



2024 年 月 日

報道関係者各位

慶應義塾大学
三重大学

紀伊半島の神経難病である ^{むろ}牟婁病 (Kii ALS/PDC) の
グリア細胞に関わる病態を解明
ーiPS 細胞創薬への糸口を見出すー

慶應義塾大学再生医療リサーチセンターの岡野 栄之 センター長/教授（研究当時：慶應義塾大学医学部生理学教室・教授）、理化学研究所のニコラ ルヴァントウ 特任助教（研究当時：慶應義塾大学医学部生理学教室・特任助教）、慶應義塾大学殿町先端研究教育連携スクエアの森本 悟 特任准教授（研究当時：慶應義塾大学医学部生理学教室・専任講師）、三重大学大学院地域イノベーション学研究所の小久保 康昌 招聘教授らの研究グループは、紀伊半島に多発する筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合（牟婁（むろ）病）患者 iPS 細胞モデル（注1）を用いて、病気に重要な役割を果たすと考えられているアストロサイト（注2）を作製して、CHCHD2（注3）というミトコンドリア機能に重要な遺伝子およびタンパク質が、著明に低下していることを明らかにしました。さらに、アストロサイトの神経保護機能が低下していること、機能を回復する手法、そして実際の患者脳脊髄内アストロサイトでも CHCHD2 の異常をきたしていることを突き止めました。

牟婁病という病名が書物に記載されてから 300 年以上、当該疾患の原因については不明なままでしたが、今回患者 iPS 細胞モデルおよび高純度な細胞分化誘導技術を用いることで、重要な病態の一端を明らかにし、iPS 細胞創薬（注4）に繋がる糸口を見出すことに成功しました。

この研究成果は、これまで疾患モデルも存在せず謎に包まれていた牟婁病の病態を明らかにし、本疾患の理解や創薬に向けて、大きく加速するものと考えます。

本研究成果は 2024 年 5 月 16 日に、神経疾患の病理学および病因に関する著明な科学雑誌である「Acta Neuropathologica」誌（オンライン）にて公開されました。

1. 本研究のポイント

- ・牟婁病（筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合：Kii ALS/PDC）は、紀伊半島に多発する神経難病で、筋萎縮性側索硬化症（ALS）（注5）、パーキンソン症状（注6）、あるいは認知症が同一患者さんに出現します。
- ・牟婁病では、脳や脊髄における様々な種類の神経細胞やグリア細胞に異常をきたすことから、脳脊髄全体に分布するアストロサイトの役割が重要と考えられています。
- ・本研究では、患者さんの血液細胞から iPS 細胞を樹立し、独自の方法でアストロサイトを高効率に分化誘導することに成功しました。
- ・前記患者アストロサイトを解析したところ、CHCHD2 というミトコンドリア機能に重要な遺伝子およびタンパク質の発現が著明に低下し、ミトコンドリアの減少やクリステ（注7）の形態異常も伴い、神経を保護する機能が低下していることを突き止めました。
- ・さらに、遺伝子導入により CHCHD2 の発現を回復することにより、部分的に患者アストロサイトの機能を改善しました。また、ミトコンドリア機能を改善し、患者アストロサイトの機能回復を誘導する低分子化合物を見出す事にも成功しました。

・最後に、亡くなられた患者さんの脳脊髄アストロサイトにおける CHCHD2 の発現を検索したところ、当該タンパク質が減少していることも明らかにしました。

2. 研究背景

太平洋熊野灘に面する紀伊半島の南岸一帯は、江戸時代までは紀伊国の牟婁と呼ばれていました。この地域の中心部を流れる古座川地域には、「古座の足萎え病」の伝承があり、明治末にはわが国の神経学の創始者である三浦謹之助によって、紀伊から紀勢にかけての紀伊半島南岸に ALS が多発することが指摘されていました。

また、和歌山県立医科大学精神科の木村潔と八瀬善郎が、牟婁の風土病である「古座の足萎え病」が ALS であること、紀伊半島南岸にグアム島や西ニューギニアに並ぶ ALS 高集積地があることを突き止めました。

