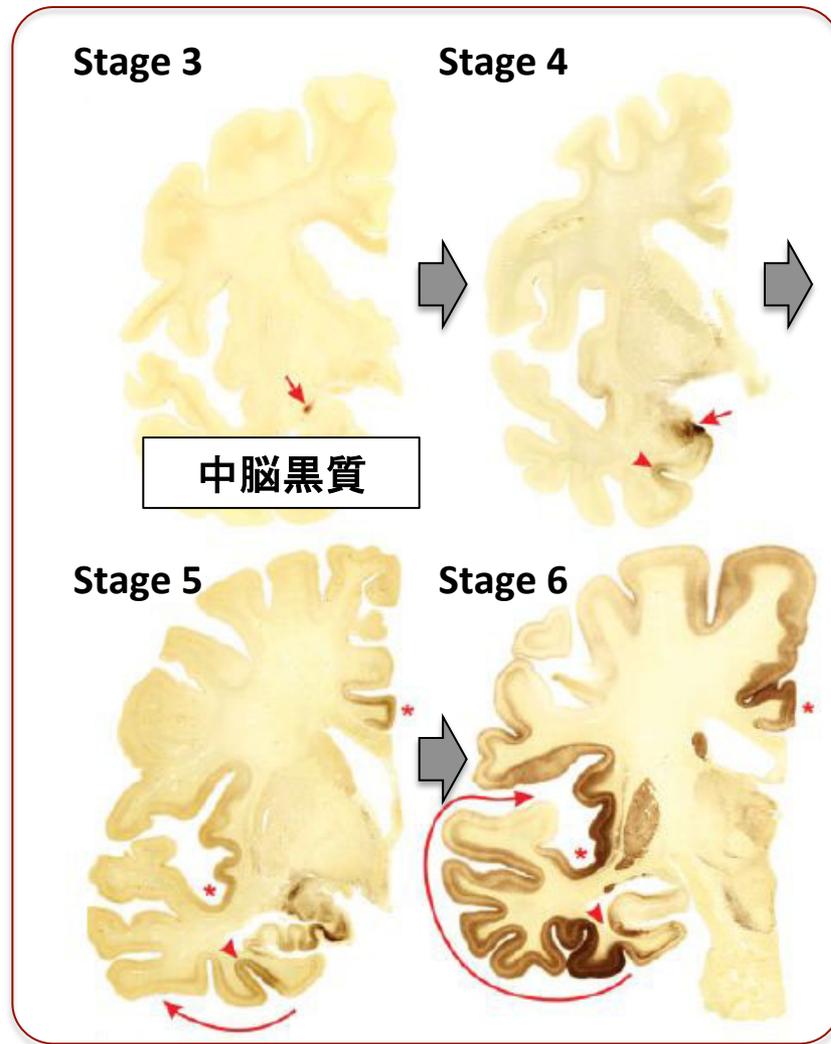
特徴3: 発症すると進行が止まらない

アルツハイマー病病変の進行様式

パーキンソン病病変の進行様式



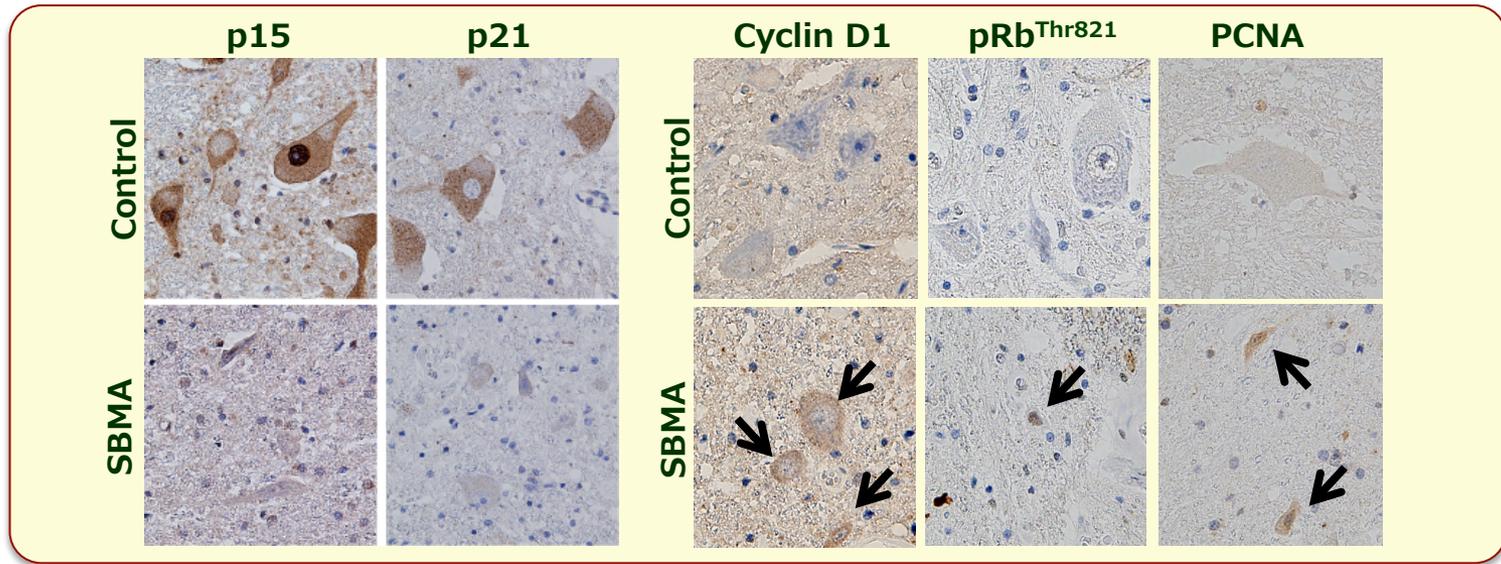
Tau蛋白 (Aβ蛋白)



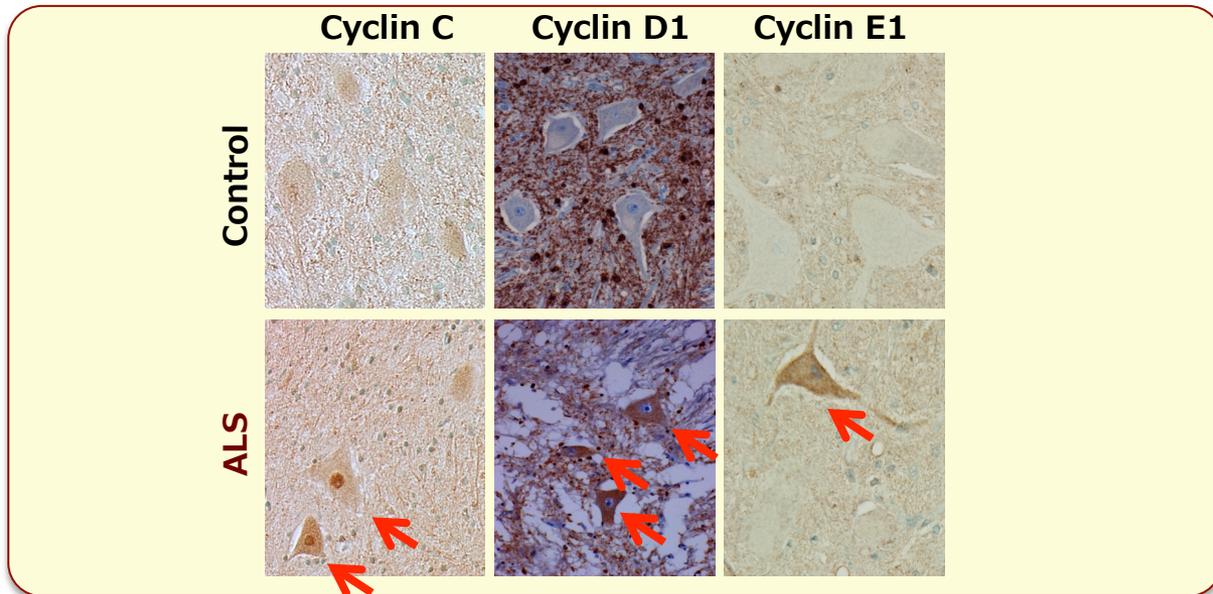
α-synuclein蛋白

特徴4: 神経変性では細胞周期を回転させる方向に動いている

SBMA/control



ALS/control



神経変性疾患の病態理解の進展

(アルツハイマー病、パーキンソン病、ALS、脊髄小脳変性症、ポリグルタミン病など)

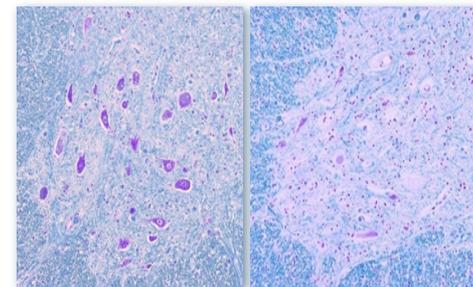
初期



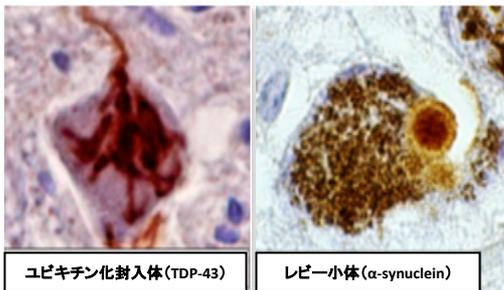
機能障害



神経細胞の脱落
正常 ALS



異常蛋白質の蓄積
ALS パーキンソン病



細胞死



神経機能
障害

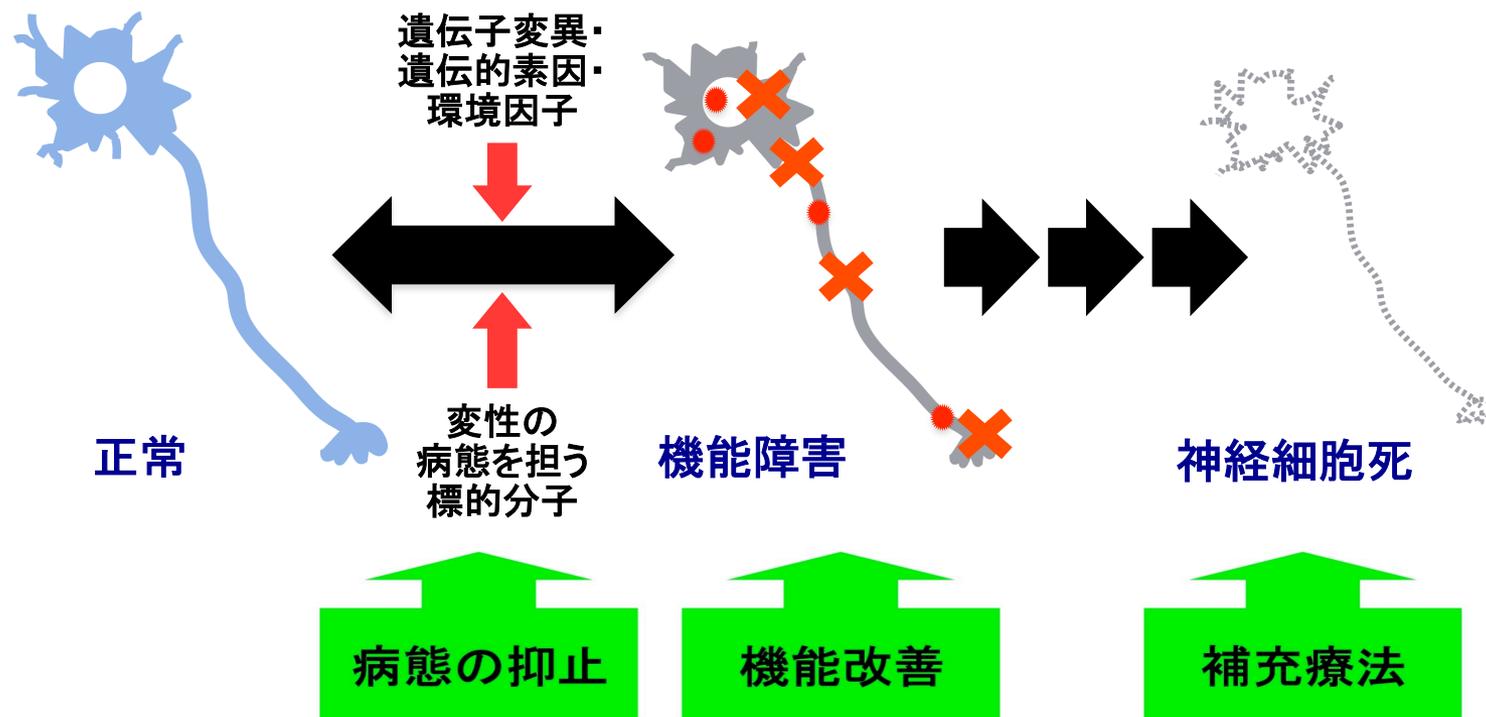
無症候期

発症

➡ 初期の異常蛋白質の蓄積・凝集が治療の大きな標的となる

神経変性疾患に対するdisease-modifying therapy(分子標的治療)とは

病態(変性)を担う分子を明らかにし、それを介して変性を抑止する治療

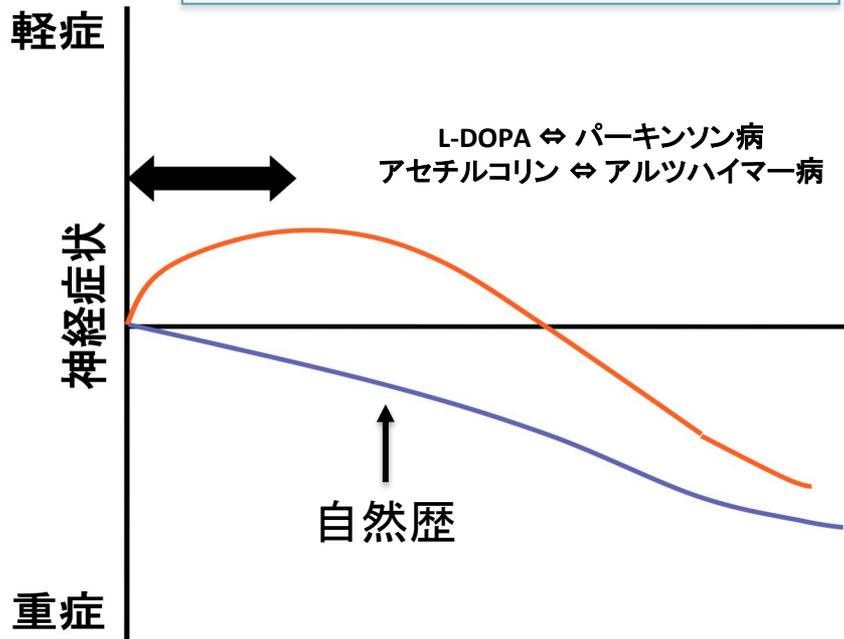


Parkinson病に対するL-dopaやAlzheimer病に対するアセチルコリン療法など、これまでの治療法は補充のみであった。

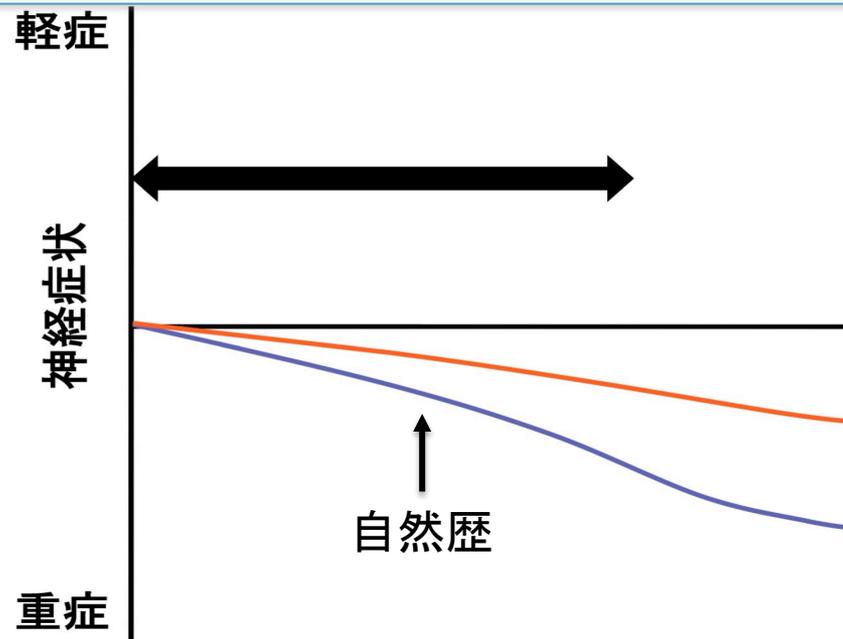
→ Disease-modifying therapy(分子標的治療)への期待が高まっている。しかしまだヒトで成功した例はない。

病態抑止治療(分子標的治療)と対症療法(補充療法)

対症療法／補充療法
Symptom relief



病態抑止治療／分子標的治療
Disease-modifying therapy



対象療法／補充療法に比べ、病態抑止治療の臨床試験のデザインが重要



まだヒトでの確実な成功例はない

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の disease-modifying therapy の開発

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) 世界初の報告は名古屋から



川原 汎(1858-1918)
愛知医学校一等教諭

原 著 及 實 験

◎ 實驗一束 昨年十二月常會演說
醫學士 川 原 汎 述

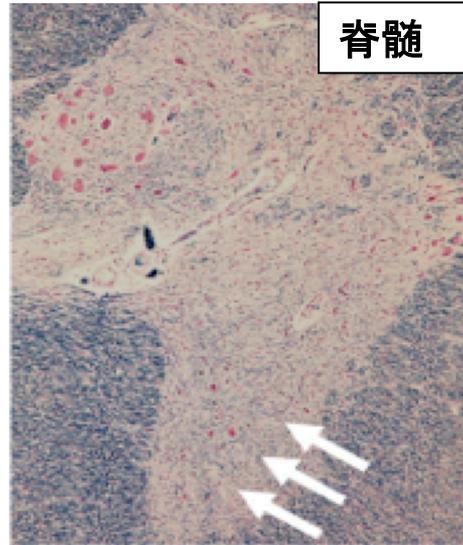
(其二) 進行性延髓麻痺ノ血族的發生ノ一例
 甲患者 尾州知多郡宮津村。新〇伊〇〇〇。四十四
 年ノ男兒。去今二歳前生命保險ノ診査ヲ受ケレニ。疾
 患アリトテ謝絶セラレ。爲ニ余ノ診ケ乞フ之ヲ檢査ス
 ルハ患者ハ低柱體トシテ述フ可キ事ナク。從來全健常
 ナルヲ感シタリ。見證ニ於テハ顔面下半部錫常ニ平澤
 ニシテ唯鼻唇溝ニ著明也。頰ニ於テモ皺襞ヲ呈シ。
 自動モ亦此部ニ存ス。又顔面諸部ニ纖維性變縮ヲ起ス
 患者ハ口唇ヲ以テ嗜。吹。等ヲ爲ス事完全ナラ
 ス。特ニ顯著ナル處凡ハ舌ニ有リ。即舌ハ少シク變小
 シ。表面ニ皺襞ヲ多數ニ認メ。絨毛纖維性變縮ヲ呈ス
 唇部ハ精密ニ注意カレハ稍不明ナルカ如キモ其シカ
 テモ軟口蓋及嚙下。發聲麻痺ナク。兩他機能ニ於テ
 モ微亦短ス可キ變化ナシ。

進行性延髓麻痺の血族的發生の1例
愛知医学雑誌 (1897)

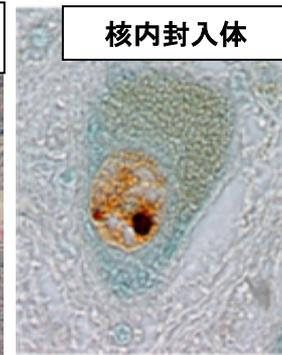
(高橋 昭ら)

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA)

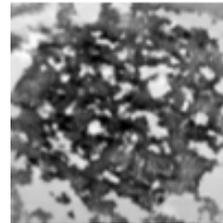
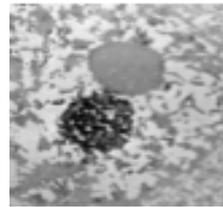
SBMA患者



脊髓



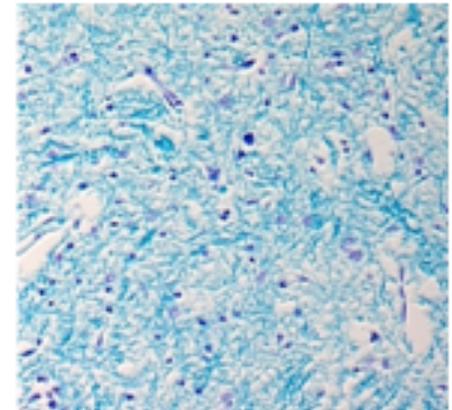
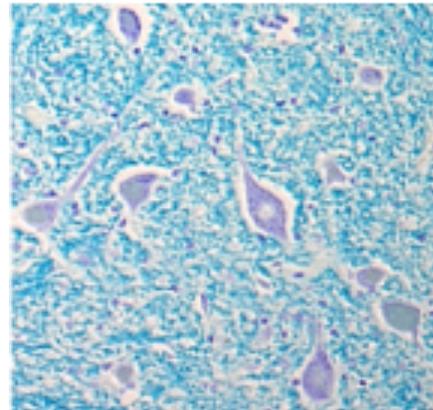
核内封入体



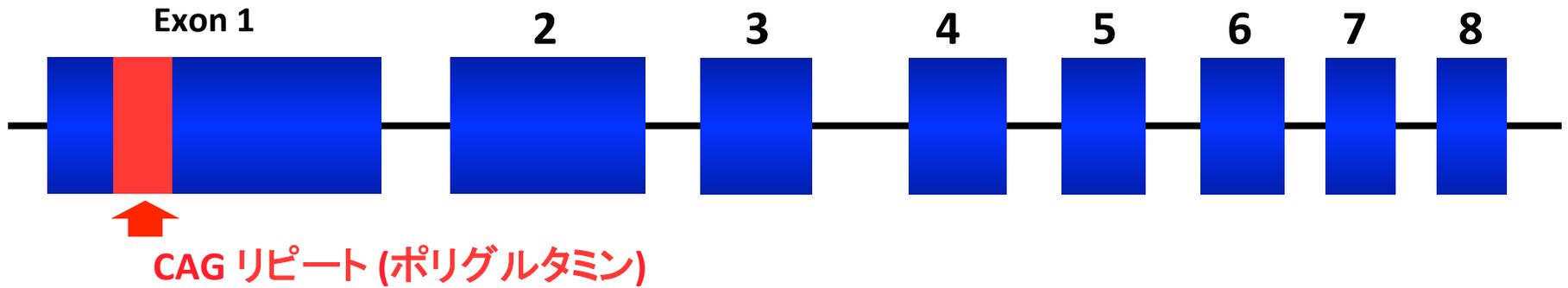
脊髓運動ニューロン

Control

SBMA

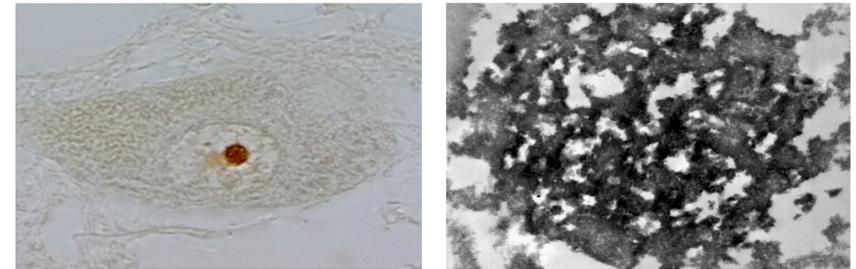


アンドロゲン受容体遺伝子

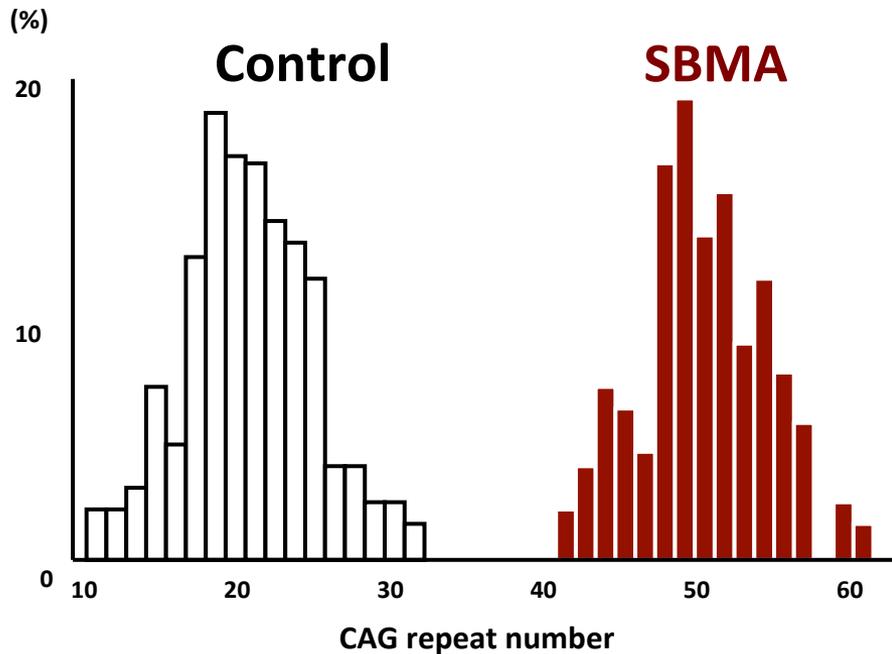
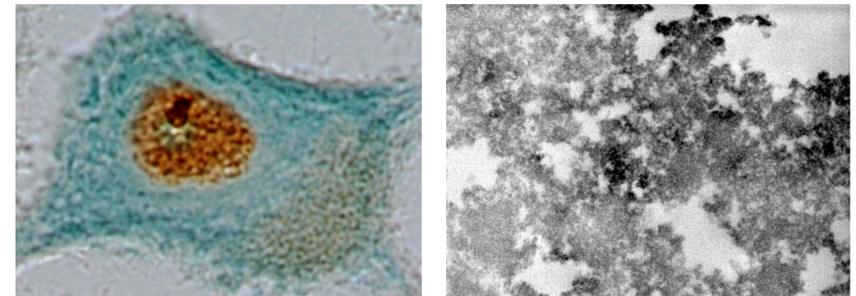


