

令和元年度（平成 31 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	筋萎縮性側索硬化症の患者由来運動ニューロンモデルの病態解明と治療薬開発	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部脳神経内科・平野牧人 共同研究者：高度先端総合医療センター再生医療部・福田寛二 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。近年その治療に焦点があてられているが、効果は十分でなく、病状は進行し、患者は治療を断念することが多い。申請者は、孤発性 ALS 患者の遺伝子診断により、遺伝子変異陽性者を含む 4 例の患者由来 iPS 細胞を樹立し、さらに現在順次作製中である。iPS 細胞から通常の神経細胞を誘導すると細胞質内に、病理所見で見られる p62 陽性細胞質内凝集体が観察された。次に、正常対照 iPS 細胞の運動ニューロンへの分化誘導も成功した。一方、患者由来の運動ニューロンは生存率が低下し、何らかの治療が必要と考えられる。これら ALS の培養モデルを用いて病態機序解明を行い、剖検組織で検証し、治療薬候補を開発する。

2. 研究経過及び成果

① iPS 細胞の運動ニューロンへの分化とシグナル伝達系の解析

iPS 細胞は患者線維芽細胞から ALS 4 例、対照 2 例で作製済である。このうち、2 例は p62 遺伝子の変異を有している。最近報告された比較的短時間に iPS 細胞から運動ニューロンへ分化させる方法を用いて、正常対照および患者の運動ニューロンへの分化誘導に成功しているが、患者由来細胞では生存率が約 1/2 であった。p62 の発現量は患者細胞にて減少していた。これまで、想定されていた、ユビキチンプロテアソーム系の賦活剤ラパマイシンを用いて、細胞死抑制を試みるも、十分な成果はなかった。そこで、新たなシグナル経路 X について調べたところ、患者細胞ではそれが亢進しており、阻害剤にて、劇的に細胞死が抑制された（論文準備中）。

② 遺伝子発現研究

VCP や p62 変異の病態機序は本来の機能が損なわれる(loss of function)か、毒性の獲得(gain of toxic function)かがまだ解決していない。野生型および変異型 p62 または VCP の発現ベクターは構築済みである。野生型 p62 を、患者培養細胞に発現させて、細胞の生存が改善するかを観察したところ、細胞の生存には影響がなかった。一方、変異 p62 細胞を発現させると、細胞死が誘導された。以上から、変異型発現は、細胞維持に対して、阻害作用があると考えられた。

③ 遺伝子解析研究

ALS に関係する新しい遺伝子 ATXN8OS を同定し、線維芽細胞が確立されている患者にも同定できた。現在、iPS への分化を行っている。また、病理組織的に、ALS と確立している検体からも、初めて同遺伝子異常が同定され、この遺伝子の病原性について、指示をえる結果となった。また、iPS 細胞も確立した。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

新たに見出した運動ニューロンの生存率改善を示す薬剤のメカニズムを解明しつつある。また、同様の薬理作用が報告されている既存の薬剤についても、運動ニューロンへの同様の効果があるかを検証し、同様の成果を得ている。一般的な ALS 患者細胞に対して、これまでの p62 変異陽性患者運動ニューロンと同様の性質を有するか、さらに同じ薬剤により、細胞死が抑制されるかを検証する。

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	口頭	2020年8月予定
World Congress of Neurology	口頭	2019年10月29日
J Neuropathol Exp Neurol	雑誌	2019年5月
Cerebellum	雑誌	2019年2月