その後の研究から、紀伊半島集積地の ALS (紀伊 ALS) は神経病理学的には中枢神経系に Alzheimer 神経原線維変化 (NFT) (注 8) が多発し、他多発地 ALS と同質の疾患と考えられていました。

1980 年代には ALS の発生が激減しましたが、1990 年に三重大学神経内科の初代教授である葛原茂樹が ALS の多発が持続していること、同じ集落にグアム島の病気であったパーキンソン・認知症複合 (PDC) が併せて多発していることを見出しました (紀伊 PDC)。現在では、神経病理学的に紀伊 ALS と紀伊 PDC は同一の疾患と考えられており、ALS/PDC と一つに括られます。

本疾患については、患者さんの記載から 300 年以上経過した現在もなお、多発の原因に関しては、環境因、遺伝素因ともに解明されていません (Kuzuhara S, et al. Ann Neurol 2001, Kuzuhara S. Rinsho Shinkeigaku 2021)。

さらに、近年慶應義塾大学の岡野らのグループが、原因となる遺伝子や病態背景が確定していない疾患に対する病態解析プラットフォームおよび iPS 細胞創薬という新たな創薬様式を確立しました (Fujimori K et al. Nat Med 2018, Okano H and Morimoto S. Cell Stem Cell 2022, Morimoto S, et al. Cell Stem Cell 2023)。

3. 研究内容・成果

上記の背景から、慶應義塾大学 (ニコラ ルヴァントウ 特任助教、森本 悟 専任講師、岡野 栄之 教授、他〈研究当時〉) と三重大学 (小久保 康昌 招聘教授) の共同研究により、5 名の Kii ALS/PDC 患者さんにご協力を頂き、血液細胞から患者 iPS 細胞を樹立しました。

さらに、Kii ALS/PDC の病態として重要なアストロサイトを、患者 iPS 細胞から独自の技術を用いて分化誘導しました (図 1)。

患者アストロサイトは、活性型アストロサイト (注 9) の形態をとる傾向にあり、細胞自体に何らかの異常があることが推察されました (図 1)。そこから、細胞の RNA-seq 解析 (注 10) を行ったところ、ミトコンドリアという細胞を維持するための細胞内小器官の機能に非常に重要なタンパク質である「CHCHD2」をコードする遺伝子の発現が著明に低下していることが分かりました。さらに、患者アストロサイトでは、CHCHD2 タンパク質の発現低下および異常凝集 (図 1)、ミトコンドリア数の減少およびクリステの異常、それに伴うと思われるグルタミン酸再取り込み能 (注 11) の低下および活性低下 (酸素消費速度の低下) を認めました。これにより、患者アストロサイトでは、神経細胞への保護効果が減少していると考えられます。さらに、Elamipretide というミトコンドリア機能改善薬や CHCHD2 遺伝子の発現を回復させてやることで、グルタミン酸再取り込み能が改善することも確認しました。