変異ARの核内凝集体 (IC2)

Nuclear inclusion body

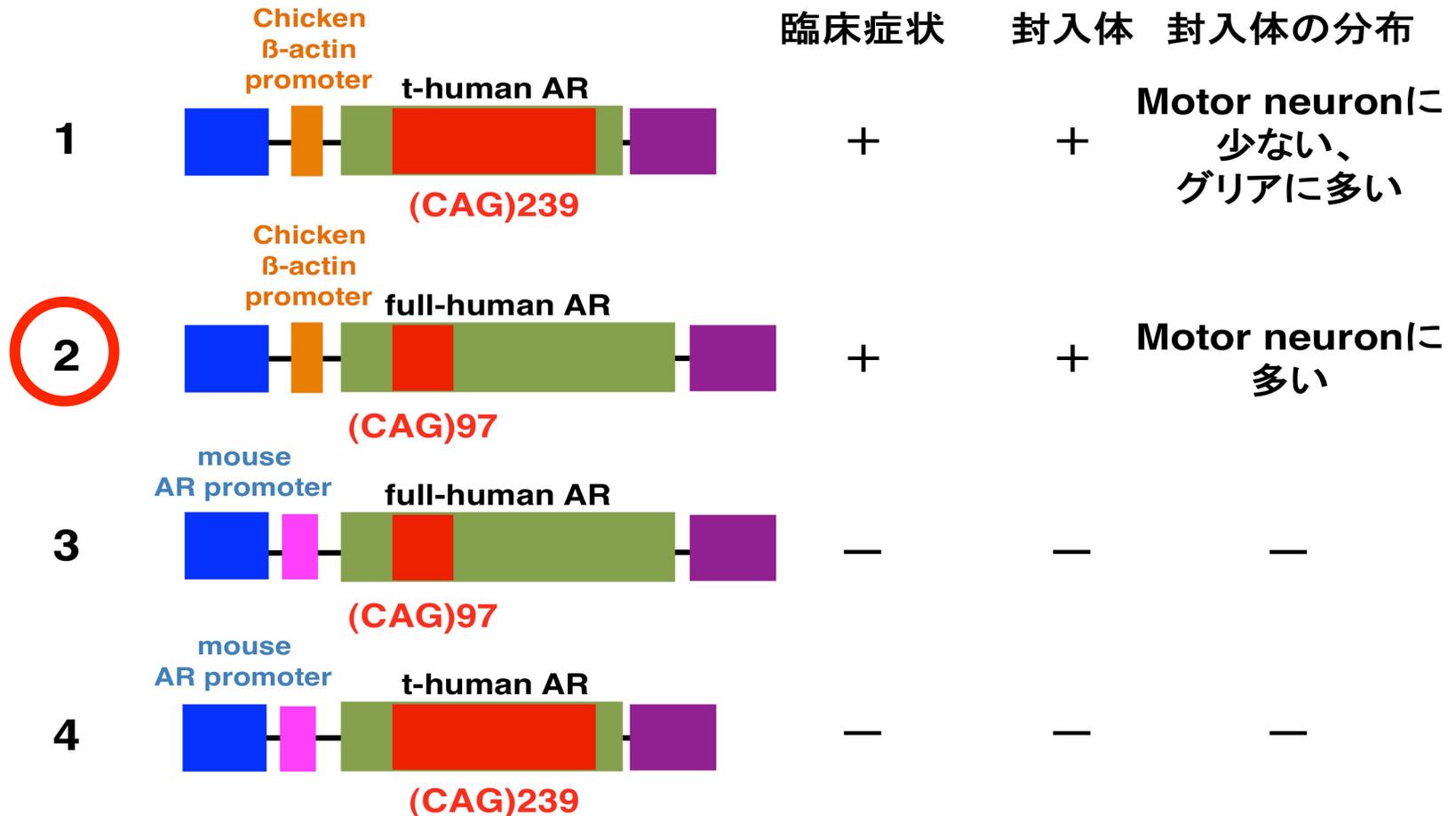


Diffuse nuclear staining



SBMAのトランスジェニックマウスモデルの開発

色々なモデルマウスを作成した。代表は以下4系統(トランスジーン)



我々のSBMAモデルは世界的に多くの研究室で利用されている。

AR. La Spada, D. Merry, K. Fischbeck, T. Dawson, M. Pennuto, C. Chang, WA.

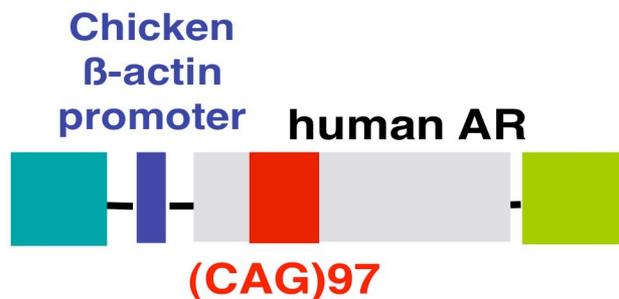
Horton, C. Jordan, AP. Lieberman, DA. Monks などの研究室で利用されている。

Hum Mol Genet. 10: 1039-48, 2001

Neuron. 35:843-54, 2002

SBMAのトランスジェニックマウスモデル

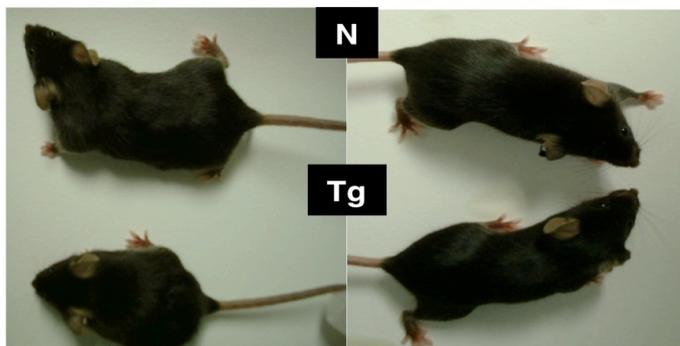
Transgeneの構造



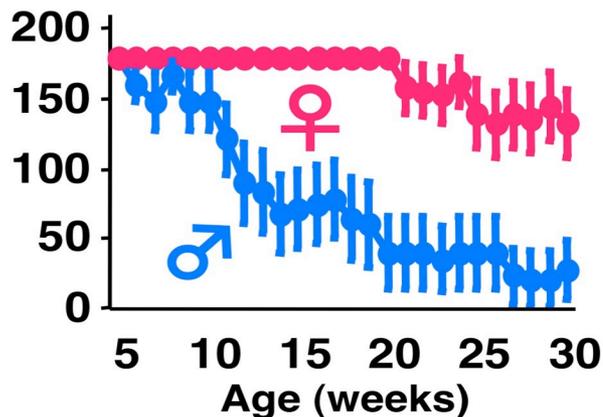
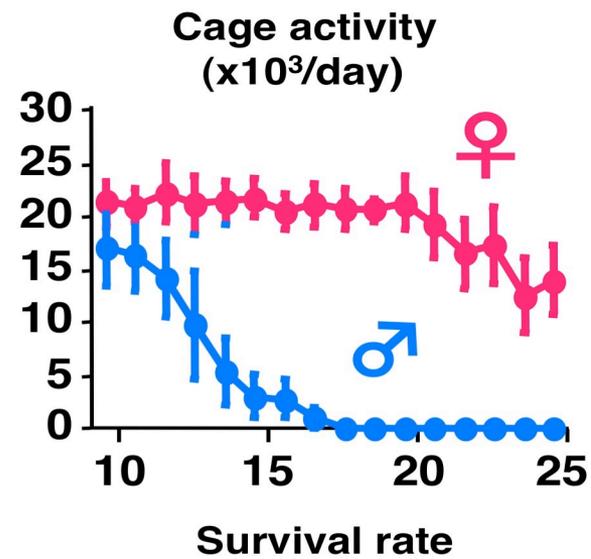
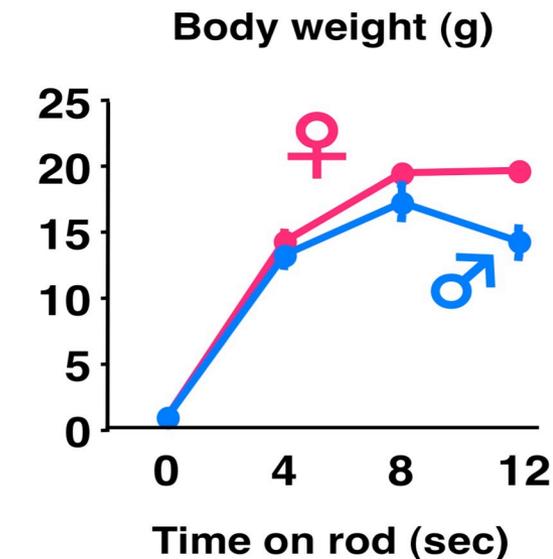
Body size (16weeks)

オス

メス



性別による表現型の違い



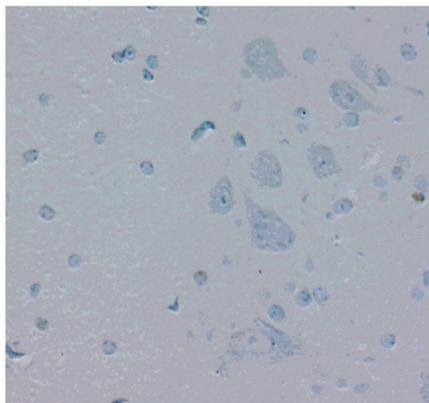
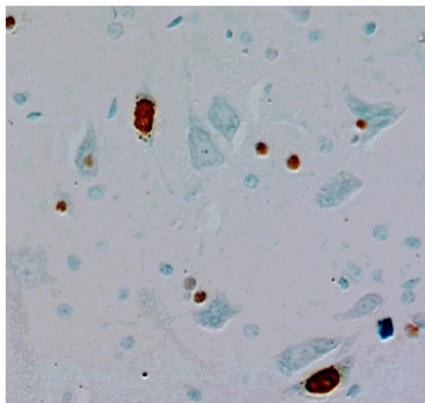
SBMAのトランスジェニックマウスモデル

性別による 病理所見の違い (1C2)

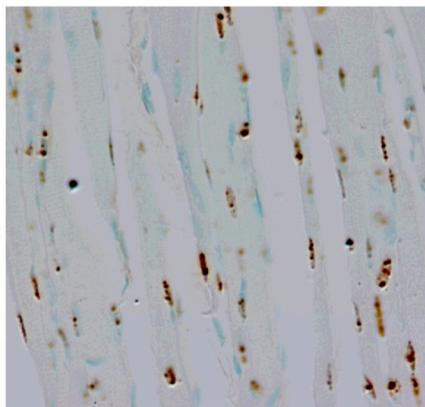
オス

メス

脊髄

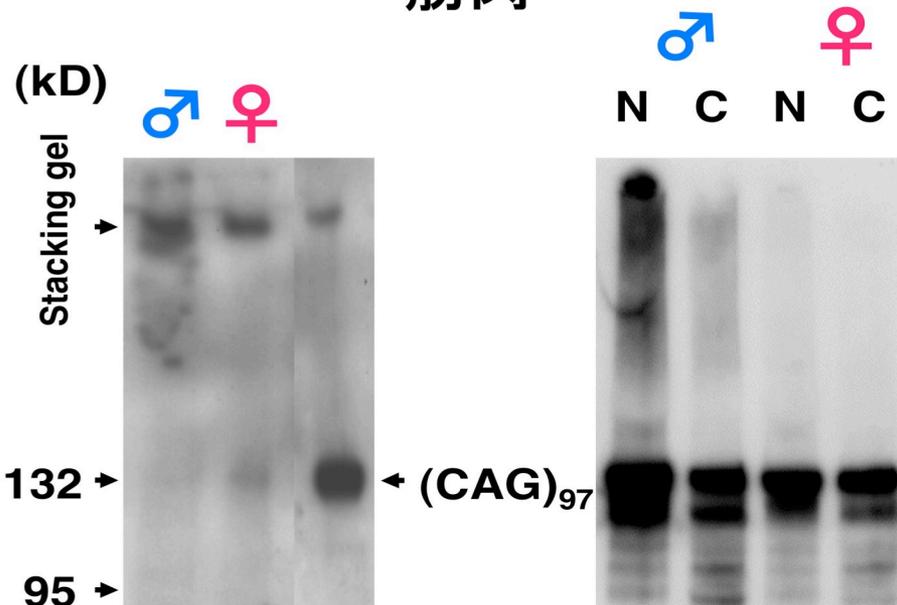


筋肉



Western blotting (Anti-AR)

筋肉



SBMAのトランスジェニックマウスモデル

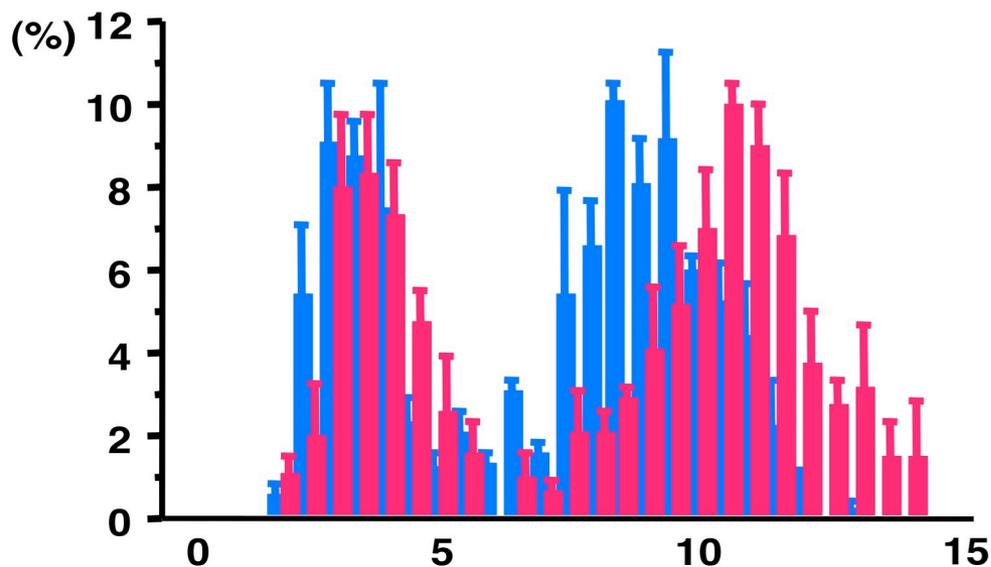
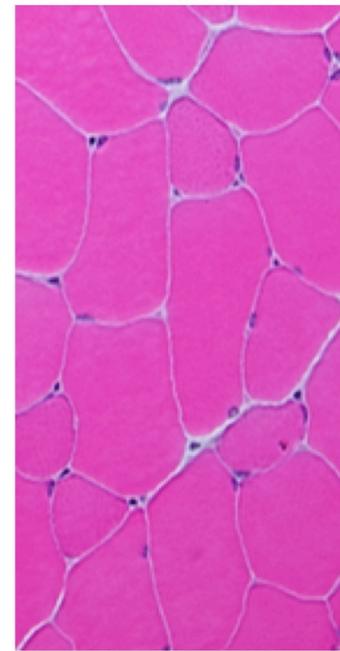
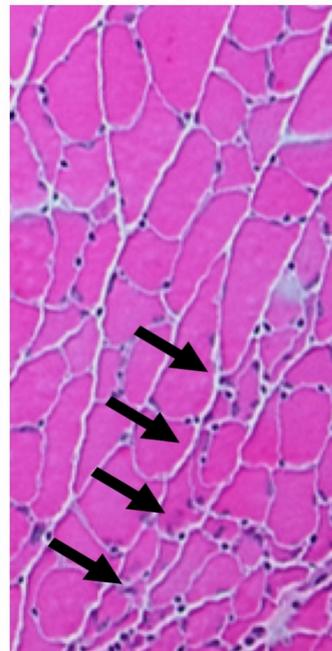
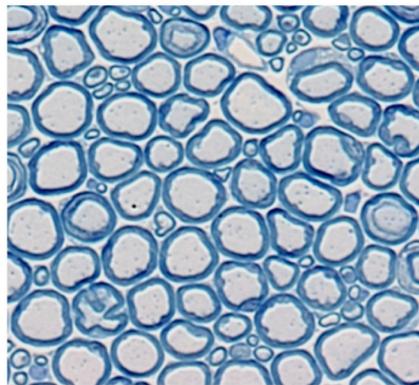
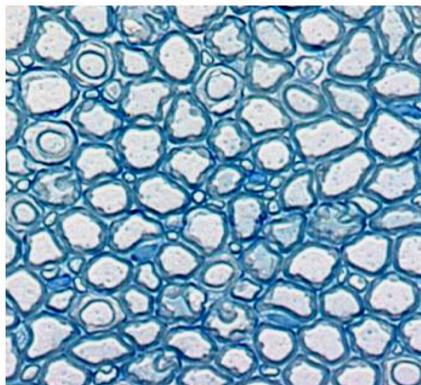
脊髄神経根

筋肉

オスTg (AR97Q) メスTg (AR97Q)

オス

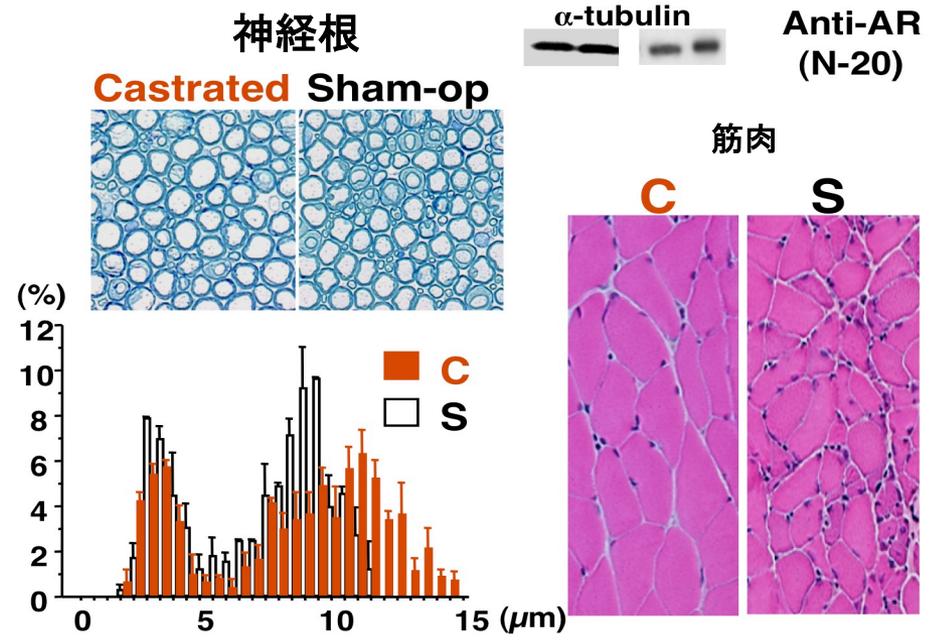
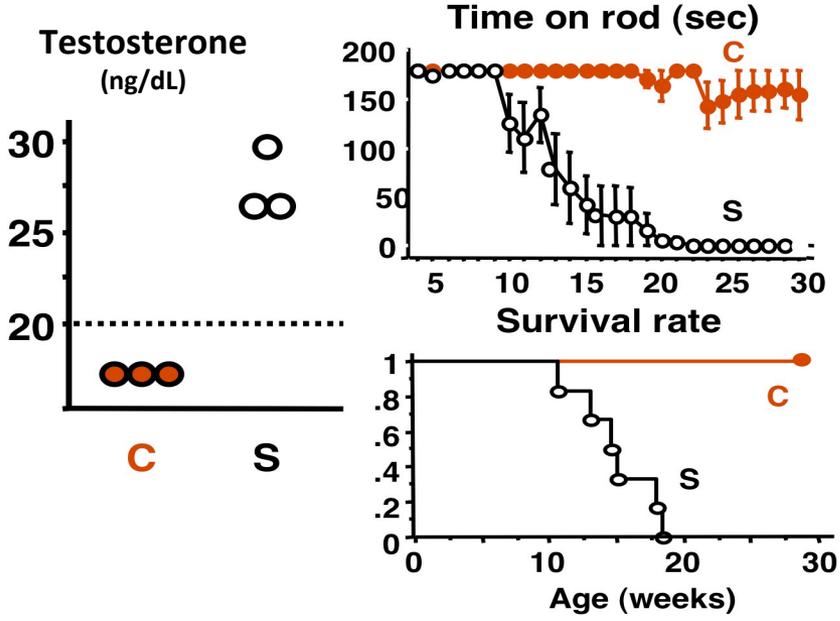
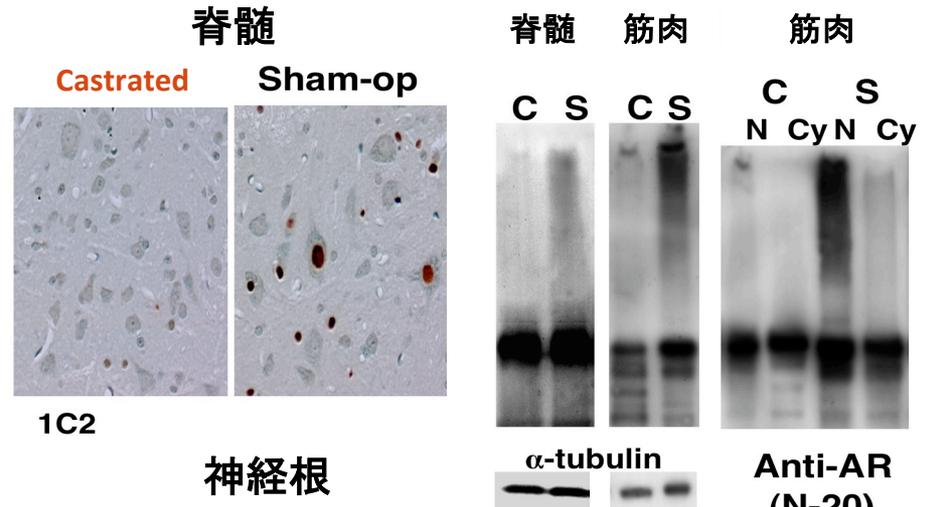
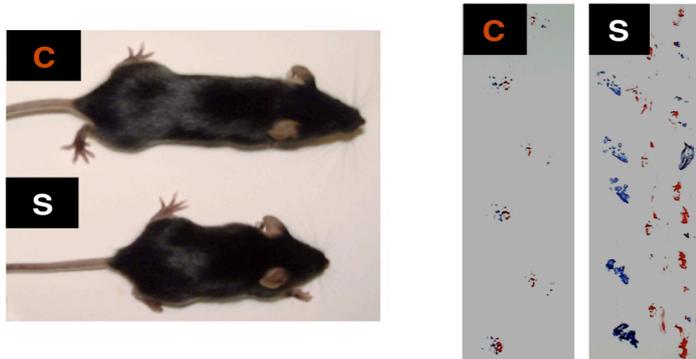
メス



脊髄運動ニューロンのサイズ
オス: $103.6 \pm 4.0 \mu\text{m}^2$
メス: $198.6 \pm 12.1 \mu\text{m}^2$

