

# 弘前大学医学部附属病院で病理解剖を受けられた患者さんの家族の 皆様へ

研究機関名： 弘前大学大学院医学研究科

脳神経病理学講座

研究責任者： 三木 康生

当院では患者さんの試料・情報を利用させていただき、下記の研究を弘前大学大学院医学研究科倫理委員会の承認ならびに研究機関の長の許可のもと、倫理指針および法令を遵守して実施します。

本研究への協力を望まれないご家族の方は、下記連絡先までお申し出くださいますようお願いいたします。

**臨床研究名称** 発症前の多系統萎縮症における変性カスケードの解明 (The clarification of degenerative cascades in preclinical multiple system atrophy)

## 研究の目的

多系統萎縮症（multiple system atrophy: MSA）は治療法のない難病で、治療法の開発にはなぜ病気が起こっているか（病態といいます）を理解することが大切です。しかし、これまでの病態解析は病気が高度に進行した患者さんの剖検脳を用いて行われてきました。しかし、進行期では病気の原因（変性）と変性に引き続いて起こった炎症などが複雑に影響しあい、病態の因果関係を明確にできませんでした。

そこで本研究では、弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座および米国 Mayo Clinic が有する発症前（超病早期）の MSA 剖検脳 5 例を対象とした解析を行います。これら患者脳を用い、Photo-Isolation Chemistry 法と呼ばれる超高感度空間トランスクリプトーム解析 [Honda *et al.* Nat Commun 2021] と Bruker 社の空間マルチオミクス解析（空間トランスクリプトーム解析ならびに空間プロテオーム解析）を組み合わせ、変性が始まった細胞や健常細胞、周囲のグリア細胞における分子の変動をこれまでにない高解像度で網羅的に解析します。また、解析結果が新潟大学脳研究所から提供された別の MSA 患者さんの脳でも起こっているかも調べます。以上の解析により、MSA の最も重要な病態を分子レベルで特定し、それを標的とした新規治療法の基盤を構築することを目的としています。

**研究実施期間** 実施許可日 ～ 2028 年 3 月 31 日

**対象となる方** 空間マルチオミクス解析ならびに Photo-Isolation Chemistry 法で解析する患者さんは発症前 MSA 患者さんそれぞれ 5 例です。弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座に保存されている発症前 MSA 患者脳は 2000 年 2 月～2025 年 3 月 31 日までに蓄積された 1 例を対象とします。また、Mayo Clinic Brain Bank に保存されている発症前 MSA 患者

脳は 1893 年～2025 年 3 月 31 日までに蓄積された 4 例を対象とします。Mayo Clinic に蓄積された症例から作られた標本は同施設から弘前大学に輸送し、その後 Photo-Isolation Chemistry 法のために熊本大学に、空間マルチオミクス解析には日本にある Bruker 社に標本を輸送します。一方、新潟大学脳研究所に保存されている患者脳は 1938 年～2025 年 3 月 31 日までに病理解剖された多系統萎縮症患者脳 25 症例と年齢と性別を一致させた正常対照 25 例を対象とします。これらの患者さんの剖検脳（凍結脳ならびにパラフィン包埋切片）は弘前大学脳神経病理学講座に輸送され、空間マルチオミクス解析ならびに Photo-Isolation Chemistry 法で得られた解析結果を検証します。

### 利用させていただきたい試料・情報について

空間マルチオミクス解析は弘前大学大学院医学研究科に保存された発症前 MSA 剖検脳 1 例と Mayo Clinic に蓄積された発症前 MSA 剖検脳 4 例の橋、被殻、側頭葉、後頭葉の凍結脳ならびに橋、被殻、側頭葉、後頭葉から 10 $\mu$ m 厚ホルマリン固定パラフィン包埋切片を作成し、Bruker 社が提供する空間マルチオミクス解析を行います。一方で、Photo-Isolation-Chemistry 法にも同じ 5 例の凍結脳（橋、被殻、側頭葉、後頭葉）を用いて行います。Mayo Clinic から本学に輸送された凍結脳から 10  $\mu$  m 厚の凍結切片を作製し、本学から熊本大学沖教授の教室に空輸します。そして、熊本大学で沖教授が Photo-Isolation-Chemistry 法で解析します。次に、解析に用いた標本に異常  $\alpha$  シヌクレインのマーカである抗リン酸化  $\alpha$  シヌクレイン抗体や各種細胞のマーカ抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、イメージングを行います。解析で得られたデータと重ね合わせることで、細胞種ごとに起こっている変化を詳細に評価ができます。

以上の解析により、MSA における超病早期の異常が明らかになります。そこで、解析で得られた分子の変動が独立した別群の MSA 患者さんの脳でも見られるか検証します。新潟大学脳研究所に蓄積された MSA 剖検例 25 例と正常対照 25 例の橋ならびに被殻から作成したホルマリン固定パラフィン包埋切片を作製し、弘前大学脳神経病理学講座に輸送します。これらの標本を用いて発症前に変動のあった分子の転写産物とタンパク質を RNA scope、免疫組織化学染色、proximity ligation assay などの病理学的手法で評価します。また、タンパク質や転写産物の変動は同じ症例の凍結脳（橋と被殻; MSA: N = 25, 正常対照: N = 25）をウエスタンブロット解析や PCR を用いて評価します。そして、変動のあった分子と臨床データ（年齢、罹病期間、臨床症状の重症度や神経画像のデータなど）と相関が見られるかどうか検証します。

### 外部への試料・情報の提供

まず、Mayo Clinic から弘前大学にホルマリン固定パラフィン包埋切片 4 例と凍結組織 4 例が輸送されます。その後、Photo-Isolation-Chemistry 法のために、Mayo Clinic から郵送された凍結組織 4 例と弘前大学に蓄積された 1 例が熊本大学に郵送されます。一方、Bruker 社が提供する空間マルチオミクス解析には、Mayo Clinic から提供されたホルマリン固定パラフィン包埋切片 4 例と弘前大学に蓄積されたホルマリン固定パラフィン包埋

切片 1 例が同社に郵送されます。なお、新潟大学から弘前大学に提供される症例はこれらの検査には用いませんので、外部への提供はありません。また、これらの輸送の際に、個人を特定できる情報は当該施設に送られません。

本研究課題について、より詳細な内容をお知りになりたい場合は下記へご連絡ください。ご家族の方から、試料・情報の利用停止を求める申し出があった場合は、当該患者さんの試料・情報については対象から除外します。なお、研究参加を撤回できるご遺族は、研究対象者の配偶者、父母、兄弟姉妹、子・孫、祖父母、同居の親族又はそれら近親者に準ずると考えられる者（未成年者を除く。）とさせていただきます。また、連絡いただいた時点で既に研究成果公表済の場合は、該当者のデータのみを削除する等の対応は出来かねますので、ご了承ください。

<b>本件連絡先</b>	弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座・三木 康生 0172-39-5135/yasuomiki@hotmail.com
--------------	--