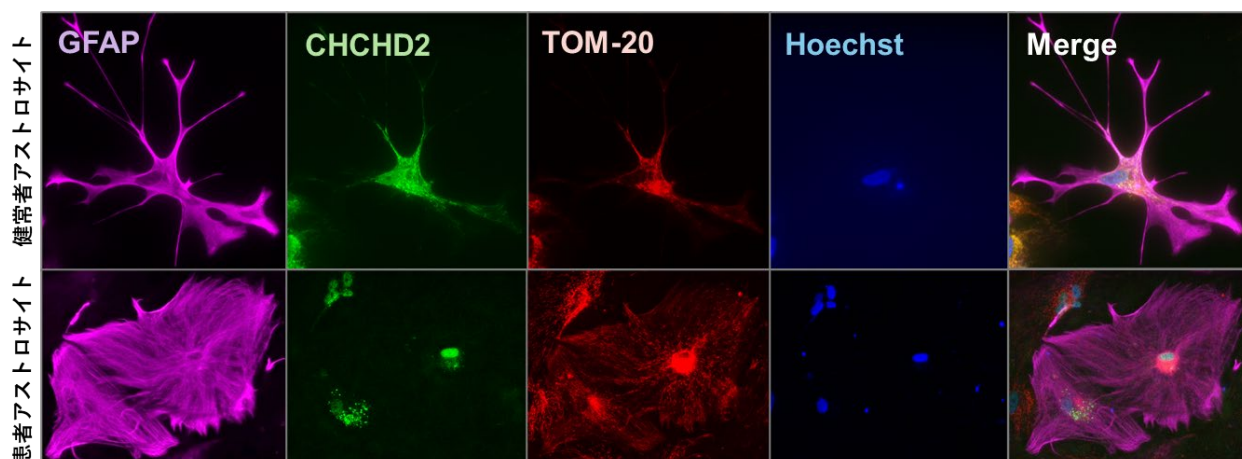


図1 健康者および患者 iPS 細胞から作製したアストロサイトと CHCHD2 タンパク質およびミトコンドリアの異常（減少）

患者 iPS 細胞からアストロサイト（GFAP 染色）を作製したところ、細胞体の大きな肥はん型（活性型アストロサイト）への変化、GFAP タンパク質の発現上昇、CHCHD2 タンパク質の減少・異常凝集、およびミトコンドリア（TOM-20 染色）の減少を認めました。

さらに重要なことに、亡くなられた患者さんの剖検脳・脊髄を調べてみると、iPS 細胞由来アストロサイトでの変化と同様に、CHCHD2 タンパク質が、大脳皮質運動野および脊髄前角（いずれも ALS や Kii ALS で障害を受ける脳領域）にあるアストロサイトで減少していることも明らかにしました（図2）。

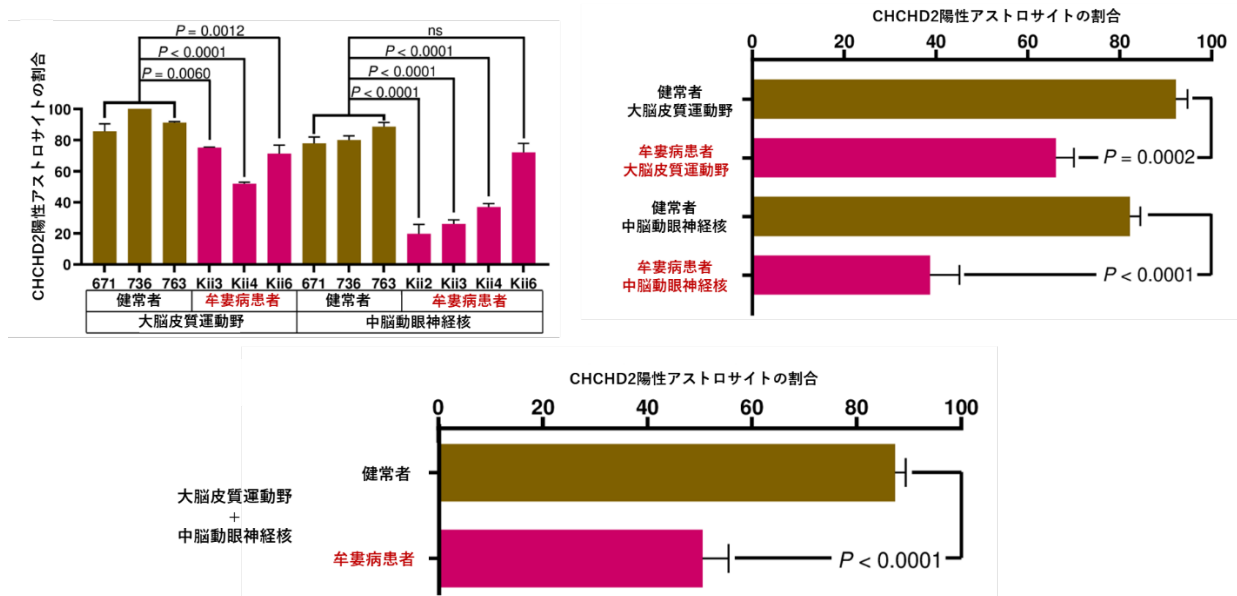


図2. 患者脳内アストロサイトにおける CHCHD2 タンパク質の減少（定量化）

4. 今後の展開

本研究成果から、患者 iPS 細胞由来アストロサイトは、患者さんの脳脊髄内で起きている病態を再現できることがわかりました（図3）。このことは、疾患特異的 iPS 細胞が、Kii ALS/PDC のような明らかな遺伝子異常を含む原因が分かっていない疾患の病態を研究する際にも、非常に有効なモデルであることを示しています（動物モデルでは、孤発性疾患（注1 2）等の原因が不明な疾患