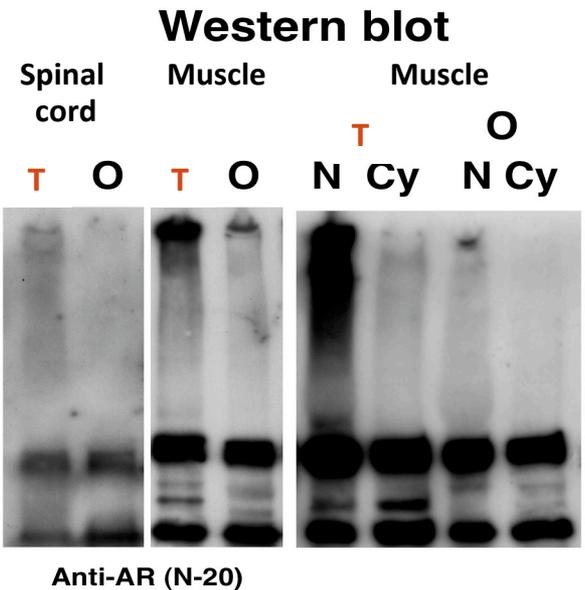
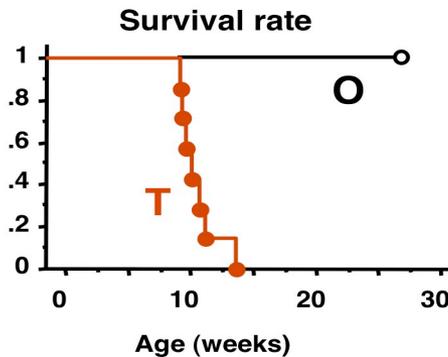
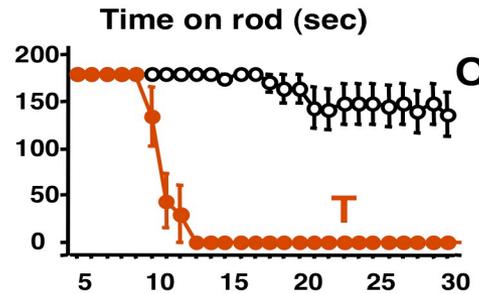
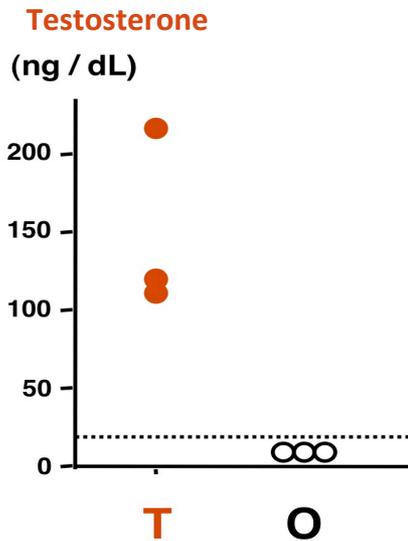
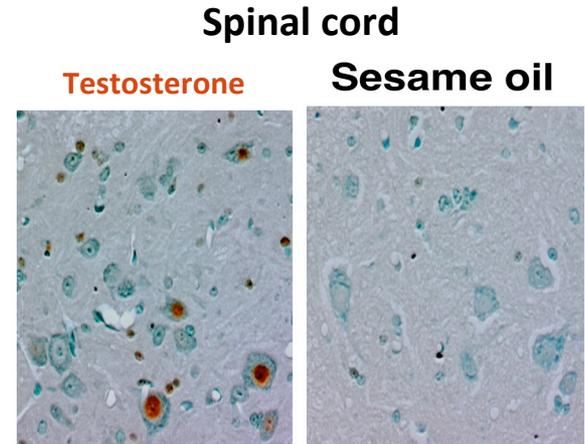
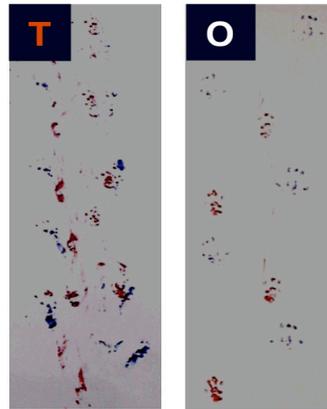
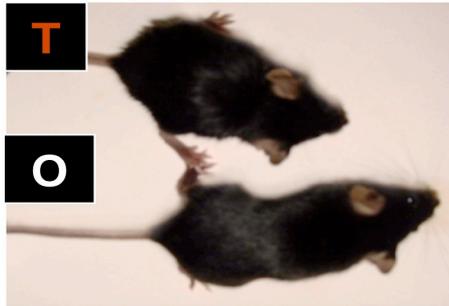
オスTgマウスの去勢(除睾術)

C: Castrated
S: Sham-operated

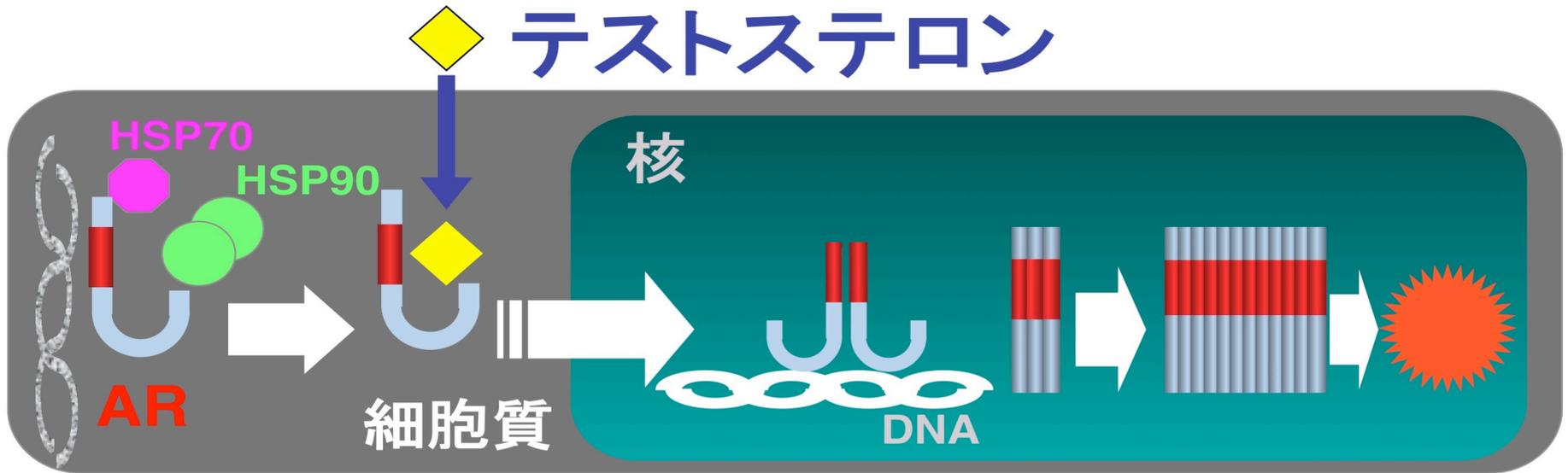


メスSBMAマウスへのテストステロン投与による効果

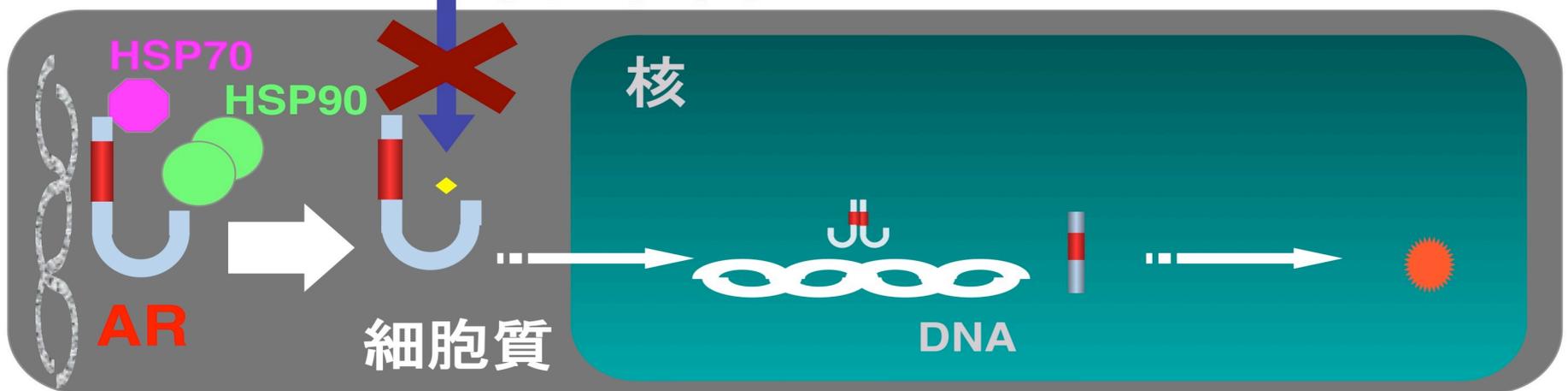
T: Testosterone
O: Sesame oil (control)



異常ARはテストステロン依存性に核内へ移行する

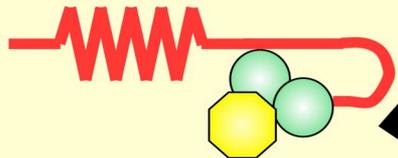


テストステロン **除睾術**



SBMAの病態のパラダイム

変異アンドロゲン受容体



テストステロン
依存性の核移行

細胞質

核

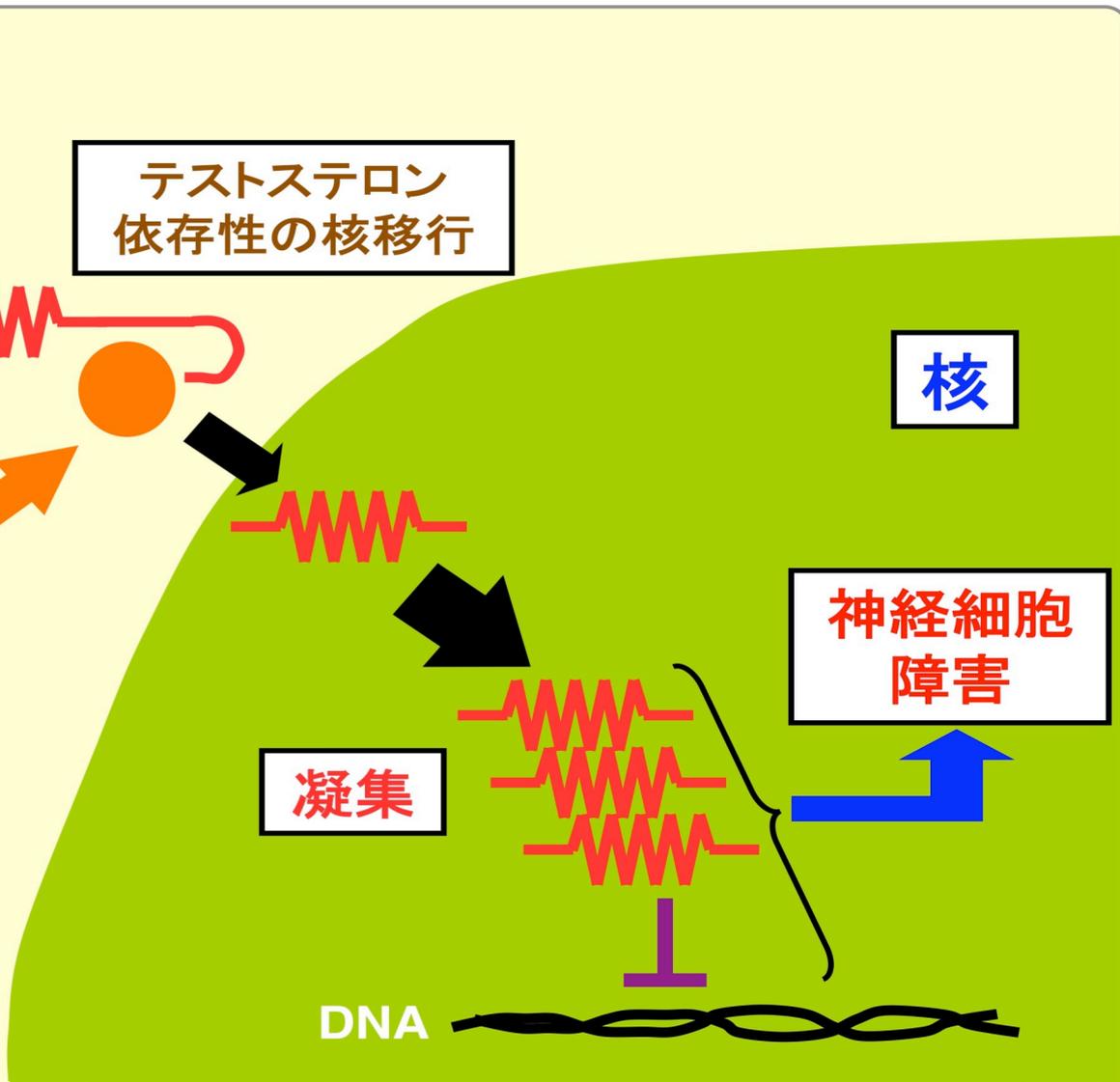
テストステロン

凝集

神経細胞
障害

DNA

Neuron. 35: 843-54, 2002
Nat Med. 9: 768-73, 2003
Nat Med. 11: 1088-95, 2005
Nat Med. 13: 348-53, 2007



核内アンドロゲン受容体蛋白質蓄積を抑制



強い治療標的になる

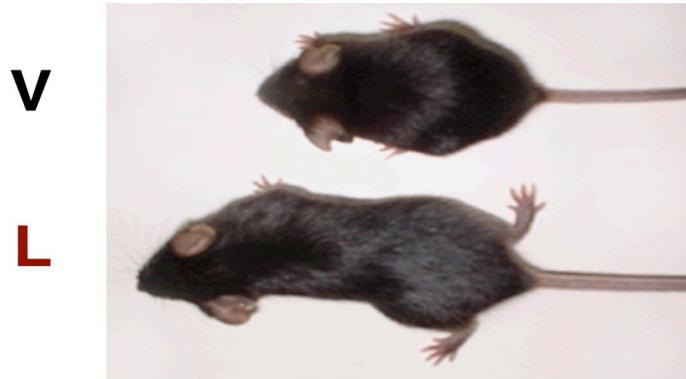
テストステロン依存性の核移行を抑制する治療の可能性

抗アンドロゲン療法

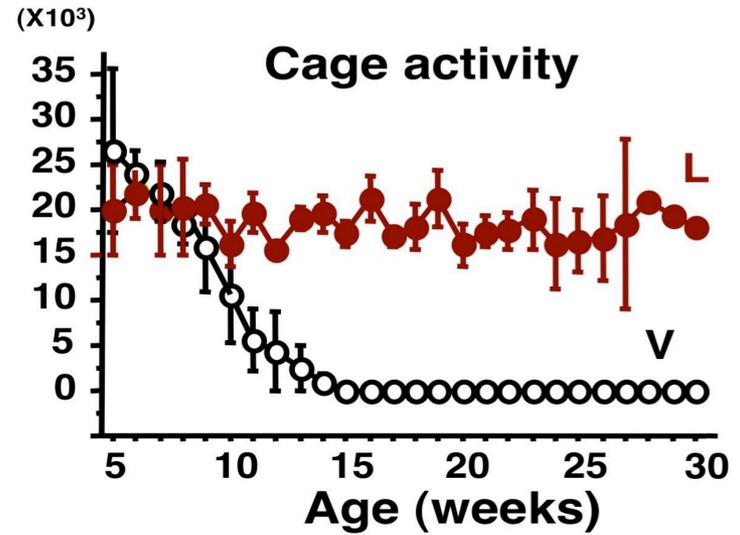
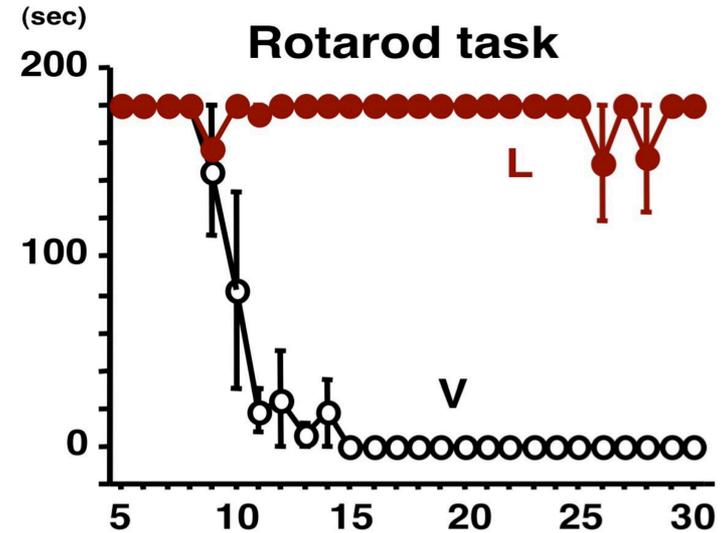
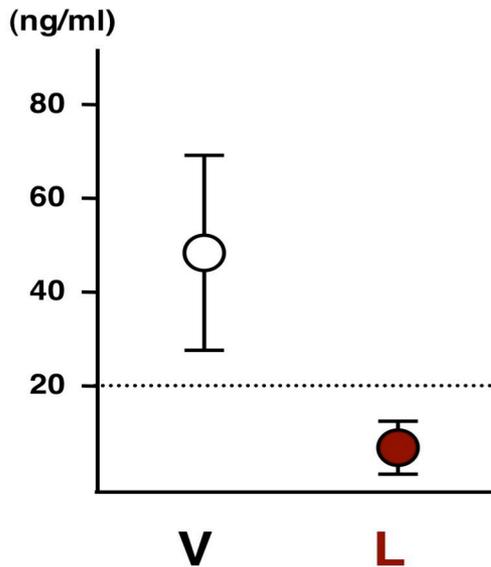
LHRH analog

Leuprorelin

オスSBMAマウスに対するleuprorelinによる臨床効果



血清テストステロン

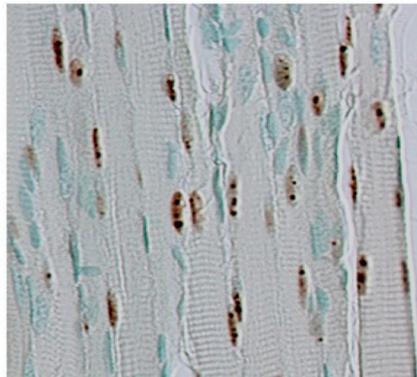
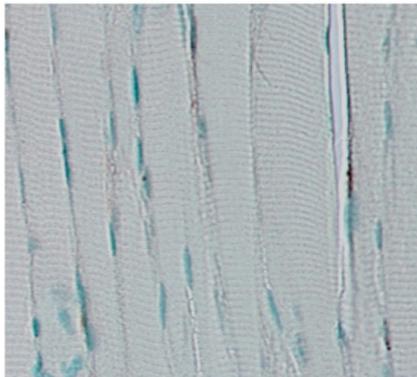
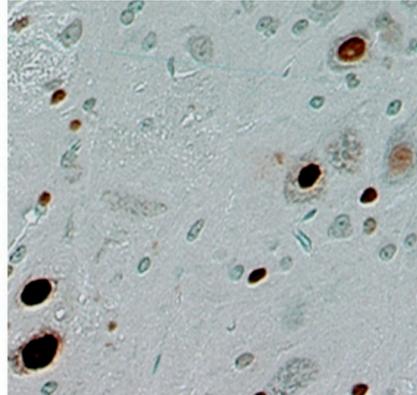
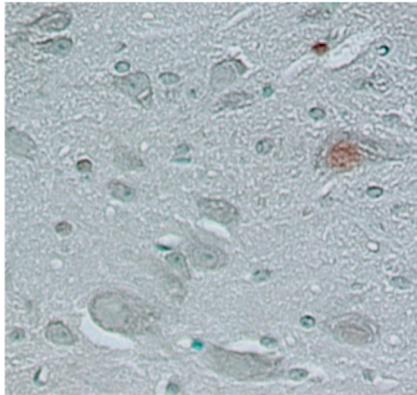


オスTgマウスへのleuprorelinの効果

病理所見

Leuprorelin

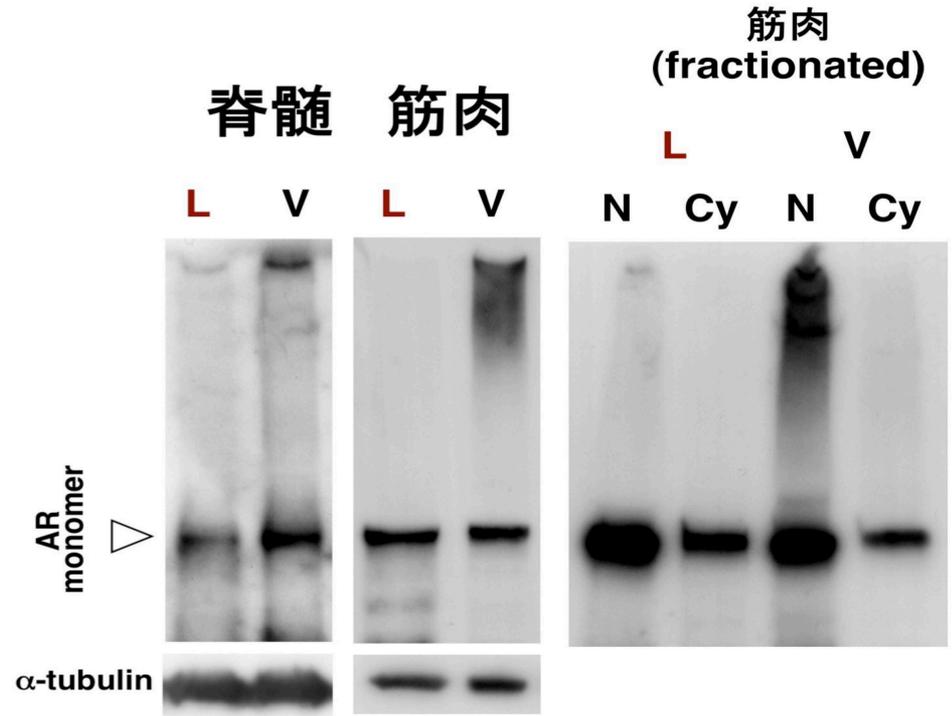
Vehicle



脊髄

筋肉

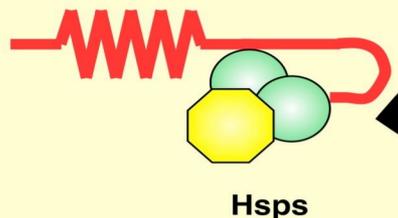
Western blotting (anti-AR, N-20)



球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の病態に基づく治療

抗アンドロゲン薬による変異ARの核内移行阻害

変異アンドロゲン受容体



Hsps

テストステロン
依存性の核移行

細胞質

核

テストステロン

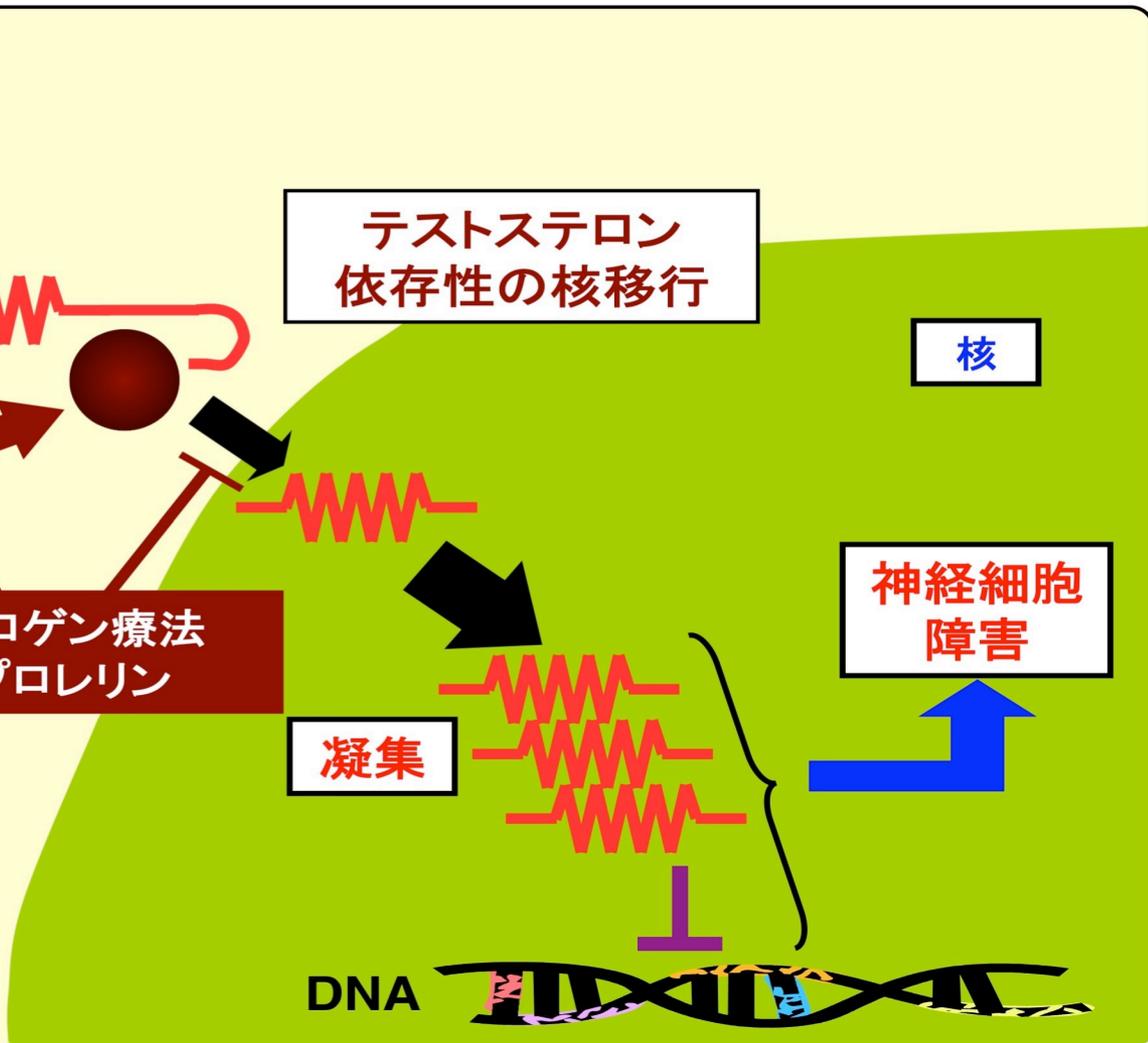
抗アンドロゲン療法
リュープロレリン

凝集

神経細胞
障害

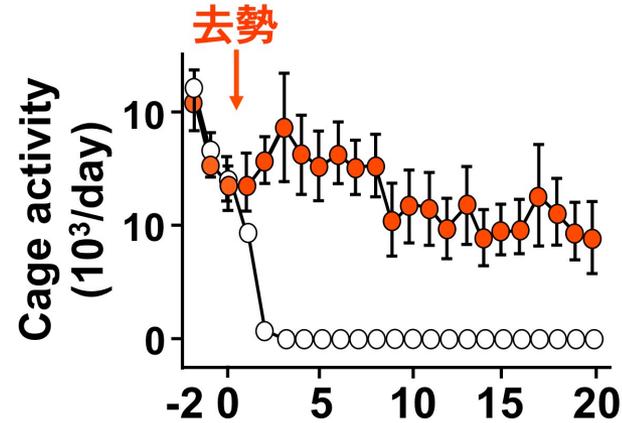
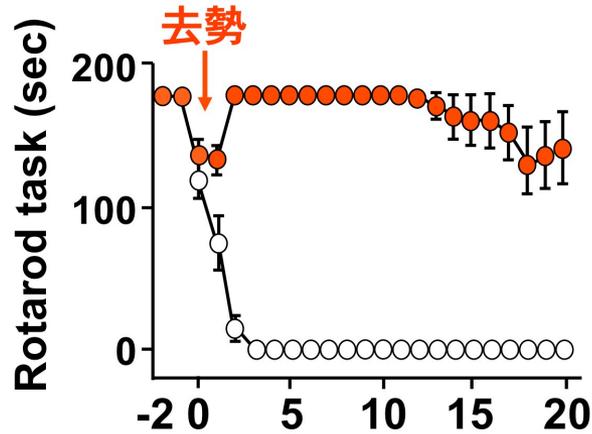
DNA

