

令和 2 年度 学内研究助成金 研究報告書

研 究 種 目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研 究 課 題 名	非翻訳領域反復配列延長による筋萎縮性側索硬化症の病態解明と治療法開発	
研究者所属・氏名	研究代表者： 医学部 平野 牧人 共同研究者： 医学部 福田 寛二、竹原 俊幸	

1. 研究目的・内容

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は、顔面、四肢、体幹、呼吸筋を支配する運動ニューロンの変性により、筋肉が徐々に萎縮する予後不良の神経難病である。現在、原因・根治療法は確立されていない。治療を考えるためにも、原因探索は重要である。私たちは、孤発性 ALS 患者を対象として、脊髄小脳萎縮症 8 型(SCA8)の原因遺伝子 *ATXN80S* の非翻訳領域反復配列延長を解析した結果、約 3 % に異常が認められることを発見し、報告した(*Neurol Genet* 2018;4:e252)。本研究では、病理学的に確定した ALS 患者 49 例を含む 250 例を対象に、神経・筋疾患に関連する非翻訳領域の反復配列を解析し、新たな ALS 原因遺伝子の同定と、ALS 患者 iPS 細胞由来の運動ニューロンモデルの構築、さらに異常 RNA の発現・作用抑制に関する治療法開発を目指す。

2. 研究経過及び成果

本年度は、新たに病理学的に筋萎縮性側索硬化症(ALS)と確診された *ATXN80S* 遺伝子陽性患者について、免疫染色を試みた。抗体は、新たに作製した非 ATG 依存性(RAN)翻訳により産生されるペプチドに対する抗体を用い、患者の前頭葉の蓄積を解析した。その結果、一部細胞に蓄積がある事が確認された。また、ALS 患者さんのスクリーニングにより 2 名を新規に同定し、それぞれの線維芽細胞も樹立し終えた。原因となる遺伝子発現に対して、それを抑制するための siRNA を作製し、発現抑制が生じるかを検討した。その結果、部分的に抑制があることが判明した。しかし、抑制の程度は不安定であり、実験ごとのばらつきが多かった。

さらに、別の非翻訳領域を有する遺伝子 X の配列延長が、ALS で多いことを発見し、現在、配列の詳細解析と、病原性についての確認を行っている。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

本年度は、最も病理学的変性の中心である脊髄を用いて新規作成した抗体を用いて、免疫染色を行う予定である。また、siRNA に関しては、ある程度低下させることができるものもあるが、いまだ安定せず、不十分であり、さらに、配列の位置や、鎖長、化学修飾を変更して、効率よく変異遺伝子の発現が低下するものを見出す。新規遺伝子に関しては RAN 翻訳でできるペプチドに対する抗体を用いて、免疫染色を行う予定である。

4. 成果の発表等

発 表 機 関 名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
日本神経学会総会	口演	2020 年 9 月
J Neurol	雑誌	2021 年 2 月