に対してのアプローチが難しい)。さらに、iPS 細胞由来アストロサイトで効果を認めたミトコンドリアに対する治療手法についても、iPS 細胞創薬に繋がる重要な知見であると考えています。

今後は、アストロサイトのみではなく、Kii ALS/PDC で障害を受ける運動ニューロンや大脳皮質ニューロンなど、様々な細胞種に関しても病態解析や薬剤アプローチを行い、CHCHD2 が減少している機序の解明や病気の改善につながる創薬に繋げていきます。

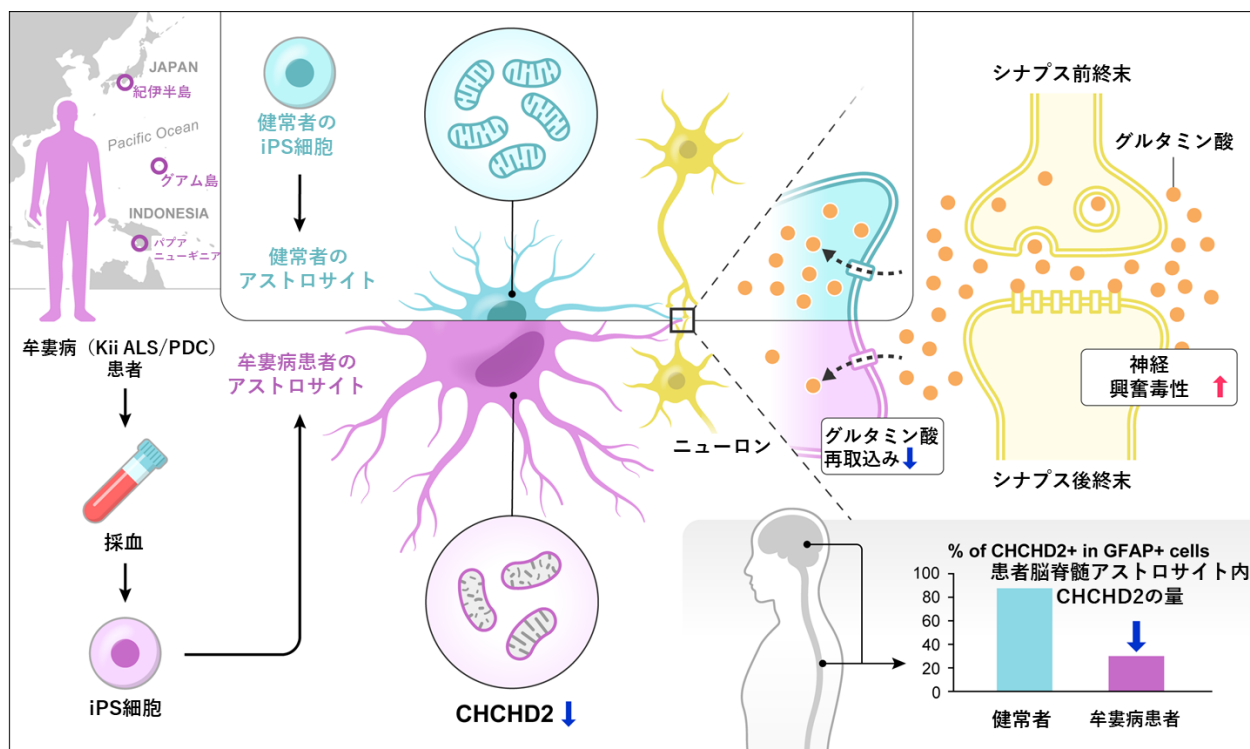


図 3. 本研究成果の概要

疾患克服のために本研究にご協力を頂きました患者様、ご家族、ご遺族の方々に深く感謝申し上げます。

5. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）（再生医療実現拠点ネットワークプログラム事業・神経疾患特異的 iPS 細胞を活用した病態解明と新規治療法の創出を目指した研究、難治性疾患実用化研究事業・疾患特異的 iPS 細胞創薬に基づいた筋萎縮性側索硬化症(ALS)治療における薬剤応答性評価技術の開発、難治性疾患実用化研究事業・iPS 細胞創薬に基づいた新規筋萎縮性側索硬化症(ALS)治療薬であるロピニロール塩酸塩の実用化第 1/2a 相試験、再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム・筋萎縮性側索硬化症における病態回避機構の解明と治療に資する層別化技術開発、再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム・革新的 RNA 編集技術を用いた筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療開発、脳とこころの研究推進プログラム・孤発性筋萎縮性側索硬化症の双方向トランスレーショナル研究による病態介入標的の同定と核酸医薬の開発研究、ゲノム創薬基盤推進研究事業・RNA 標的医薬創出に資する、疾患 RNA 分子完全長一次構造に関するデータ基盤の構築）、JSPS 科学研究費助成事業（科研費）JP20H00485, JP21F21410, JP21H05278, JP22KF0333, JP22K07500, JP22K15736、公益財団法人三重医学研究振興会、公益財団法人難病医学研究財団、公益財団法人かなえ医薬振興財団、公益財団法人上原記念生命科学財団、宮田幸比古記念 ALS 研究助成基金、公益財団法人岡三加藤文化振興財団、日本 ALS 協会小出

良夫基金、公益財団法人第一三共生命科学研究振興財団、UBE 学術振興財団の研究助成を受けて実施されました。

<参考文献>

Kuzuhara S, et al. Familial amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Kii Peninsula of Japan: clinical and neuropathological study and tau analysis. *Ann Neurol*. 2001 Apr;49(4):501-11.