Neuron. 35: 843-54, 2002
Nat Med. 9: 768-73, 2003
Nat Med. 11: 1088-95, 2005
Nat Med. 13: 348-53, 2007



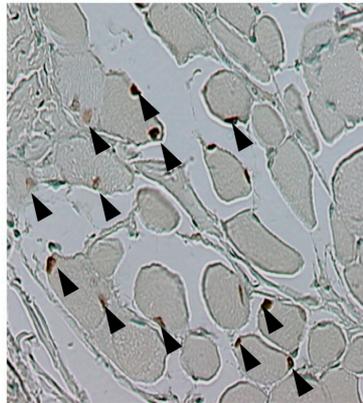
治療による病変の可逆性

Castration restores the phenotypes after the onset

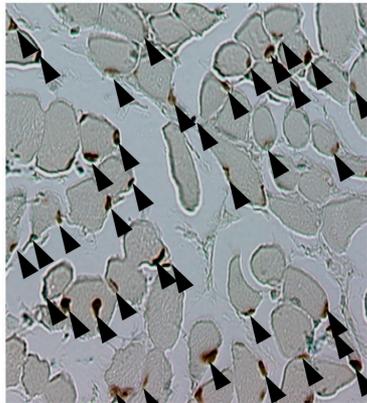


castration

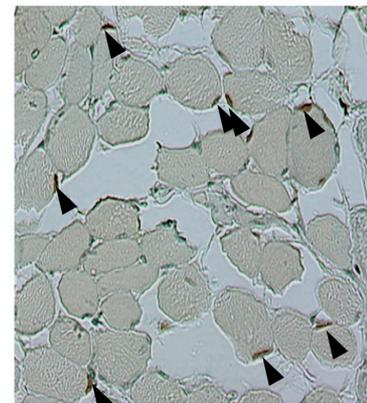
1C2(Anti-polyQ)
(Tail muscle)



Onset
(pre-castration)



2 weeks after
castration

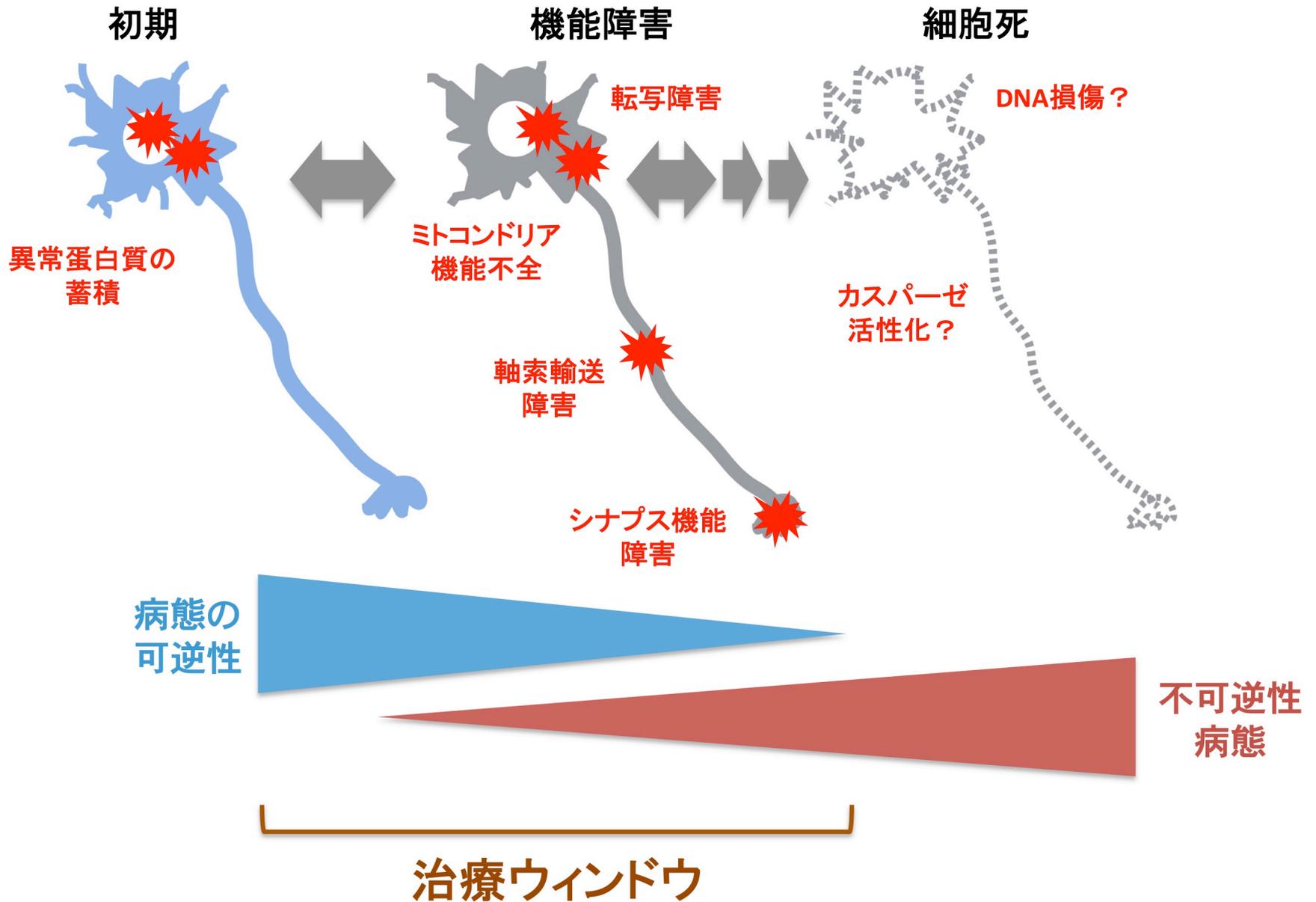


4 weeks after
castration



AR aggregates are decreased and symptoms are restored

病態の可逆性、dysfunctional stageの存在



リュープロレリンによる 臨床試験(医師主導治験)

リュープロレリンによる
我国で最初の神経変性疾患に対する
disease-modifying therapyをめざす医師主導治験(JASMITT)

JASMITT事務局 (SBMAに対するリ्यूプロレリン治験) 設立当時のメンバー (2005年)



JASMITT (SBMAに対するリ्यूプロレリン治験)

「GCPとは何ぞや？」というところから始めた



JASMITTのメンバー



毎週行っているリサーチミーティング

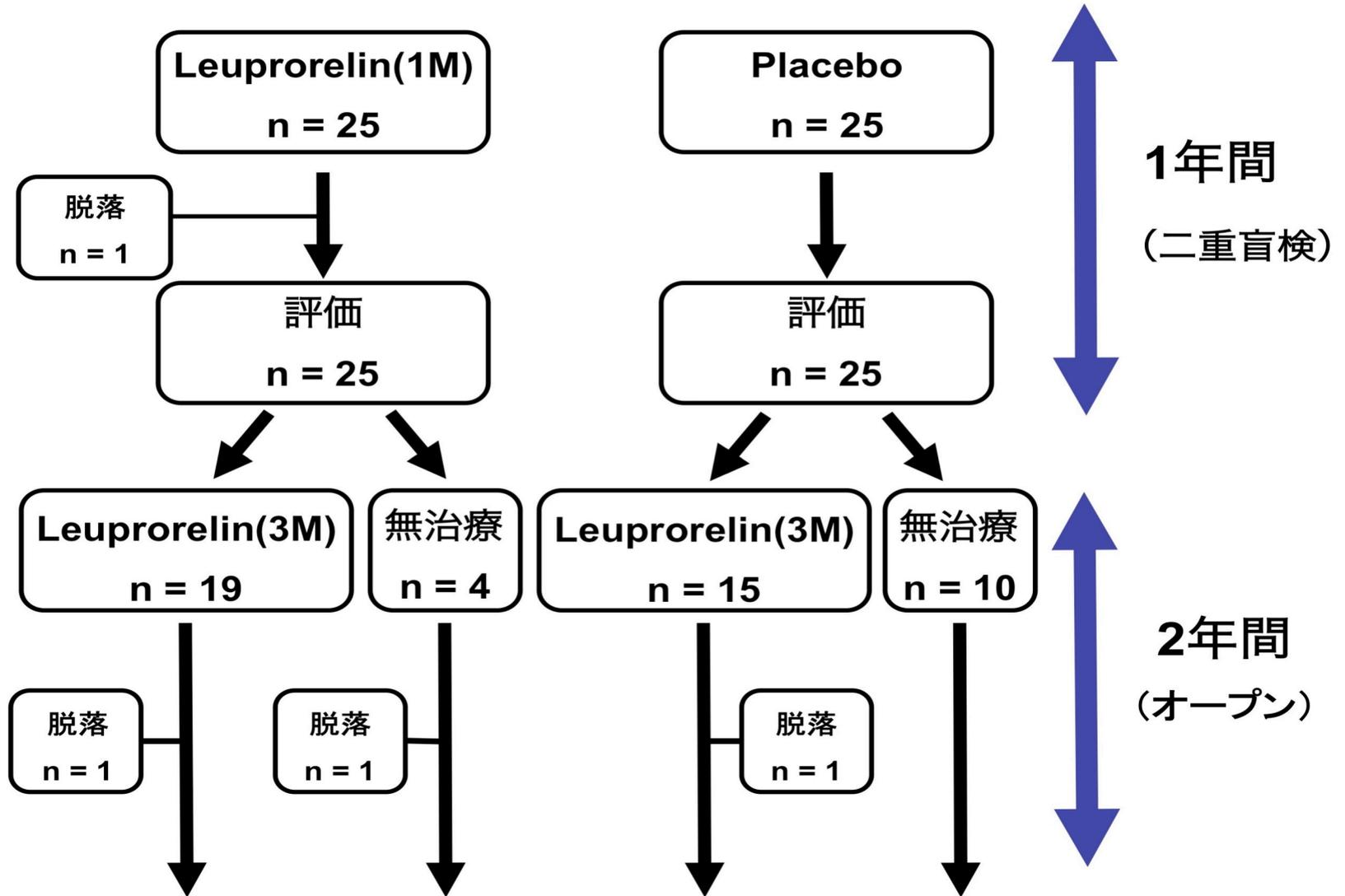


CROなどのミーティング

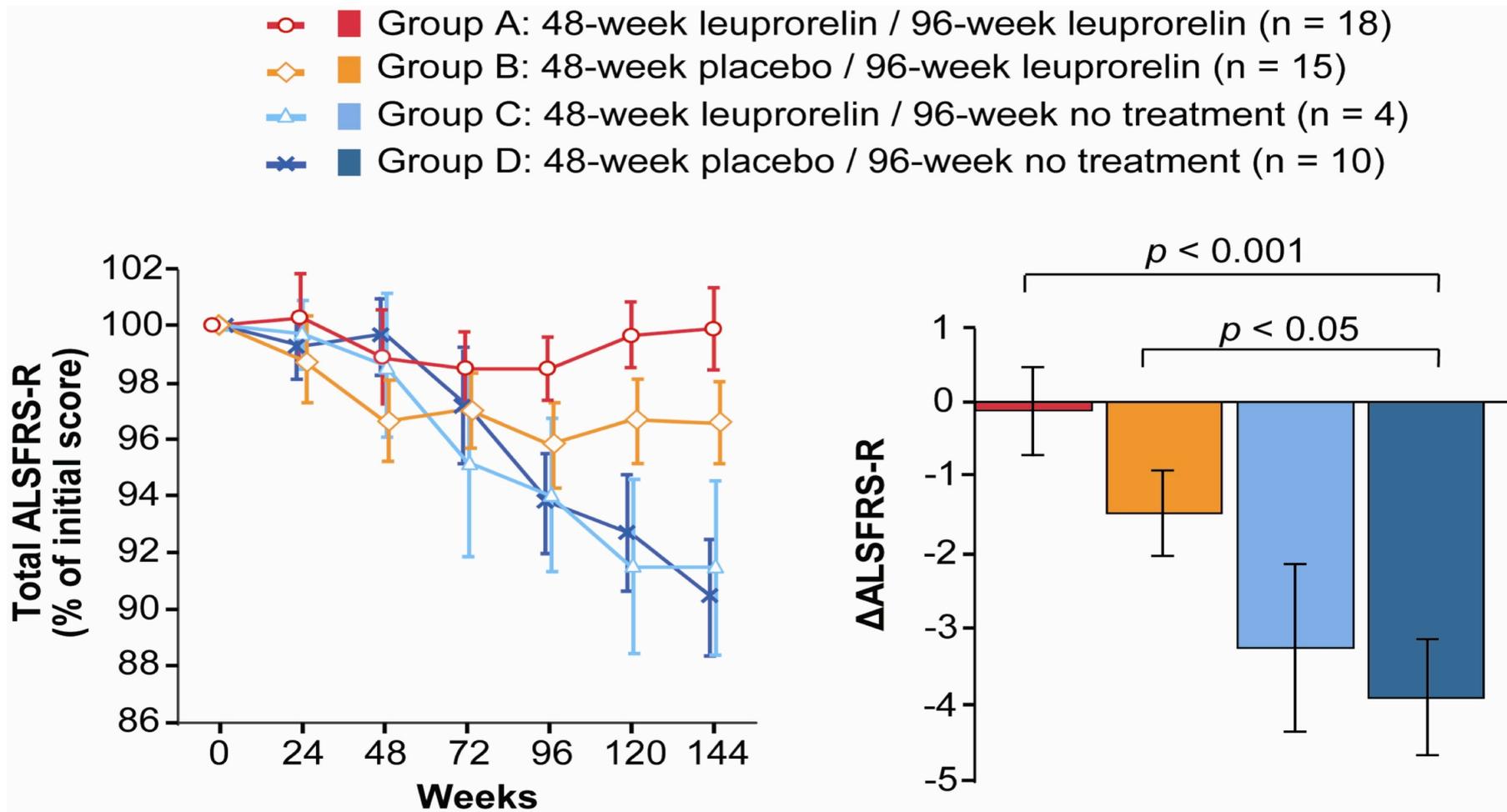


キックオフミーティング (2006年8月)

第2相試験 (3年)



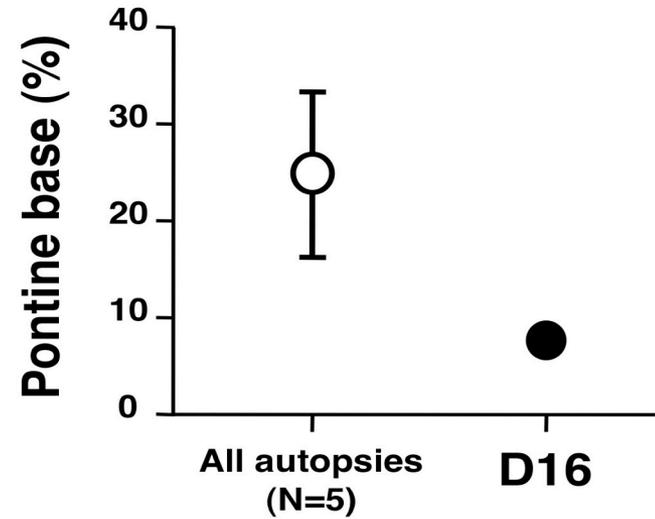
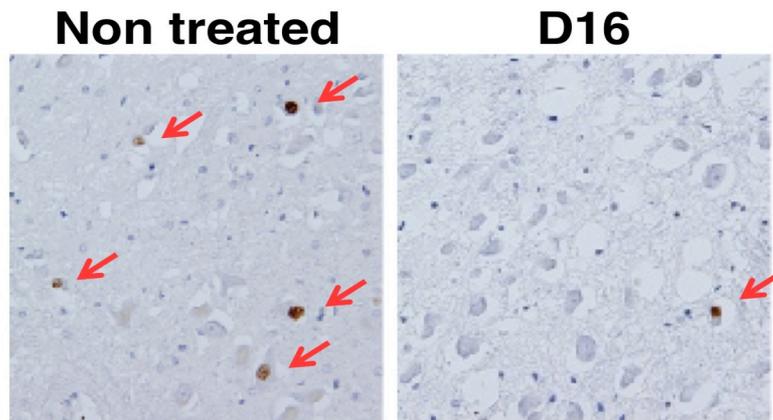
3年間の臨床試験の結果(第2相試験)



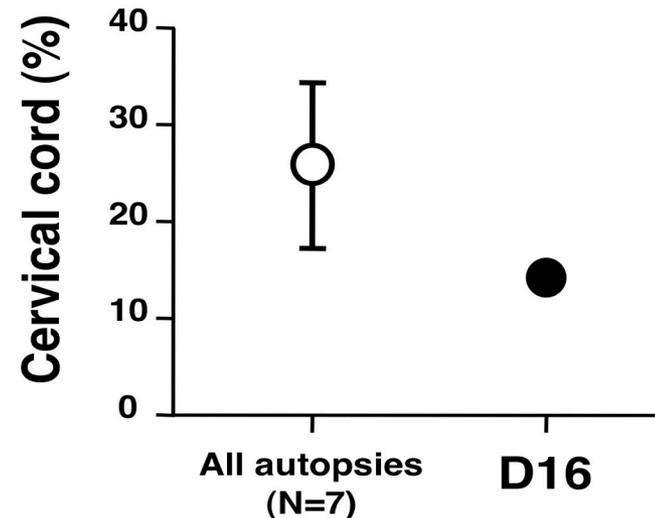
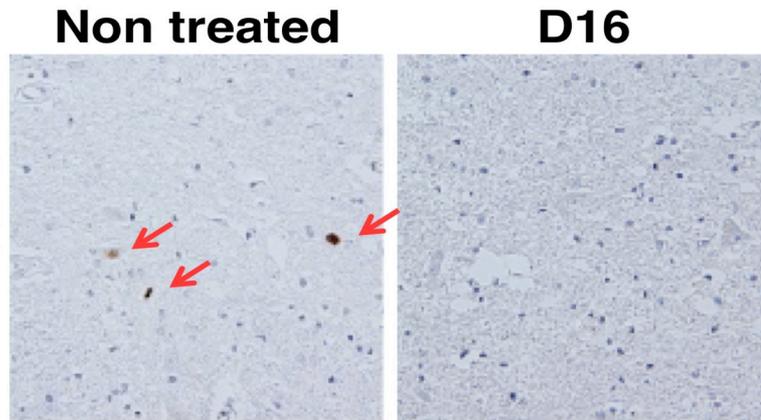
リュープロレリンはSBMA患者の変異ARの核内凝集を減少させる

2年半のリュープロレリン治療を施行したSBMA患者剖検例(D16)

橋底部

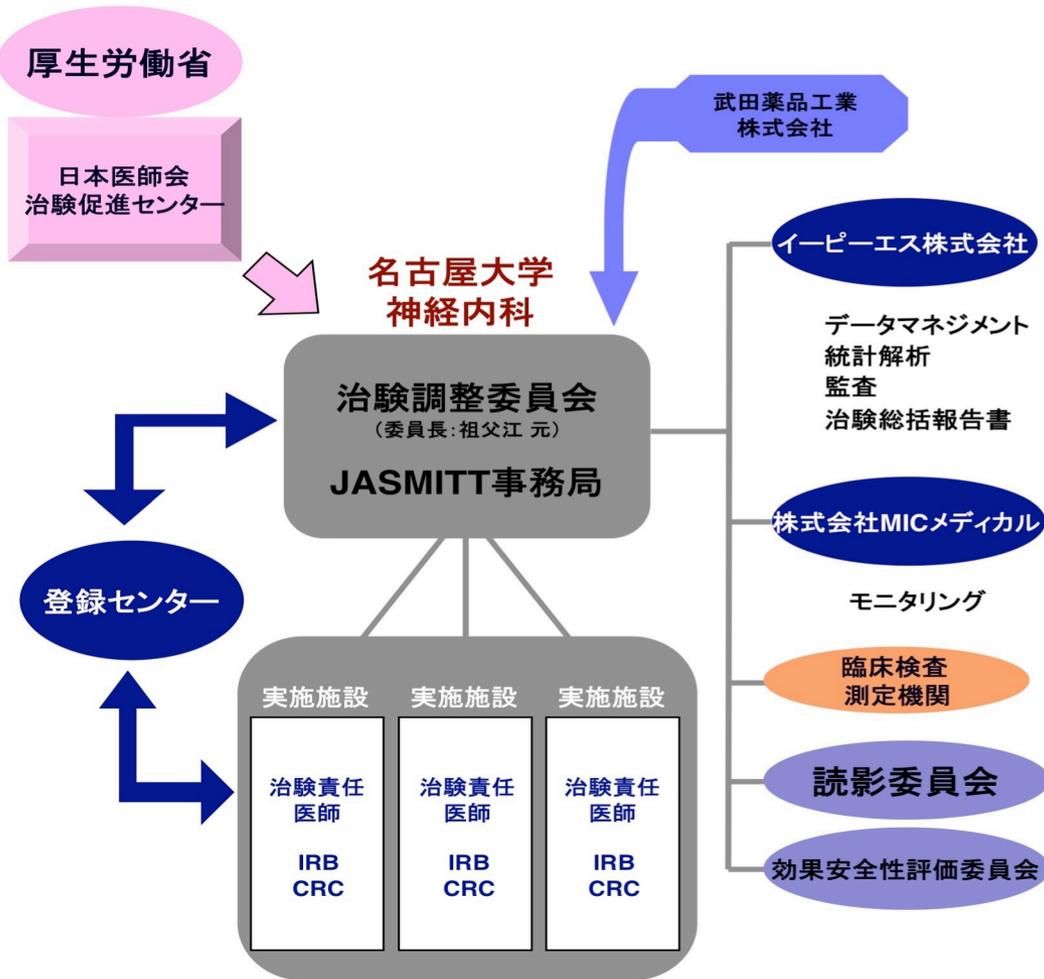


頸髄



SBMAに対するリュープロリン治験(第3相)(N-204) JASMITT二重盲検比較試験(医師主導治験)

JASMITT 医師主導治験体制

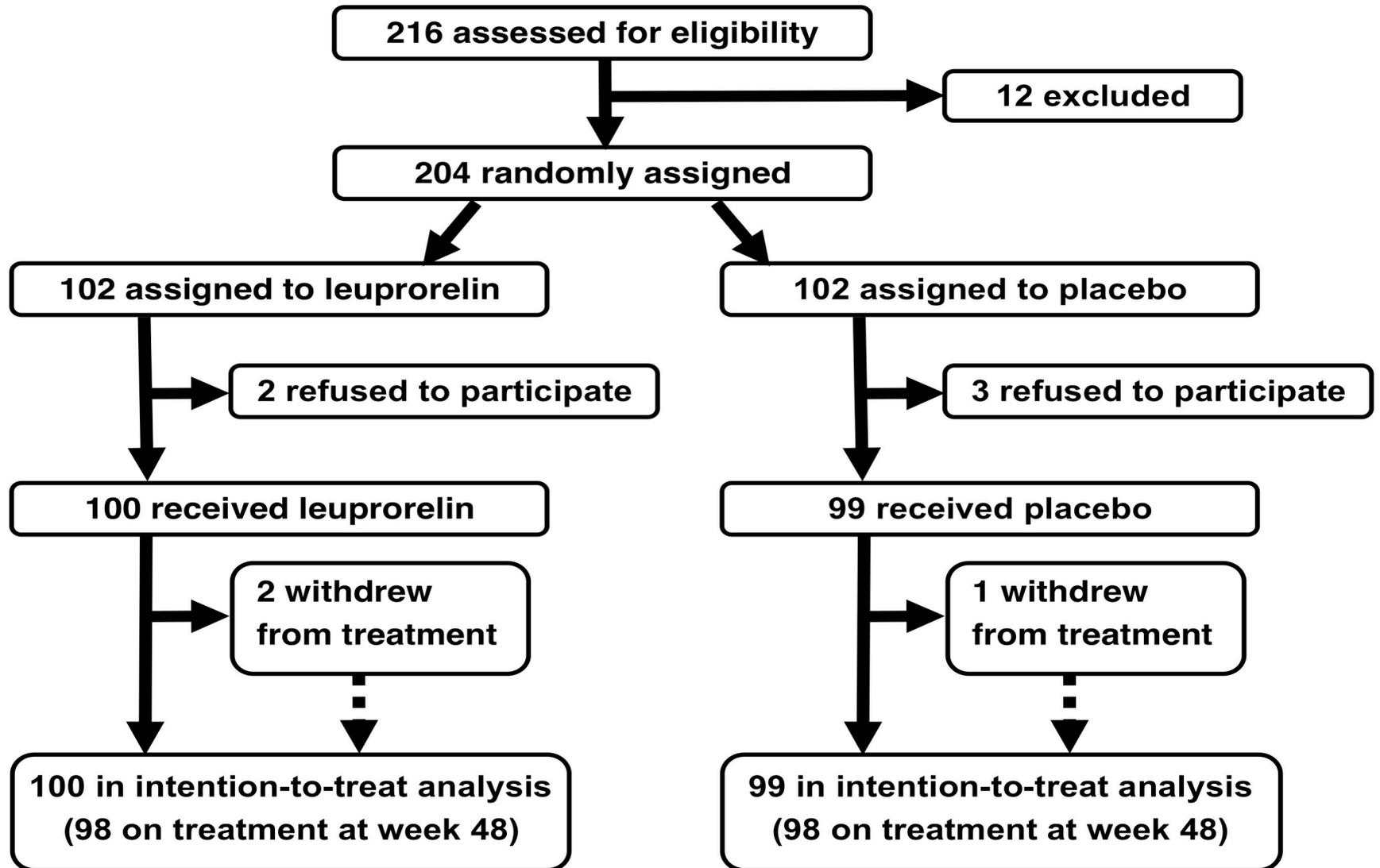


JASMITT実施医療機関

- ① 北海道大学
- ② 東北大学
- ③ 自治医科大学
- ④ 千葉大学
- ⑤ 東京医科歯科大学
- ⑥ 東京大学
- ⑦ NHO相模原病院
- ⑧ 新潟大学
- ⑨ 浜松医科大学
- ⑩ **名古屋大学**
- ⑪ 神戸大学
- ⑫ 鳥取大学
- ⑬ 長崎大学
- ⑭ 熊本大学



