

## 令和4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"/> 国際共同研究推進助成金
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
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：医学部内科学教室（脳神経内科部門）平野 牧人 共同研究者：医学部リハビリテーション医学教室 福田 寛二 近畿大学高度先端総合医療センター（再生医療部） 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、病理学的に筋萎縮性側索硬化症 (ALS) と確診された SCA8 関連 ALS 遺伝子陽性患者の脊髄運動ニューロンに対して、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複数用い、細胞質内に蓄積を解析した。その結果、2 種類の抗体で、凝集が見られた。SCA8 関連 ALS 患者 iPS 細胞由来の運動ニューロン (iMN) を用いて、同様に染色を行ったが、その結果として、脊髄と同様に 2 種類の抗体で凝集が見られた。このことから、iMN は SCA8 関連 ALS において障害される脊髄運動ニューロンの病態に近いことが分かった。すなわち、この iMN は細胞死が対照よりも、生じやすいことのみならず、その病態も類似した細胞モデルであると判断した。siRNA 6 種類を作製して、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、治療効果を検討した。その結果、遺伝子発現は有意に抑制され、細胞死も有意に抑制された。また、新規に反復配列を有する、遺伝子については、患者群で有意に多くの変異がみられたものが同定された。残念ながら、それに関する RAN 翻訳の抗体では、有意な染色は、患者前頭葉では見られなかった。

### 3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究を通して SCA8 関連 ALS の細胞モデルが構築でき、今回、病的 RNA 発現減少を核酸治療薬にて、治療を試み成功したが、今後、低分子治療薬の開発に用いる予定である。また、新規の遺伝子で生じる RAN 翻訳に対する抗体を 1 種作製したが、今後、さらに、抗体を作製し、組織染色、iMN 染色をおこなう。

#### 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)
日本神経学会学術大会	口頭	2022年5月19日