Kuzuhara S. "Endemic paraplegia of Koza in Kii" in *Honcho Koji Innen Shu* published in 1689 is probably the earliest description of amyotrophic lateral sclerosis of Kii Peninsula: Presentation of the original and investigation of factuality. *Rinsho Shinkeigaku*. 2021 Dec 22;61(12):815-824.

Fujimori K, Ishikawa M, Otomo A, Atsuta N, Nakamura R, Akiyama T, Hadano S, Aoki M, Saya H, Sobue G, Okano H. Modeling sporadic ALS in iPSC-derived motor neurons identifies a potential therapeutic agent. *Nat Med*. 2018 Oct;24(10):1579-1589.

Okano H, Morimoto S. iPSC-based disease modeling and drug discovery in cardinal neurodegenerative disorders. *Cell Stem Cell*. 2022 Feb 3;29(2):189-208.

Morimoto S, et al. Phase 1/2a clinical trial in ALS with ropinirole, a drug candidate identified by iPSC drug discovery. *Cell Stem Cell*. 2023 Jun 1;30(6):766-780.e9.

<原論文情報>

英文タイトル: Aberrant CHCHD2-associated mitochondriopathy in Kii ALS/PDC astrocytes

タイトル和訳: 紀伊 ALS/PDC アストロサイトにおける CHCHD2 関連ミトコンドリア異常症

著者名: Nicolas Leventoux*; Satoru Morimoto*; Mitsuru Ishikawa; Shiho Nakamura; Fumiko Ozawa; Reona Kobayashi; Hirotaka Watanabe; Sopak Supaku; Satoshi Okamoto; Zhi Zhou; Hiroya Kobayashi; Chris Kato; Yoshifumi Hirokawa; Ikuko Aiba; Shinichi Takahashi; Shinsuke Shibata; Masaki Takao; Mari Yoshida; Fumito Endo; Koji Yamanaka; Yasumasa Kokubo†; Hideyuki Okano†,