JASMITT二重盲檢比較試驗(第3相)



JASMITT 二重盲検比較試験の結果 ①

(48weeks)

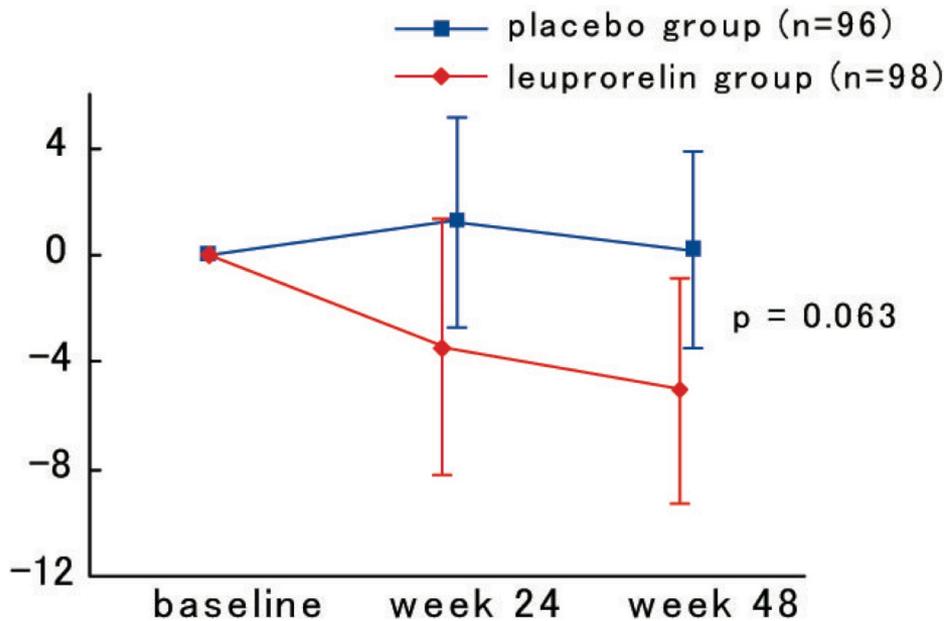
| | | |
|--------|-----------------------------|--|
| 主要評価項目 | 咽頭部バリウム残留率 (複数回嚥下後) | 有意差あり (P=0.049) 調整解析の結果: 有意差なし |
| | 咽頭部バリウム残留率 (初回嚥下後(50%以上除外)) | 有意差なし 全症例での解析 (P=0.063) |
| 副次評価項目 | 陰嚢皮膚の変異アンドロゲン受容体陽性細胞の割合 | 有意差あり (P<0.001) |
| | 血清CK | 有意差あり (P=0.006) |
| | ALSFRS-R | 有意差なし (P=0.537) |

| | | |
|-----------------------|------------|------------------------|
| 層別解析 罹病期間 10年未満 | 咽頭部バリウム残留率 | 有意差あり (P=0.009) |
| 層別解析 罹病期間 9年未満 | 咽頭部バリウム残留率 | 有意差あり (P=0.013) |

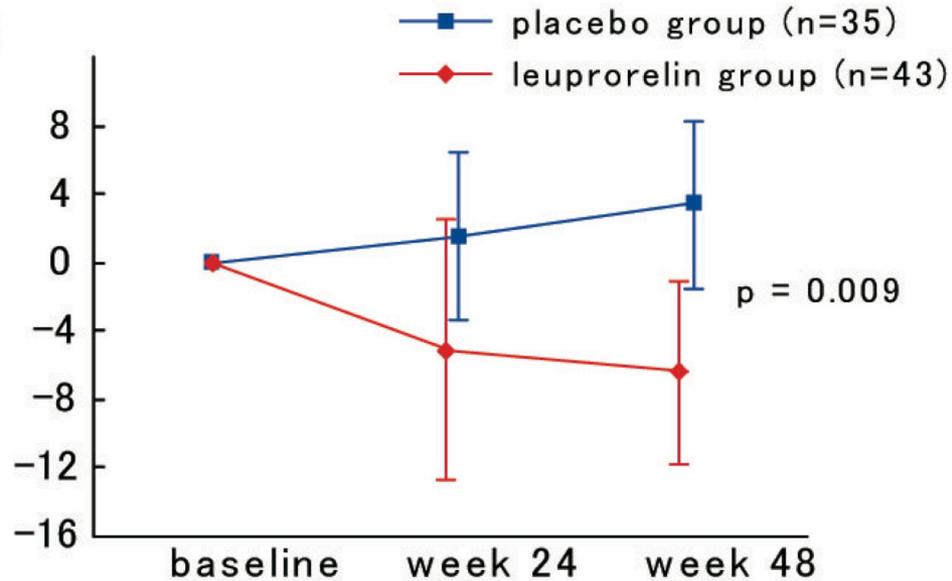
JASMITT: 二重盲検試験の結果 ②

咽頭部バリウム残留率の経時的変化

全症例



罹病期間10年未満



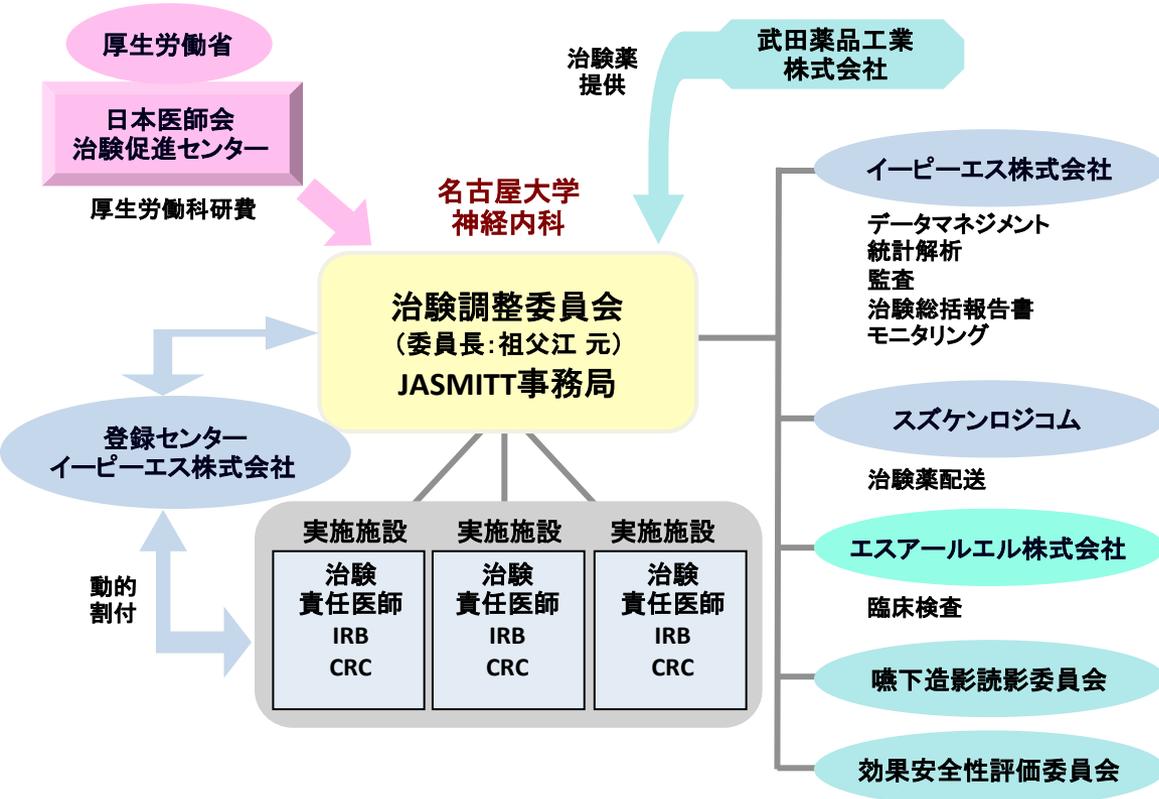
Lesson ➡ できるだけ早い時期に治療を開始することが重要

Lancet Neurol. 9: 875-84, 2010

➡ 早期・発症前からの治療介入はアルツハイマー病のAβ標的治療でもいわれている

追加 JASMITT試験 発症早期のSBMA患者に対するリ्यूプロレリン試験 (n=104)

追加 JASMITT-2 治験体制



追加 JASMITT-2 実施医療機関

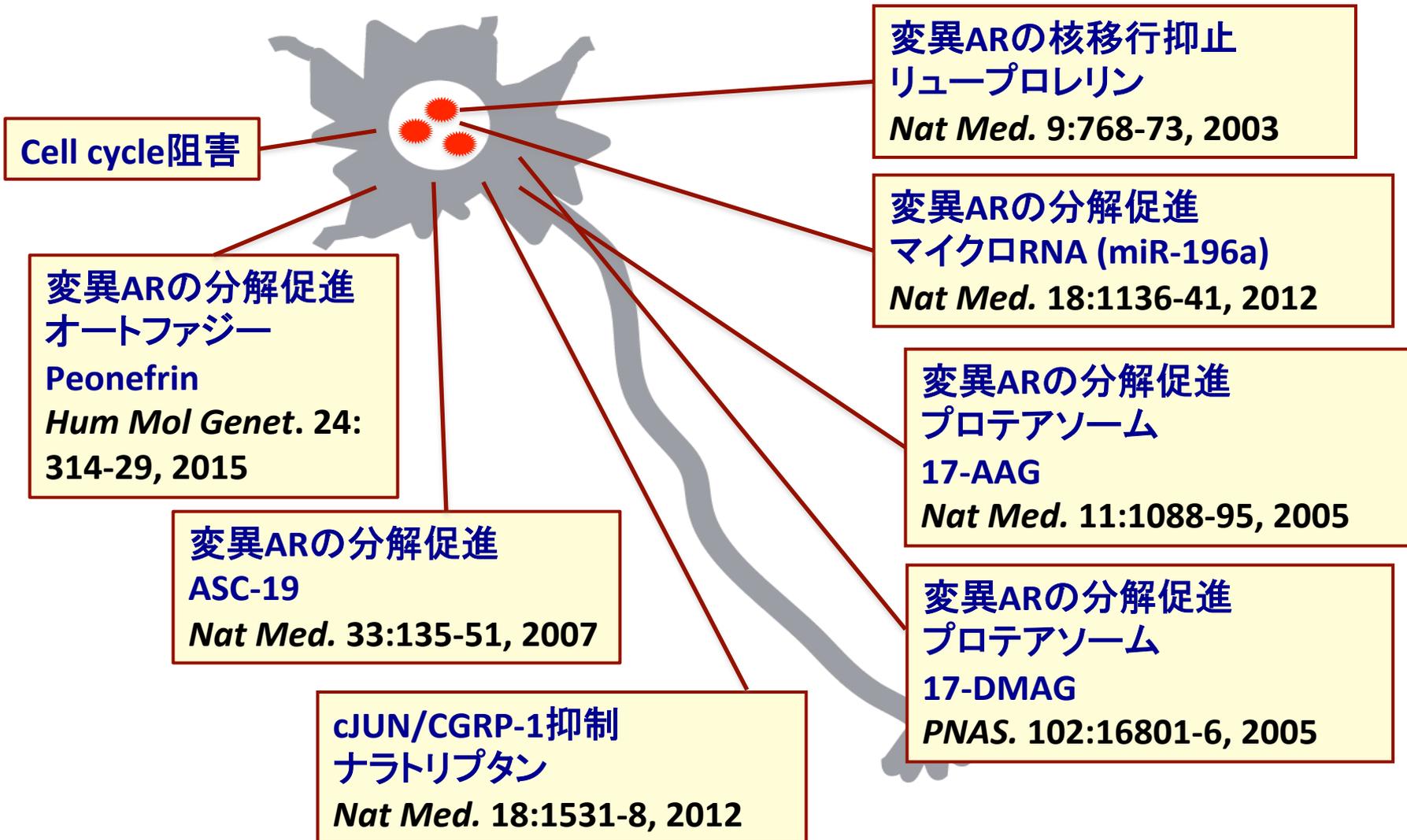
- ① 自治医科大学
- ② 千葉大学
- ③ 東京医科歯科大学
- ④ 東京大学
- ⑤ 名古屋大学



さらなる分子病態解明と標的の探索

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の我々の研究室で見出した分子標的と治療seeds

①核内蛋白質凝集を除去できるもの ②動物モデルで顕著な効果を示したもの (8種類)



マイクロRNAによる治療

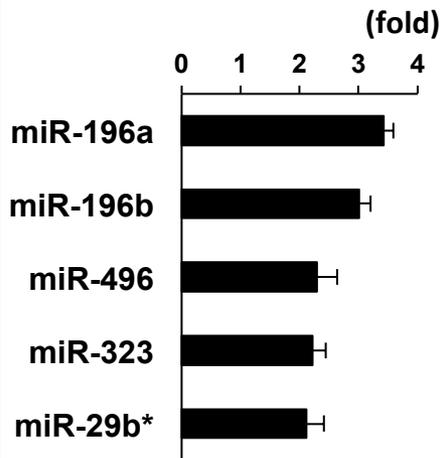
miR-196aとmiR-196bはmutant ARのmRNAと蛋白の発現を抑制し、AR mRNAの分解を促進する

miRNAの探索

mRNA Microarray analysis

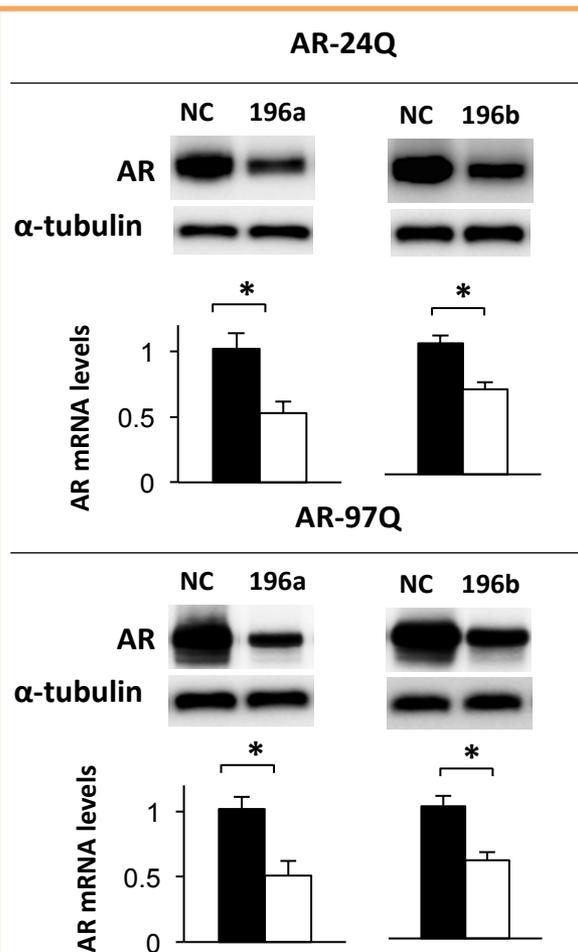


Male SBMA mouse



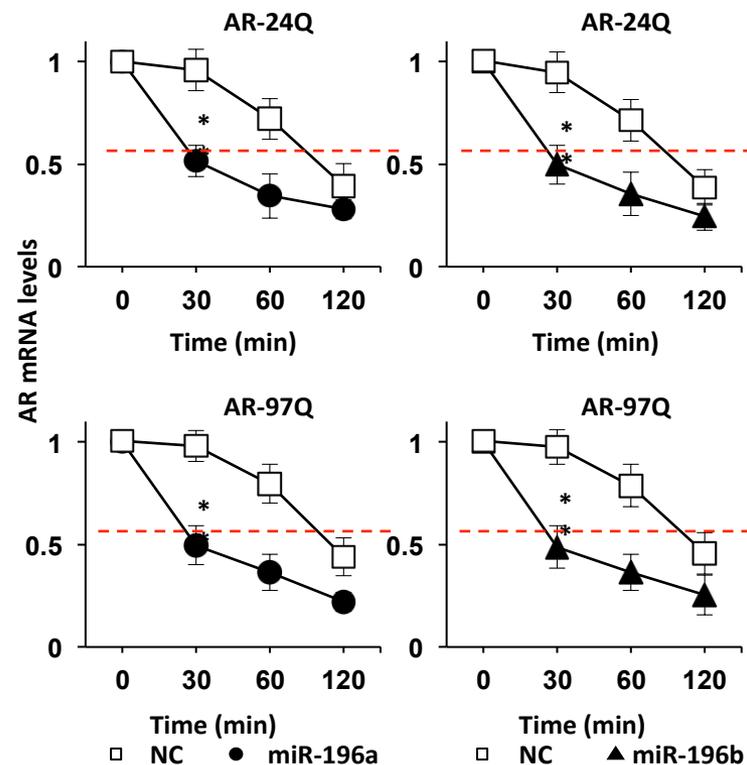
* $P < 0.05$

AR mRNAとAR蛋白質の発現減少

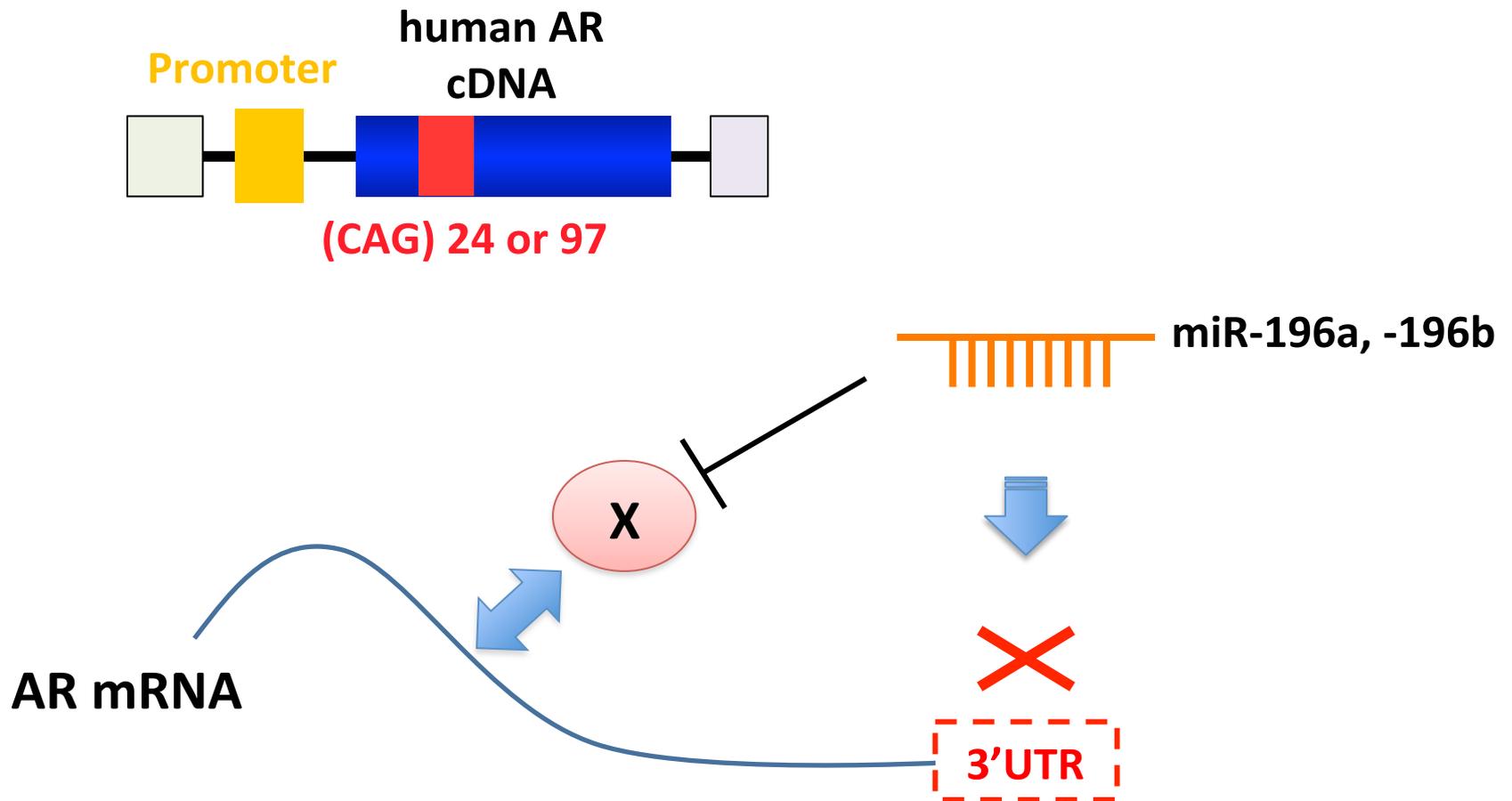


AR mRNAの分解促進

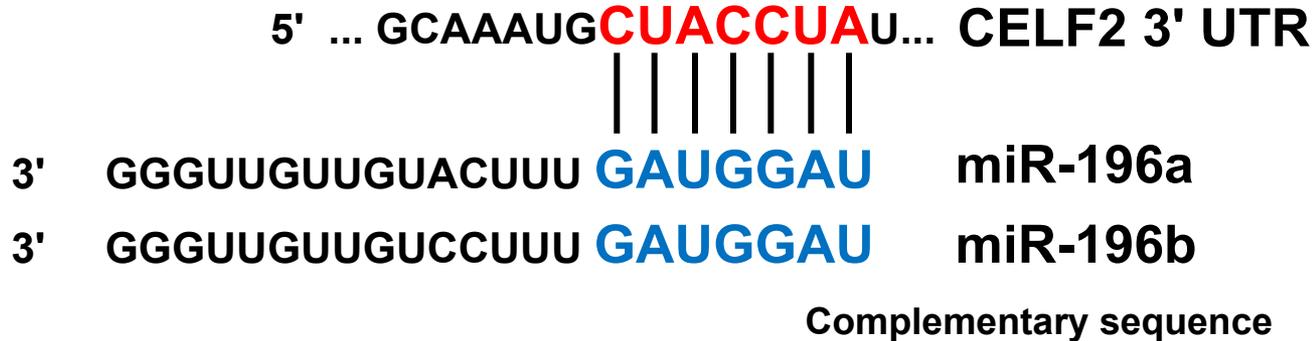
RNA stability assay



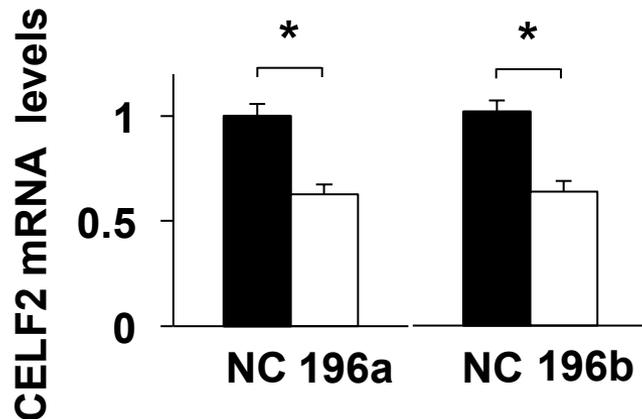
miR-196a and miR-196bによる AR mRNA安定性調整の推定される分子メカニズム



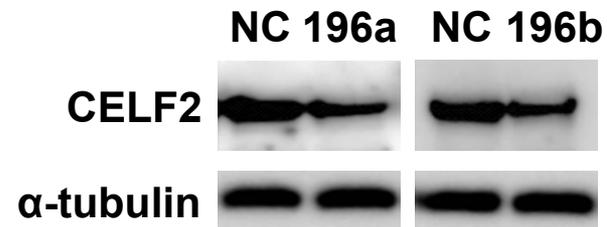
CELf2はmiR-196aとmiR-196bの共通する標的である



Quantitative RT-PCR



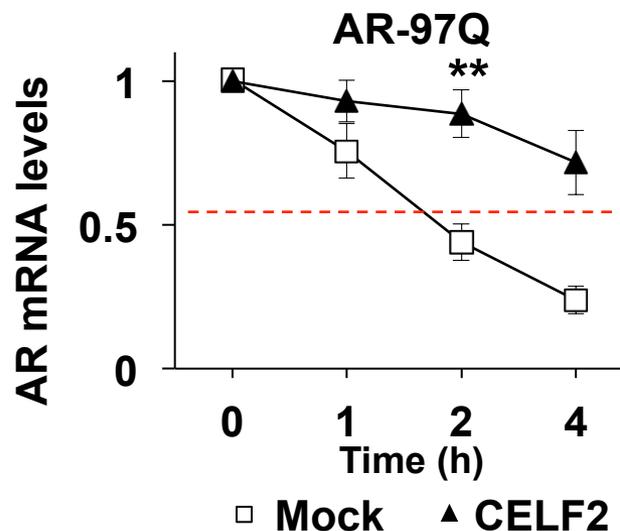
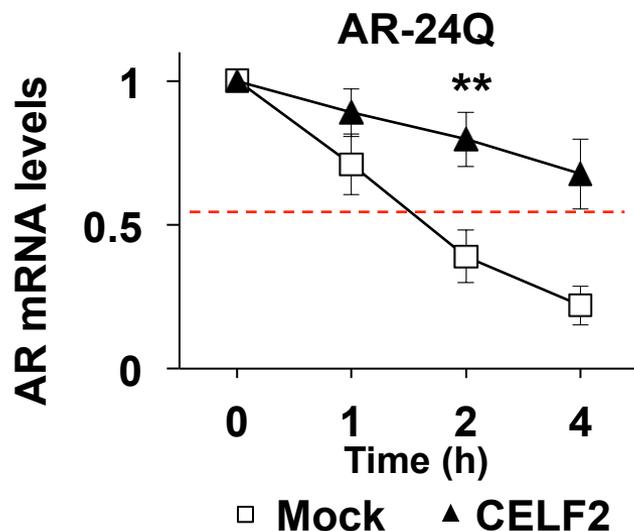
Western blotting