* contributed equally, † co-correspondence

掲載雑誌: *Acta Neuropathologica*

DOI: 10.1007/s00401-024-02734-w

<用語説明>

※1 iPS 細胞: 体細胞に特定因子を導入することにより樹立される多能性幹細胞であり、ヒト人工多能性幹細胞 (human induced pluripotent stem cell) を用いて、唯一患者さんの遺伝子情報をすべて受け継いだ病気のモデルを作成することができる。

※2 アストロサイト: 脳脊髄内のグリア細胞の一種で、主に神経系組織の支持と保護に関与している。また、神経細胞の間の隙間を埋め、栄養素の供給、代謝廃棄物の除去、そして神経細胞の電気的および化学的環境の調節を行う。

※3 CHCHD2: ミトコンドリアの機能に関与するタンパク質であり、酸化的リン酸化と呼ばれるプロ

セスを通じて ATP（アデノシン三リン酸）を生成する過程で必要。この遺伝子の変異は、ミトコンドリアの機能に影響を与え、パーキンソン病や筋萎縮性側索硬化症に関連することが知られている。

※4 iPS 細胞創薬：これまでの創薬の多くが動物モデルを用いて行われていたが、患者 iPS 細胞モデルを用いて、薬や治療法を開発する新しい創薬様式。

※5 筋萎縮性側索硬化症：運動神経が選択的に障害され、運動麻痺、嚥下障害、呼吸不全を来して、約 2-4 年で致死的な経過を辿る神経難病。根治療法は未だない。

※6 パーキンソン症状：動きが遅くなる・少なくなる（無動）、手足が震える（振戦）、手足の関節が硬くなる（筋強剛）、転倒しやすくなる（姿勢反射障害）を 4 徴とする、パーキンソン病で主として認められる症状。

※7 クリステ：ミトコンドリア内膜の畳み込まれた部分。ミトコンドリアは細胞内のエネルギー生産の中心であり、その内部には内膜と外膜と呼ばれる二重膜が存在し、内膜には電子伝達系や ATP 合成酵素などの重要なタンパク質が含まれる。

※8 Alzheimer 神経原線維変化（NFT）：アルツハイマー病の病理学的特徴の一つ。神経細胞内で異常な形成を示すタンパク質の凝集体であり、主にタウタンパク質からなる。

※9 活性型アストロサイト：通常のアストロサイトよりも活動が増し、さまざまな生理学的プロセスに関与する。例えば、脳損傷後や炎症性疾患の場合、活性型アストロサイトは、損傷部位の修復を促進するために増殖し、炎症性サイトカインの分泌、脳の血管新生の促進、または神経細胞の再生のサポートなどの機能を担う。

※10 RNA-seq 解析：遺伝子転写産物（mRNA）の発現を網羅的かつ定量的に解析するための分子生物学的手法。

※11 グルタミン酸再取り込み能：神経系細胞におけるグルタミン酸を再取り込む能力。グルタミン酸は、中枢神経系で最も豊富な興奮性神経伝達物質の一つであり、シナプス間隙に放出されることで神経細胞間の情報伝達を担う。グルタミン酸がシナプス間隙に放出された後、神経系細胞はそれを再取り込むことでシナプス後細胞への刺激を制御し、興奮性信号を適切に調節する。アストロサイトのグルタミン酸再取り込み能力が低下すると、シナプス間隙にグルタミン酸が過剰に蓄積し、興奮性神経細胞が過剰に刺激され、興奮毒性につながり、神経細胞の損傷や死につながる。そのため、正常な神経機能を維持するためには、グルタミン酸再取り込み能力の適切な調節が重要。

※12 孤発性疾患：原因が不明であるか、特定の原因が特定されない疾患。つまり、症状や疾患が発生する原因が分かっていない場合に使われる用語。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等（配信時に調整）に送信させていただいております。

・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 再生医療リサーチセンター センター長 岡野 栄之（おかの ひでゆき）

TEL : 044-276-2388 FAX : 044-276-2388 E-mail : hidokano@a2.keio.jp

・本リリースの配信元

慶應義塾広報室（豊田玲） TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

E-mail : m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>

三重大学広報室（作野光祐） TEL : 059-231-9794 FAX : 059-231-9000

E-mail : koho@ab.mie-u.ac.jp <https://www.mie-u.ac.jp/>