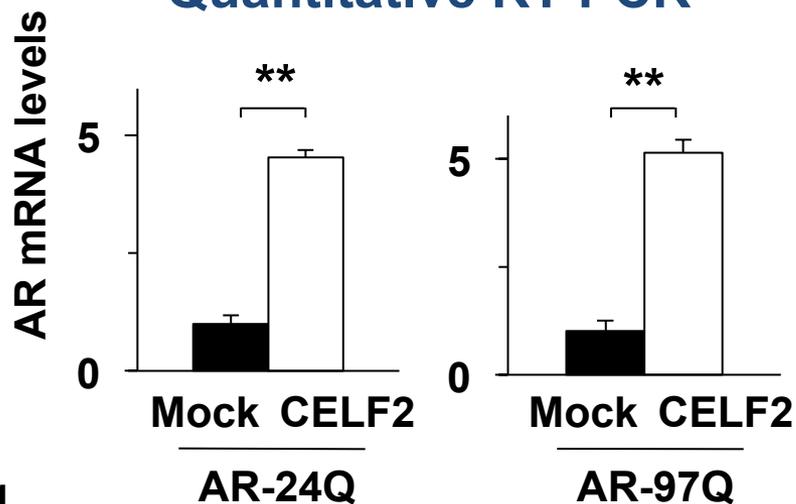
* $P < 0.05$

CELF2はAR mRNAの安定性を促進させる

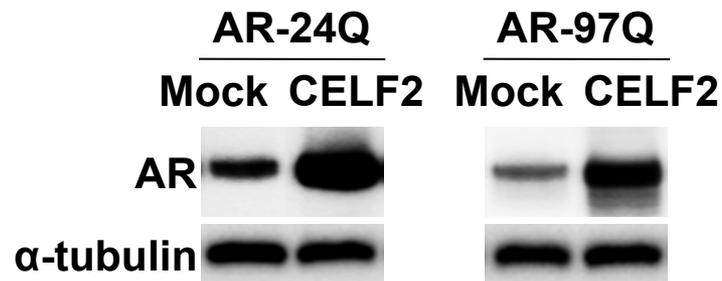
RNA stability assay



Quantitative RT-PCR

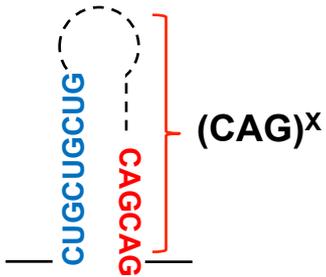


Western blotting

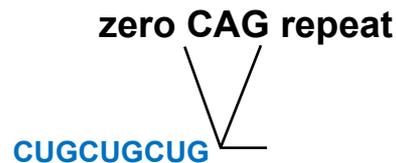


CELF2はAR mRNAのエキソン1におけるCUGCUGCUG配列に直接的に作用する

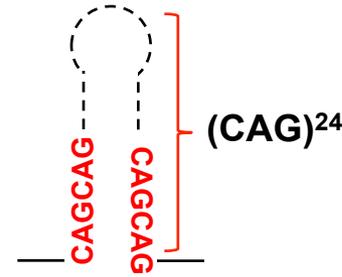
Wild-type



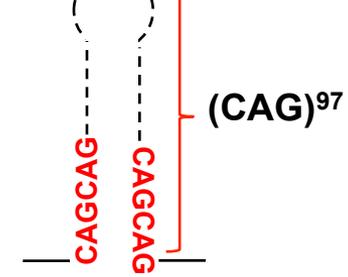
AR-0Q



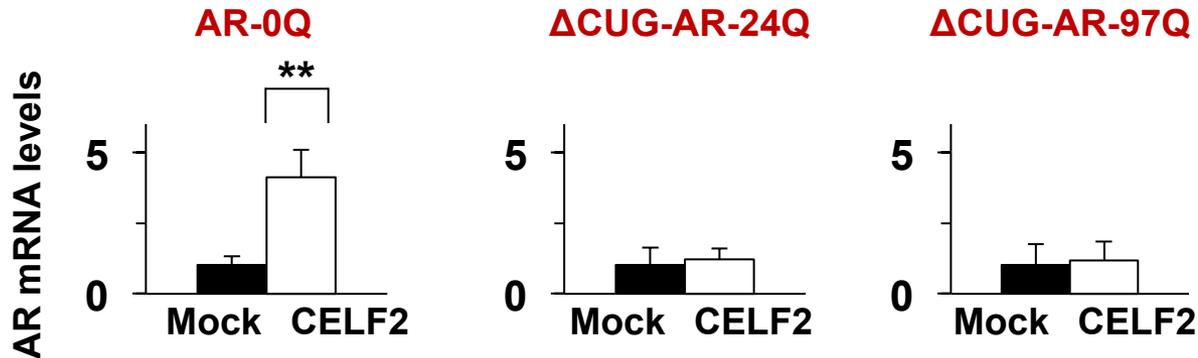
ΔCUG-AR-24Q



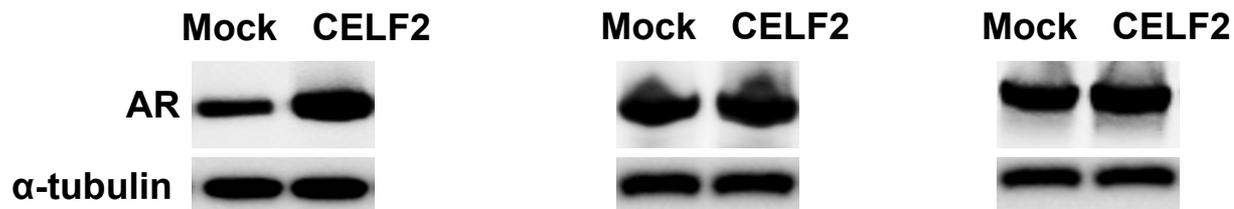
ΔCUG-AR-97Q



Quantitative RT-PCR

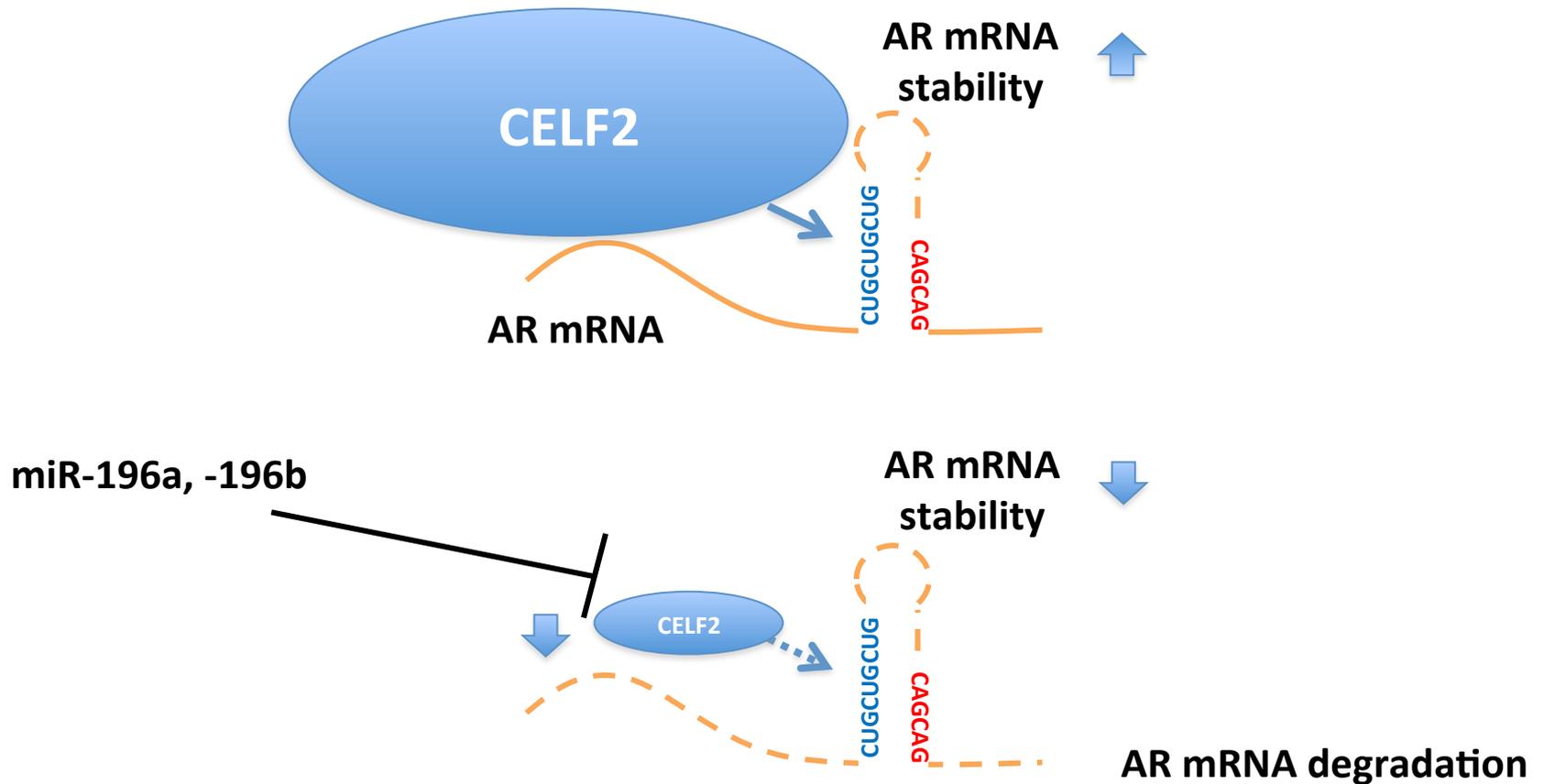


Western blotting



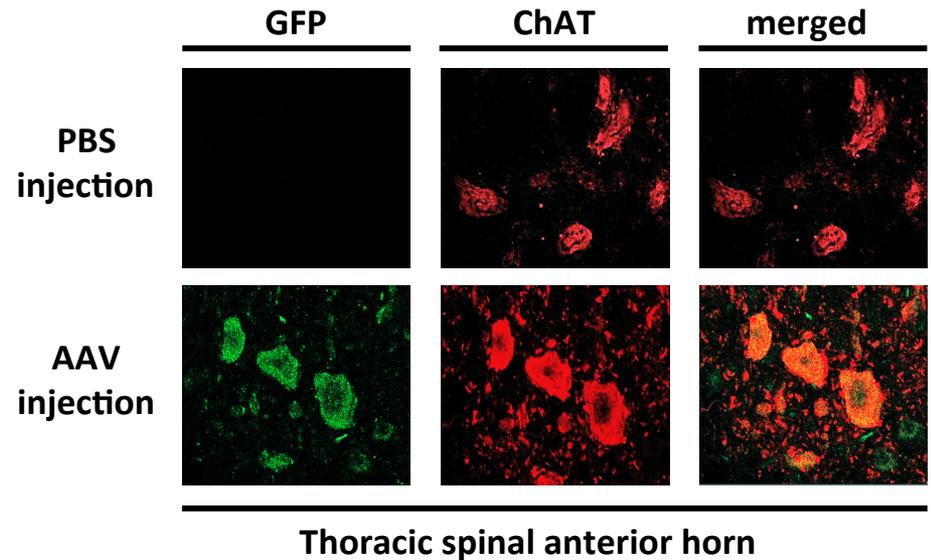
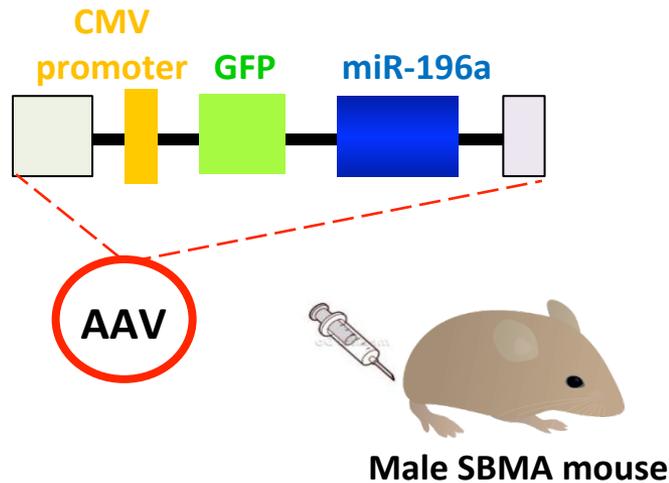
** $P < 0.01$

miR-196aとmiR-196bはCELF2を silenceすることによりAR mRNAの分解を促進する

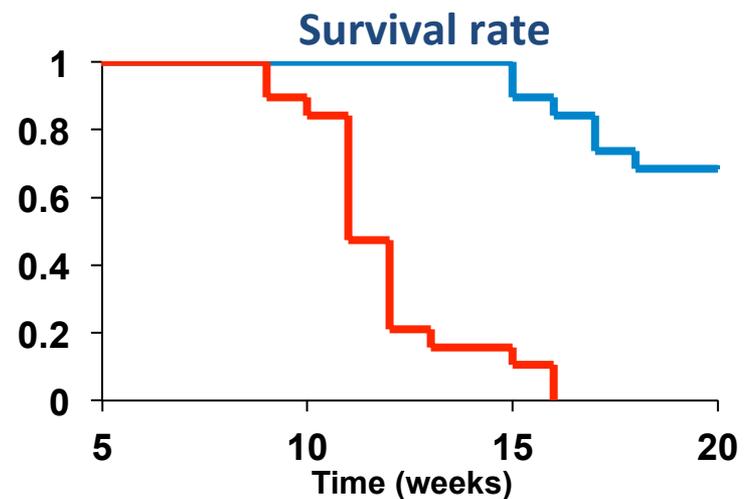
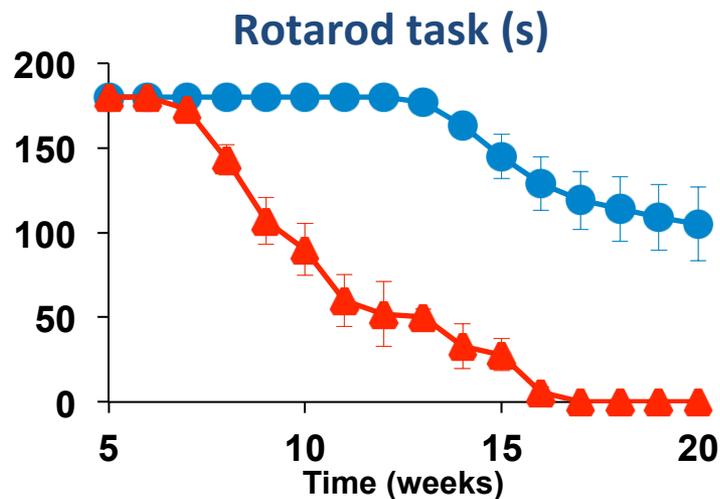


CELF2のような介在分子を介してmiRNAが働く系としては、
先駆的な提唱であった。一種のgainや特異性カスケードの増幅系として働いているか？

SBMAモデルマウスにおけるAAV (miR-196a) 発現

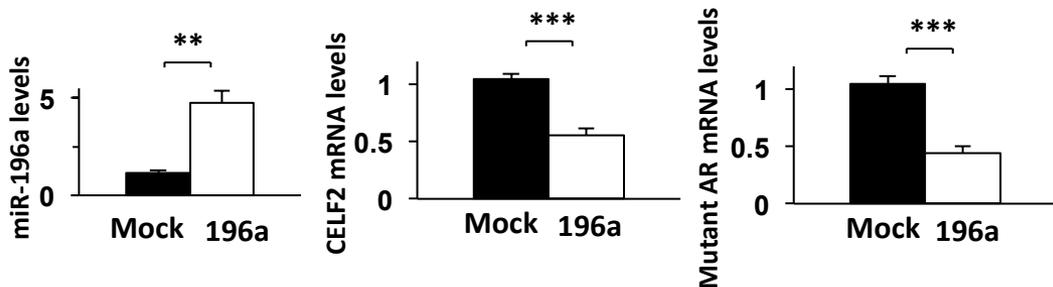


miR-196aはSBMAモデルマウスの臨床表現型を改善する



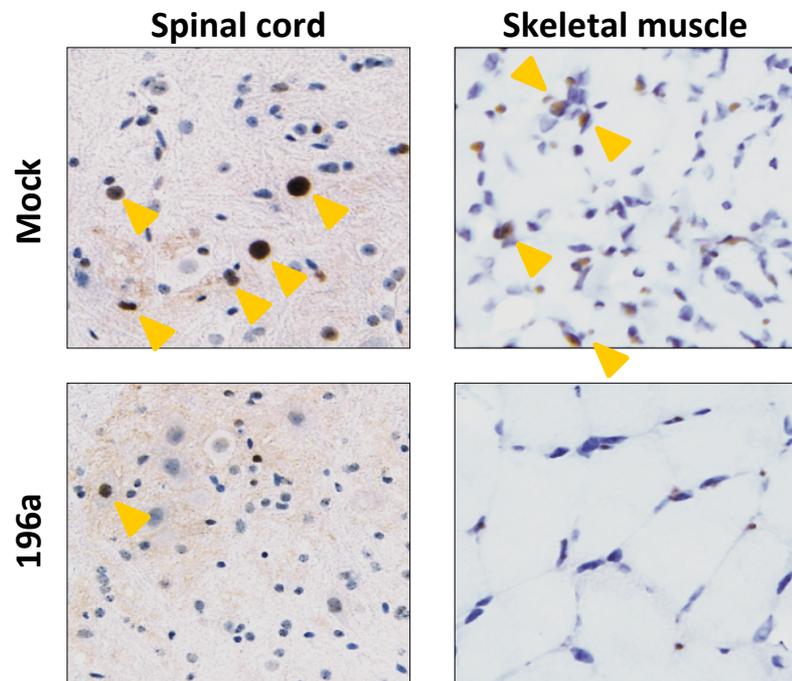
miR-196aはSBMAモデルマウスの表現型を改善する

Quantitative RT-PCR

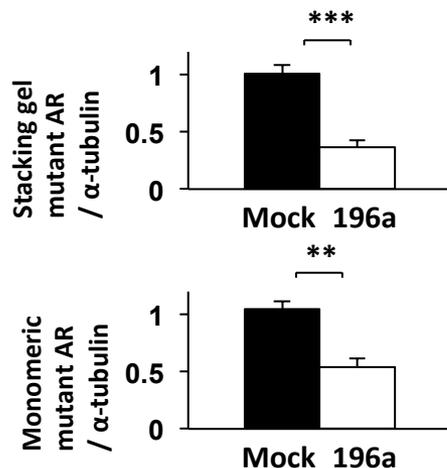
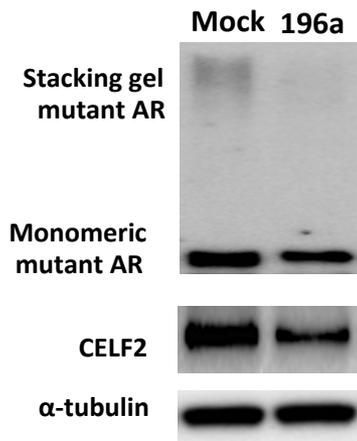


Immunohistochemistry

1C2 (anti-polyglutamine)



Western blotting



** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

miRNAが神経変性疾患モデル動物で効果を示した最も初期の報告

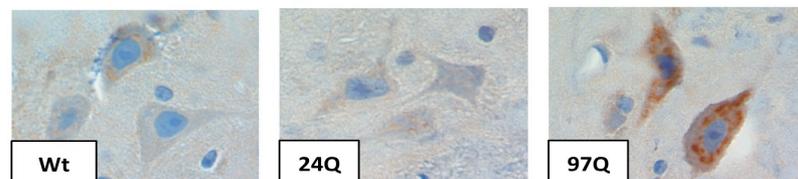
CGRP1抑制剤による治療

病態関連分子としてのCGRP1の同定 SBMAモデルマウスのGeneChipによる遺伝子発現解析

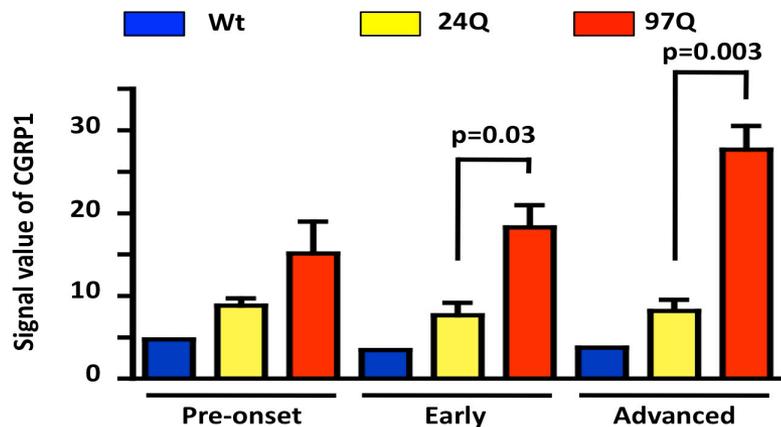
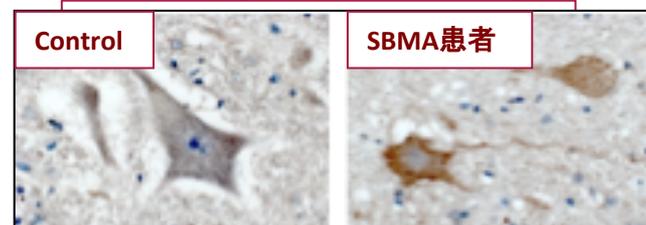
| Gene Title | 97Q/24Q_P | 97Q/Lm_P | Lm_P_Mean | Lm_E_Mean | Lm_A_Mean | 24Q_P_Mean | 24Q_E_Mean | 24Q_A_Mean | 97Q_P_Mean | 97Q_E_Mean | 97Q_A_Mean |
|--|-------------|-------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|
| amiloride binding protein 1 (amine oxidase, copper-containing) | 7 | 16.47752818 | 0.00849642 | 0.00556477 | 0.06 | 0.02 | 0.02 | 0.04 | 0.14 | 0.03 | 0.09 |
| betacellulin, epidermal growth factor family member | 3.666666667 | 2.75 | 0.04 | 0.03 | 0.02 | 0.03 | 0.06 | 0.06 | 0.11 | 0.07 | 0.09 |
| cDNA sequence BC006662 | 1.836734694 | 2.045454545 | 0.44 | 0.35 | 0.64 | 0.49 | 0.61 | 0.68 | 0.9 | 0.79 | 0.96 |
| calcitonin/calcitonin-related polypeptide, alpha | 1.714609287 | 3.167364017 | 4.78 | 3.45 | 3.74 | 8.83 | 7.67 | 8.2 | 15.14 | 18.29 | 27.68 |
| testis-specific protein, Y-encoded-like 1 | 1.647321429 | 1.625550661 | 2.27 | 2.22 | 3.57 | 2.24 | 3.55 | 3.24 | 3.69 | 3.65 | 3.77 |
| prolyl endopeptidase | 1.555555556 | 1.647058824 | 0.17 | 0.13 | 0.19 | 0.18 | 0.21 | 0.2 | 0.28 | 0.24 | 0.32 |
| ubiquitin specific protease 22 | 1.520325203 | 1.502008032 | 2.49 | 2.65 | 3.8 | 2.46 | 3.06 | 3.05 | 3.74 | 3.46 | 3.59 |
| interleukin enhancer binding factor 2 | 1.512195122 | 1.569620253 | 1.58 | 1.78 | 2.3 | 1.64 | 2.16 | 2.29 | 2.48 | 2.22 | 2.5 |
| lipoprotein lipase | 0.61627907 | 0.486238532 | 1.09 | 0.72 | 0.79 | 0.86 | 0.78 | 0.73 | 0.53 | 0.55 | 0.5 |
| expressed sequence AW060766 | 0.431372549 | 0.498740554 | 3.97 | 3.6 | 3.63 | 4.59 | 3.68 | 3.82 | 1.98 | 2.53 | 2.05 |
| 0 day neonate thymus cDNA | 0.363636364 | 0.307692308 | 0.13 | 0.12 | 0.1 | 0.11 | 0.07 | 0.12 | 0.04 | 0.07 | 0.07 |
| crystallin, gamma S | 0.148008317 | 0.17760998 | 0.05 | 0.09 | 0.05 | 0.06 | 0.04 | 0.01 | 0.008880499 | 0.00665647 | 0.01 |

CGRP1

CGRP1 (SBMA マウス、脊髄)



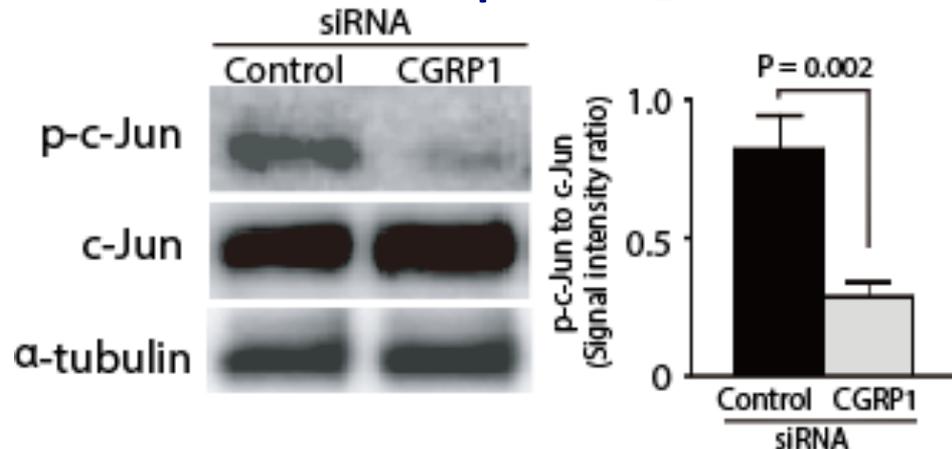
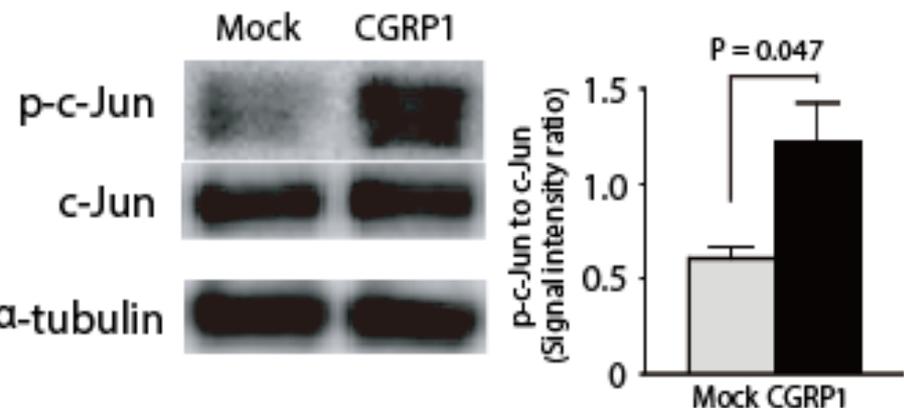
CGRP1 (SBMA患者、脊髄)



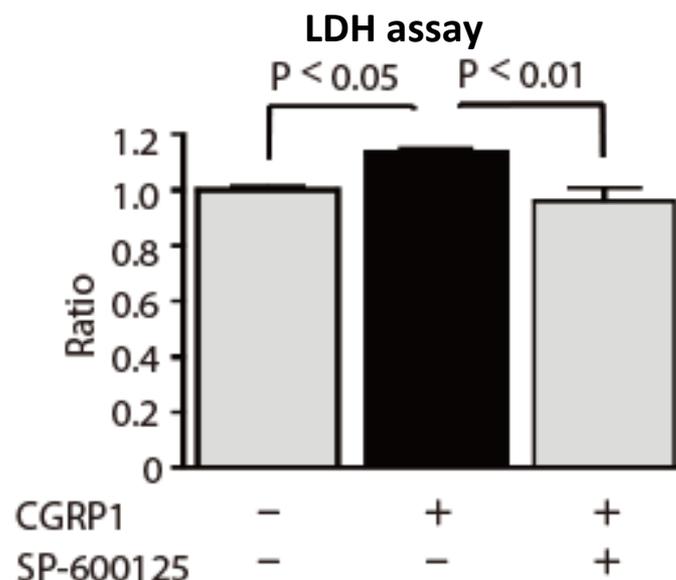
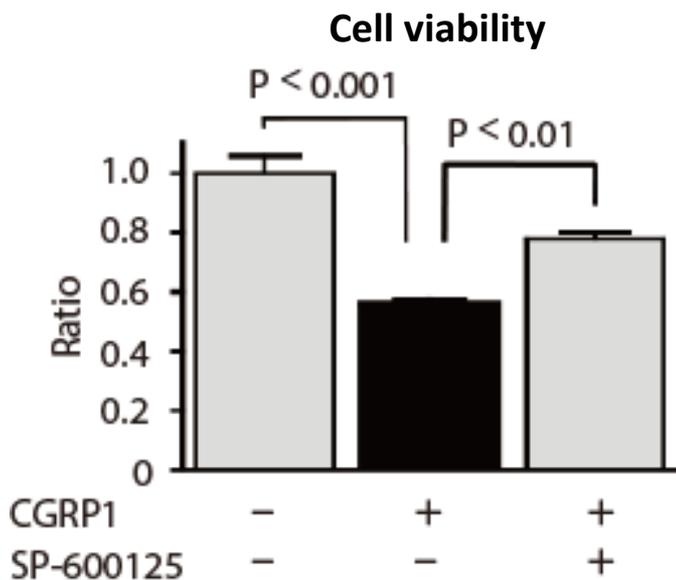
CGRP1による障害はJNK pathwayによって起こる

CGRP1はp-c-Junを増加する

CGRP1のKDはp-c-Junを減少する



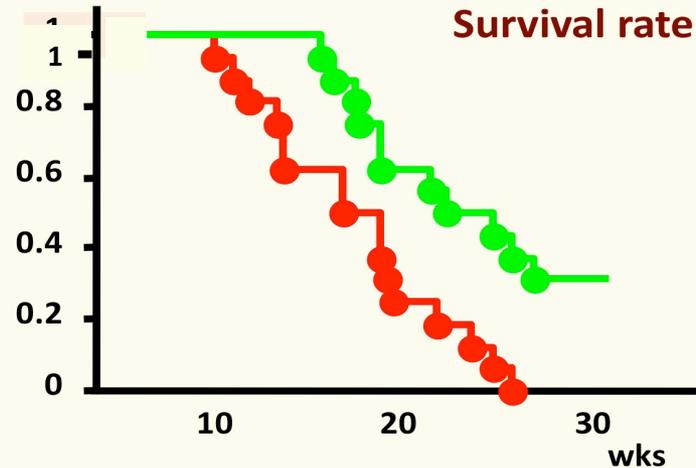
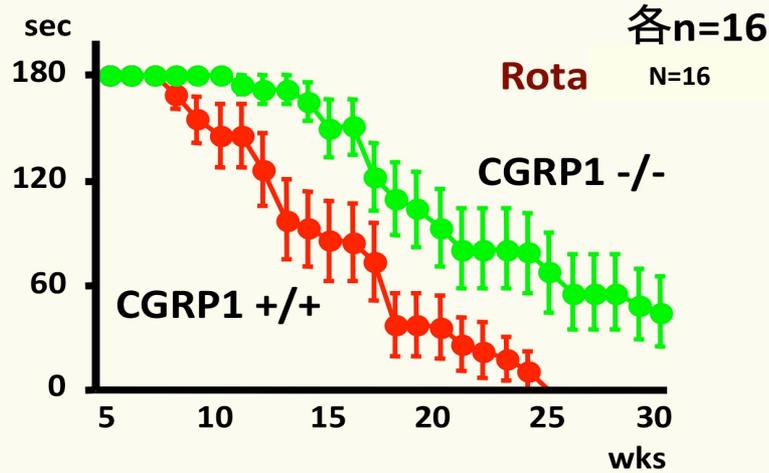
CGRP1による神経毒性はJNK阻害剤 (SP-600125)により抑制される



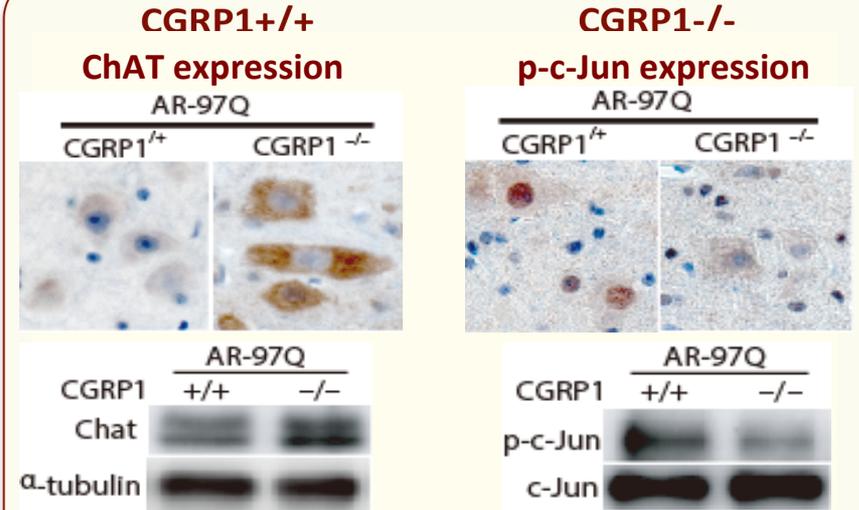
➡ CGRP1 neurotoxicityはJNK pathwayによって誘導される

SBMAマウスのCGRP1ノックアウトにより病態が改善する (SBMAマウスとCGRP1 KOマウスの掛け合わせ実験)

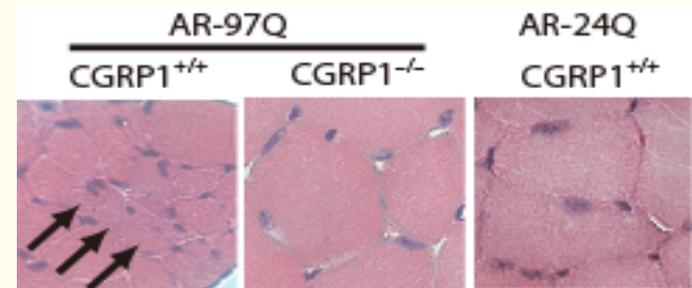
CGRP1ノックアウトによる 臨床症状の改善



CGRP1ノックアウトによる 病理所見の改善

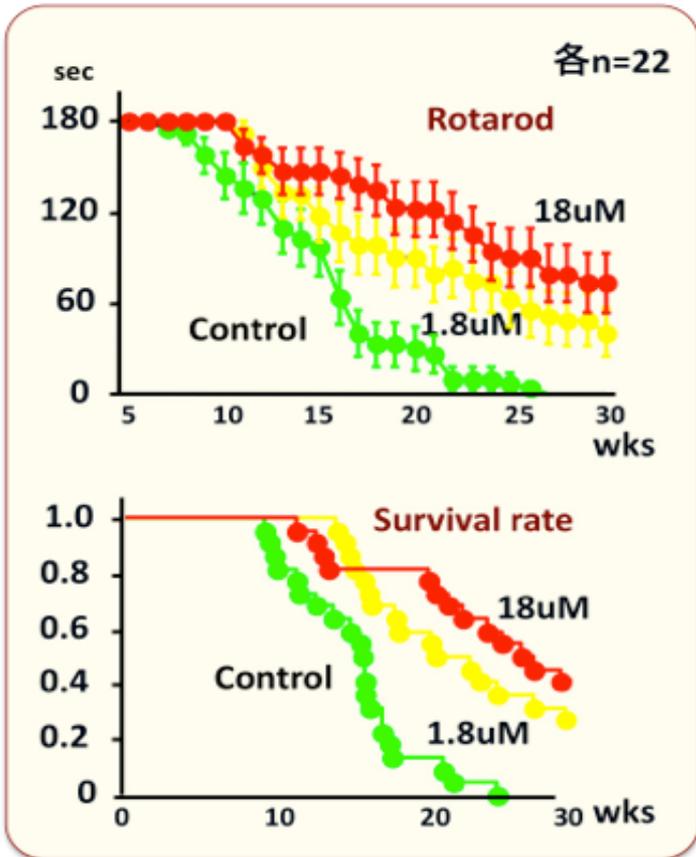


Skeletal muscle (HE staining)



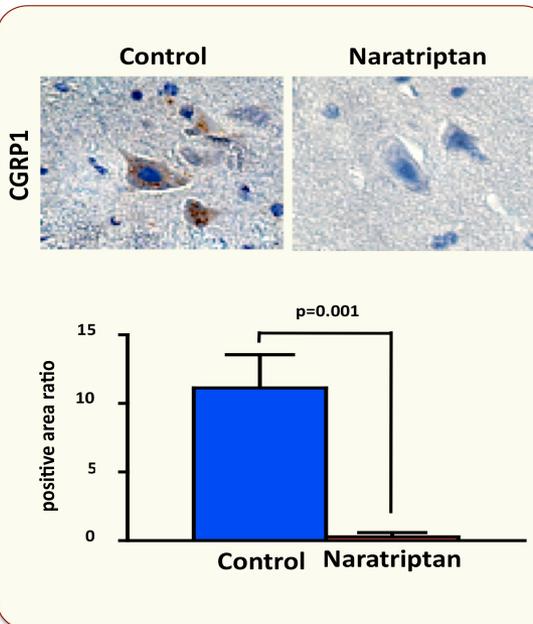
CGRP1抑制剤 (natriptan) による病態抑制

Natriptanによる臨床症状の改善
(SBMAマウス)

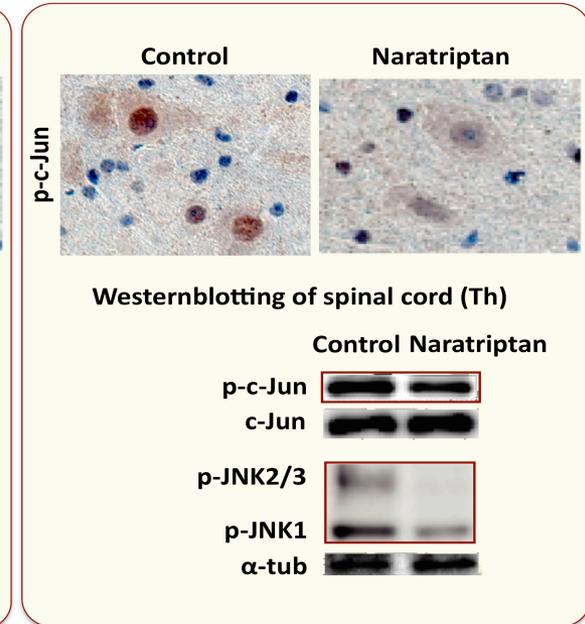


NatriptanによるCGRP1、p-c-Jun/p-JNKの抑制
(SBMAマウス)

CGRP1の減少



JNK経路の抑制



➡ CGRP1抑制剤 (natriptan) による治療の可能性

Gordon Research Conference

Triplet Repeat Disordersのシンポジウム(CAG病の世界のソサエティ)が
2年に1回ずつ開催。何回かの招待講演

CAG Triplet Repeat Disorders
Basic Science to Therapeutics

Keynote Session: Moving Forward in Treatment

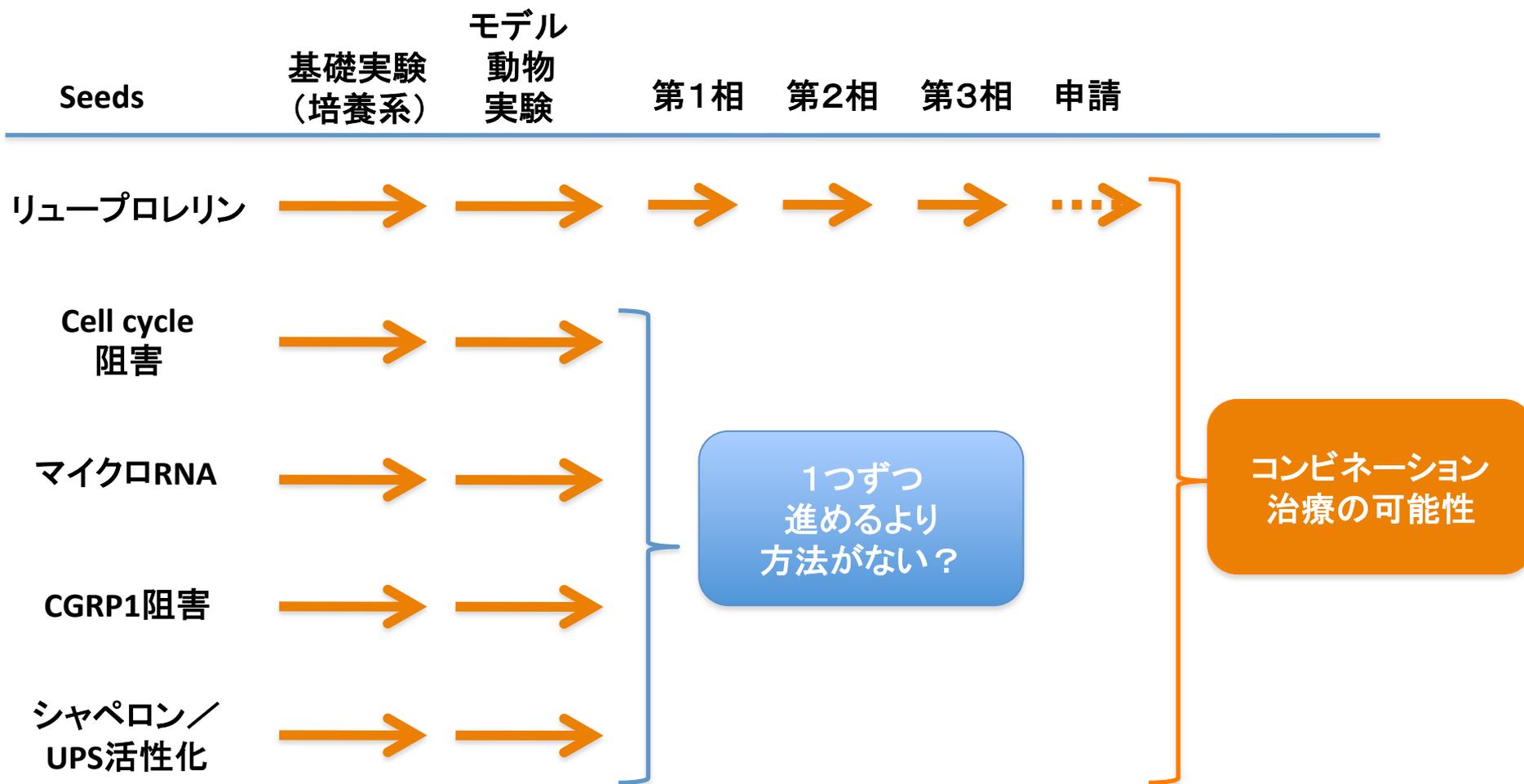
Chair: Blair Leavitt (University of British Columbia)

June 23-28, 2013
Waterville Valley Resort
Waterville Valley, NH

8:15 pm – 9:15 pm Keynote Talk: Gen Sobue (Nagoya University, Japan)
“Molecular targeted therapy for spinal and bulbar muscular atrophy”
9:10 pm – 9:30 pm Discussion



SBMAの分子標的治療のseedsとトランスレーショナルリサーチ



ヒトへのトランスレーショナル研究をどう進めるか？

動物からヒトへのステップのむずかしさ

神経変性疾患の病態抑止治療の現状 (ヒトで試された発表分)

—ALS, AD, SBMAについて—

ALS

Riluzole
 Gabapentin
 Topiramate
 Lamotrigine
 Dextromethorphan
 Talampanel
 rhCNTF
 IGF-1
 BDNF
 TRH

Tamoxifen
 Xaliproden
 Vitamin E
 N-acetyl-L-cystein
 Selegeline
 Coenzyme Q10
 Creatine
 Branched chain AA
 Nimodipine
 Verapamil

Lithium
 TCH346
 Pentoxifylline
 Minocycline
 Sodium phenylbutyrate
 Bovine gangliocide
 Interferon-β
 Celecoxib
 Glutathione
 Oxandrolone

病理マーカー
改善

臨床症状
改善

Not
determined

No

Alzheimer disease

Bapineuzumab
 Aβ vaccination
 CAD106
 Tideglusib

Solanezumab
 BMS-708163
 Ponezumab
 Semagacestat

Vanutide cridificar
 Darunetide
 他

Yes
 変異沈着
 減少・消失

No

SBMA

Leuprorelin

Yes
 変異沈着
 減少・消失

No/Yes*
 *10年未満の
 患者には
 有効



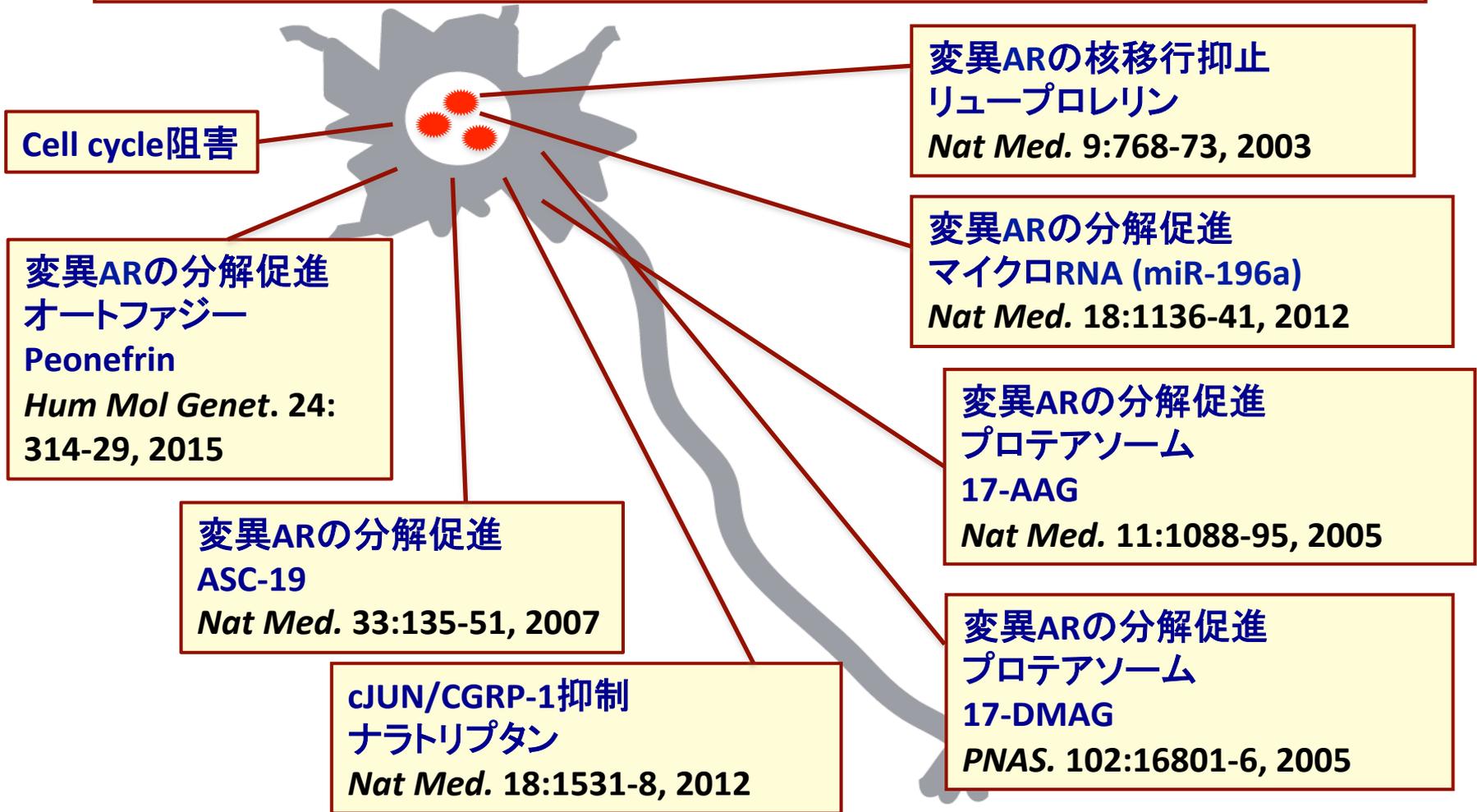
- ①本質的な分子標的に到達していない?
 ②臨床治験のデザインの問題?

**神経変性疾患のdisease-modifying therapy開発を
成功させるには何が必要か？**

創薬に結びつく真の標的分子 (seeds) かどうか？

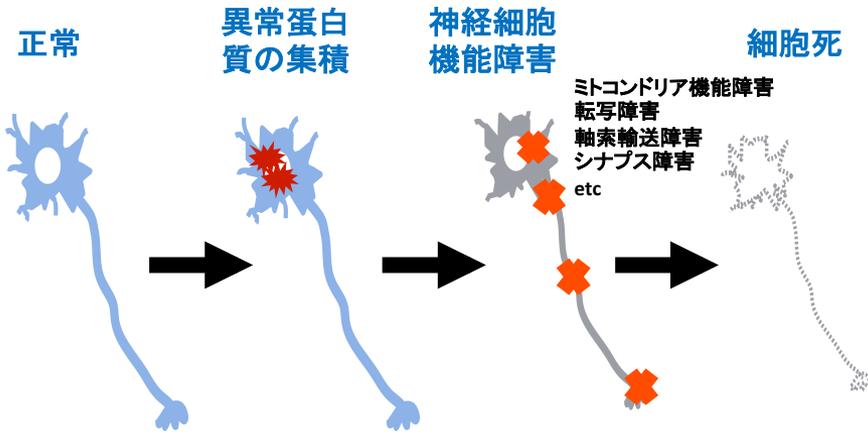
球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の我々の研究室で見出した分子標的と治療seeds

①核内蛋白質凝集を除去できるもの ②動物モデルで顕著な効果を示したもの (8種類)



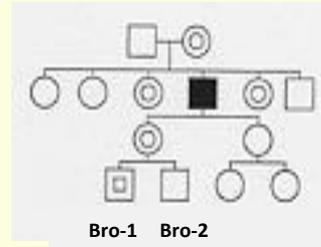
実際にはヒトで検討しないと最終証明にはならない

発症早期・発症前からの治療の必要性



ミトコンドリア機能障害
転写障害
軸索輸送障害
シナプス障害
etc

無症状の
11歳男子例

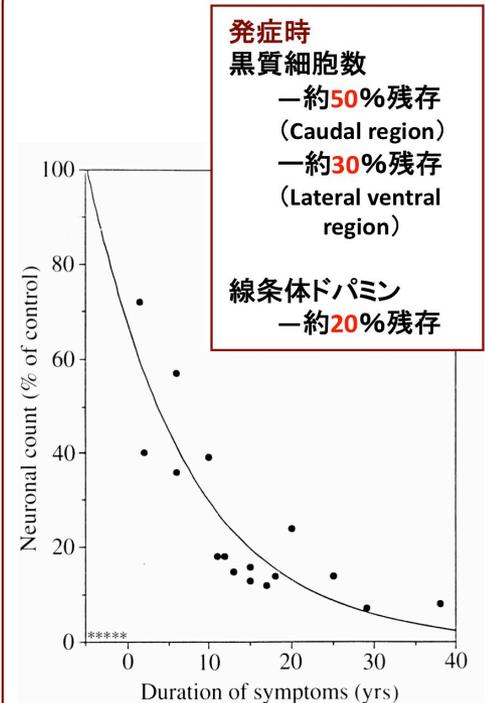


Bro-1 Bro-2

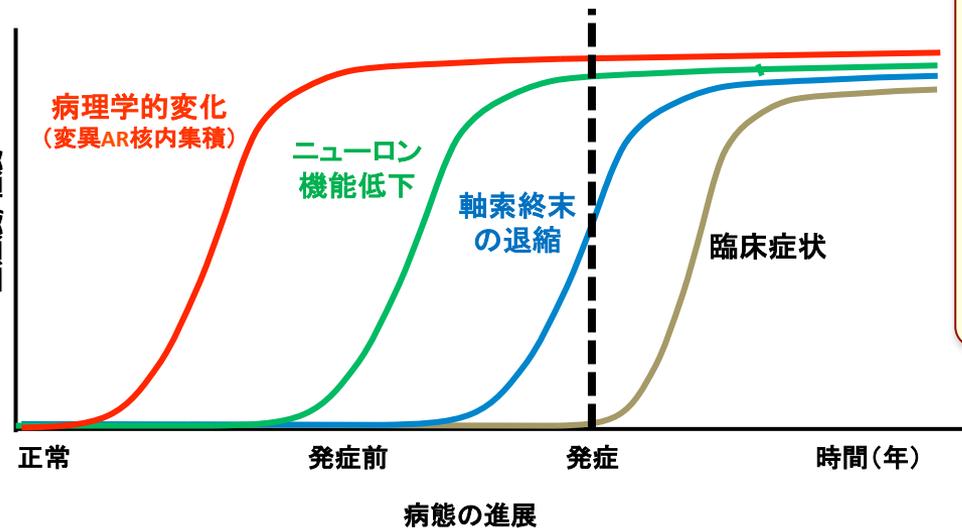
Brother-1, 11 yo



パーキンソン病の発症・罹病期間と
残存黒質神経細胞数、
線条体ドパミン量

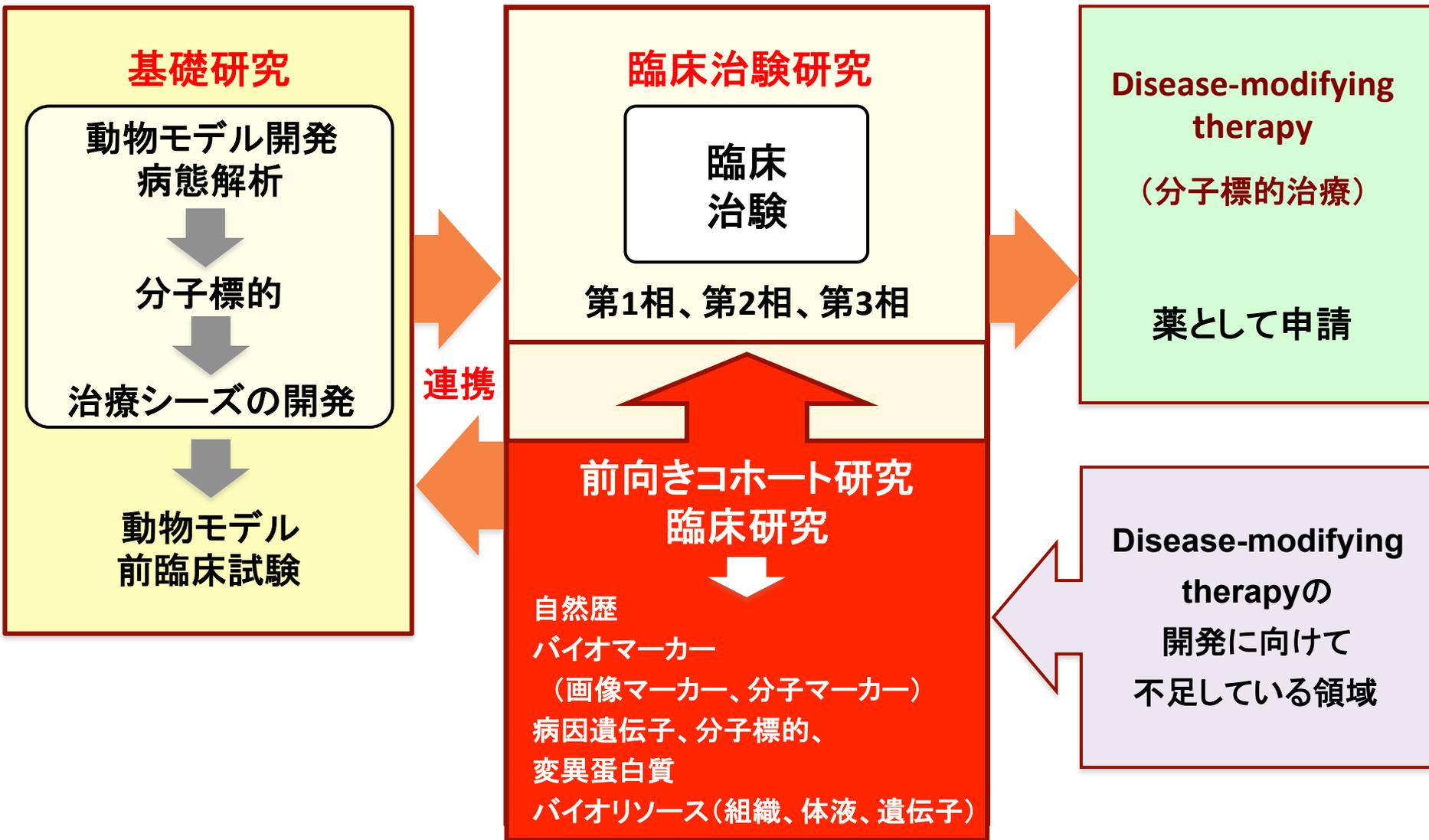


JM Fearnly, et al. Brain.
114:2283-301, 1991

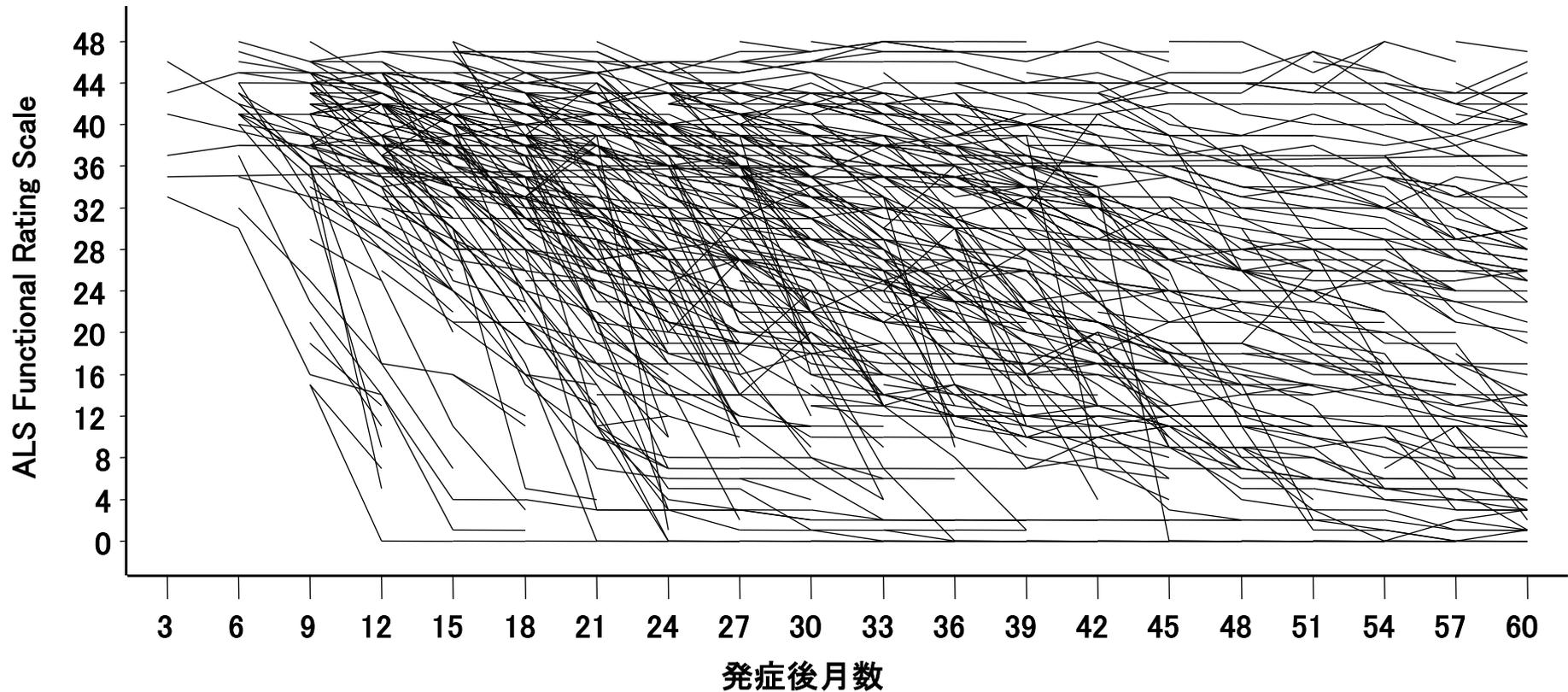


前向きコホート研究・臨床研究の重要性

Disease-modifying therapy (分子標的治療) へのプロセス



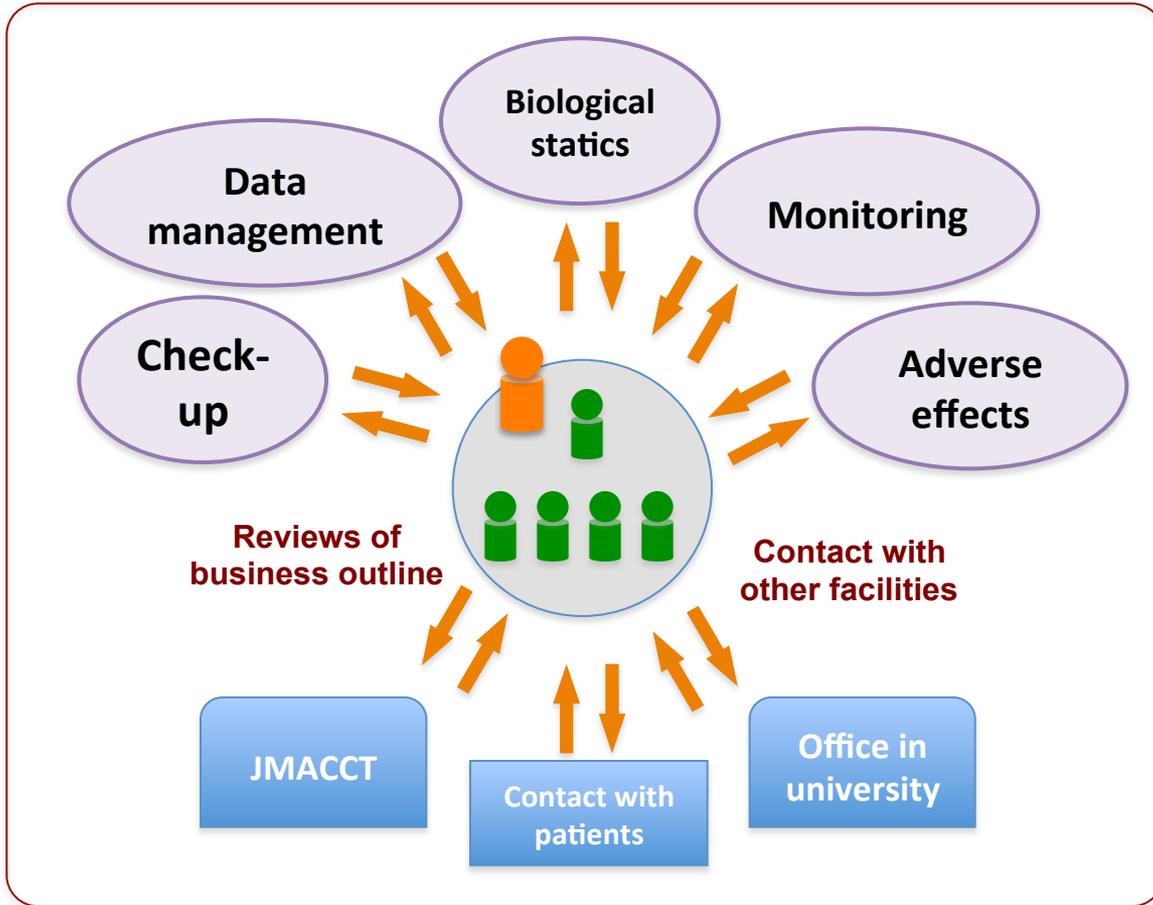
発症後のALSFRS-R経過



ALS患者の進行は極めて多様

➡ **進行を左右している遺伝子・分子が分かれば、
直接的な治療介入標的となりうる**

教育の重要性 SBMAに対するリユープロレリンの医師主導治験 (JASMITT)



Conferences (in constant)



臨床試験のデザイン、生物学的統計、データ管理、副作用事象の取り扱い、GCPのための行政科学に関する教育、等

On-the-job educationが重要 (experiences and practices)

孤発性筋萎縮性側索硬化症(ALS)の disease-modifying therapyの開発をめざして

遺伝性疾患は病態解析が進んでいるが、孤発性疾患については依然研究のストラテジーが見えてきていない。
どうアプローチするか。

筋萎縮性側索硬化症 (ALS)

- ・進行性の運動ニューロン変性、平均3-5年で死亡・呼吸器装着
- ・5-10%は家族性。新規原因遺伝子の発見が相次いでいる

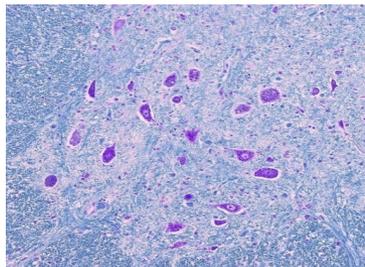
孤発性が90-95%を占め、病態・病因の解明は遅れている



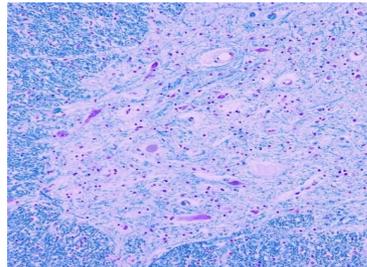
孤発性ALSの病態解明・治療法開発が大きな課題
どうしたらよいか？

脊髄運動ニューロンの脱落

正常



ALS



ALS患者

舌萎縮



上肢の筋萎縮



孤発性ALSの病態解明と標的分子探索の私達のストラテジー

ストラテジー①

前向き患者コホート

ゲノム、不死化細胞、血清などと臨床症状・経過を前向きにコホート研究を行う⇒phenotypeに影響する遺伝子を探索

JaCALS (Japanese Consortium for ALS research)

ストラテジー②

患者組織分子イベント再現モデル

患者運動神経・グリア細胞に特異的に発現変化している分子を探索⇒これをmimicする動物モデル作出・解析

患者脊髄を用いた網羅的遺伝子発現解析

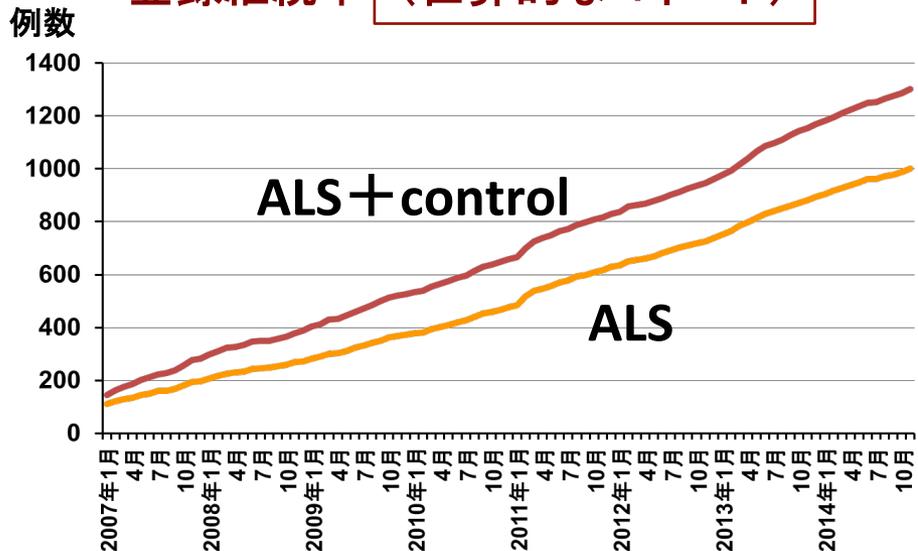
GluR2 RNA編集酵素ADAR2, dynactin1, cyclin Cなど

治療(分子標的治療)の開発

①のストラテジーとして

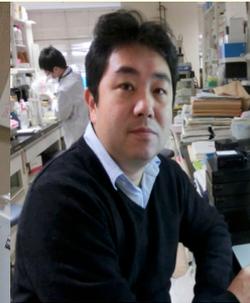
我が国初の前向きALS患者コホート確立 JaCALS (Japanese Consortium for ALS research)

- 多施設共同ALS患者コホート(2006年スタート)
- 前向き臨床像を把握
- 遺伝子、不死化細胞、生体試料リソース
(血清、髄液)を蓄積
- 全国30施設が参加
- ALS患者1007例、コントロール301例登録
登録継続中 (世界的なコホート)



北海道大学
東北大学
新潟大学
群馬大学
宮城病院
自治医科大学
東京大学
東京都立神経病院
順天堂大学
東京病院
東京医科大学
東邦大学大森病院
千葉大学
国立精神神経センター
山梨大学
相模原病院
静岡富士病院
静岡てんかん神経医療センター
名古屋大学
東名古屋病院
三重大学
鈴鹿病院
京都大学
京都府立医科大学
拓海会神経内科クリニック
岡山大学
ビバーラ花の里病院
徳島大学
鳥取大学
九州大学

JaCALSグループ

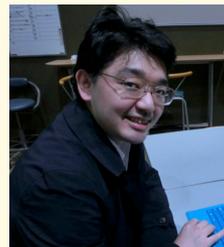


平川先生



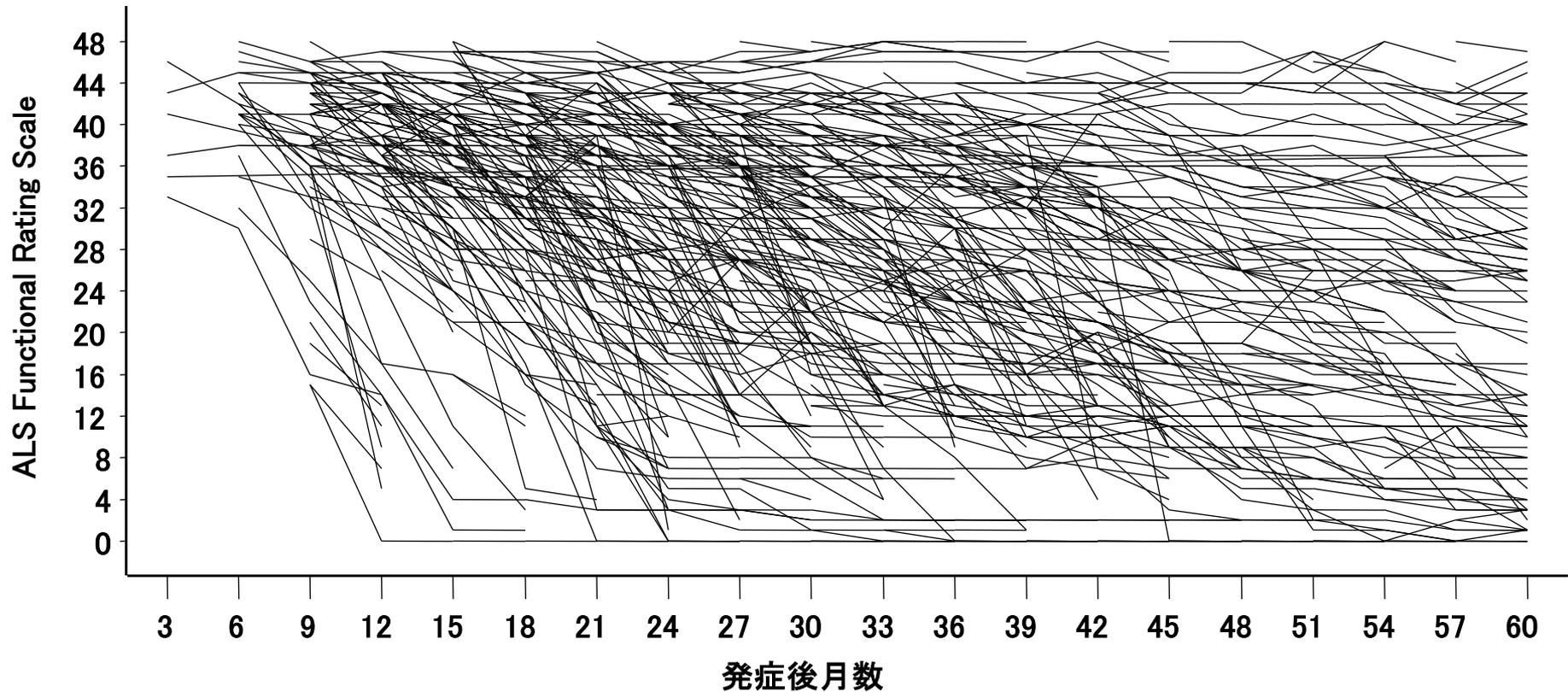
中橋先生

ALS分子グループ



**孤発性ALSの進行・予後を
規定する病態遺伝子／分子の探索
(GWAS(65万SNPs)、エクソーム解析)**

発症後のALSFRS-R経過



ALS患者の進行は極めて多様

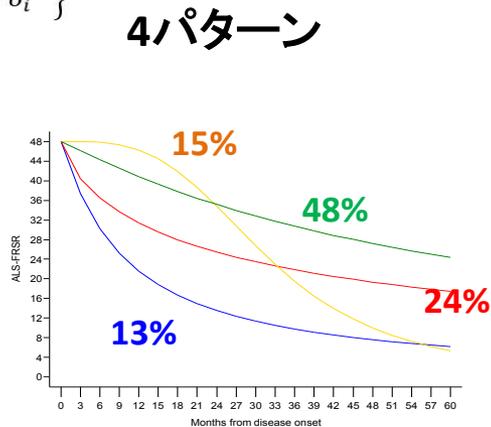
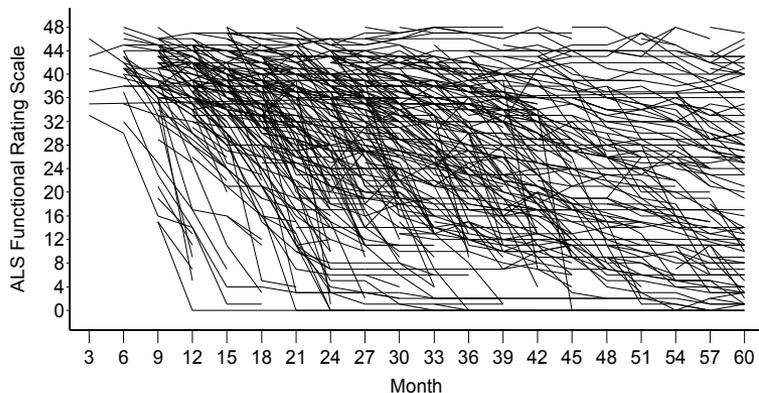
➡ **進行を左右している遺伝子・分子が分かれば、
直接的な治療介入標的となりうる**

経過・進行の類型化

- スケールの経時的変化を混合モデルにて類型化する
 - 時間変化に対して、どのような類型が潜んでいるかを調べる

仮定するモデル $Y_{ij} \sim \sum_{i=1}^K p_i N(\mu_i, \sigma^2), \text{ただし} \sum_{i=1}^K p_i = 1$

Four-parameter logistic model: $\mu_i = 48 - \frac{48 \times \text{時間}^{\beta_i}}{\{\text{時間}^{\beta_i} + \delta_i^{\beta_i}\}}$



%MCMC2(p1=0.1,p2=0.1,p3=0.1,
b1=1,b2=1,b3=1,b4=1,b5=5,b6=20,b7=30,b8=60,se
ed=1495);/*finalmodel 131016*/

<遺伝子多型解析>

70万 SNPs + 25万 exome variants をタイピング

(Illumina社 HumanOmniExpressExome BeadChip)

