

＜シンポジウム 2—2＞ALS 治療法開発の将来

神経栄養因子による ALS の治療戦略

青木 正志 割田 仁 鈴木 直輝 糸山 泰人

(臨床神経, 49 : 814—817, 2009)

Key words : 筋萎縮性側索硬化症, 肝細胞増殖因子, 遺伝子変異, SOD1, トランスジェニックラット

はじめに

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis : ALS) は現在までに有効な治療薬や治療法がほとんどないため, 神経疾患のなかでもっとも過酷な疾患とされ, 早期に病因の解明と有効な治療法の確立が求められている。ALS のうち 5~10% は家族歴をともない, 家族性 ALS とよばれる。遺伝学的解析法の進歩により, 1993 年に家族性 ALS においてその一部の原因遺伝子が Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) であることが明らかになった¹⁾²⁾ (Fig. 1)。その後の研究の進歩により新たな家族性 ALS の原因遺伝子として, angiogenin, vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin-associated membrane protein B (VAPB), TAR DNA-binding protein (TDP43), fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS) 遺伝子³⁾⁴⁾などが報告されている。私たちは SOD1 などの既知の遺伝子に異常のない日本人の家族性 ALS 40 家系において FUS/TLS 遺伝子スクリーニングしたところ, 新規変異をふくむ 3 つの変異をエクソン 15 にみとめた。同遺伝子に R521C 変異を持つ宮城県の大家系では構成員 46 人のうち半分にあたる 23 人が家族性 ALS を発症しており浸透率は 100% と考えられた。平均 35.3 歳で筋力低下を発症し, 平均死亡年齢は 37.2 歳であり病期の進行は非常に急速であった。典型例の剖検所見では運動ニューロンの変性のみならず脳幹被蓋部の著明な萎縮をみとめ, さらに脳幹部の神経細胞内に好塩基性の封入体をもとめている。このような家系を集積し解析を進めることが ALS 病態の解明に寄与すると考えられる。

ALS モデル動物の開発

治療法の開発には動物モデルによる治療効果の検証が不可欠であり, そのためには良く病態を反映したモデル動物の開発が不可欠である。最近の遺伝子工学の進歩により, つぎつぎに疾患の原因遺伝子を改変したマウスが作製されるようになった。SOD1 遺伝子でも ALS 患者で報告された点突然変異をマウスに導入することにより, ヒト ALS の病態を非常に良

く再現することに成功し, 現在, ALS のモデル動物としてはもっとも広く世界で汎用されている。SOD1 遺伝子変異による家族性 ALS の発症メカニズムはまだ十分には解明されていないが, 変異による SOD 活性の低下が直接の原因ではなく, 変異 SOD1 が新たに獲得した “gain of toxic function” によるものと考えられている。最近ではこの運動ニューロン変性の過程における運動ニューロンのみならず, アストロサイトやマイクログリアの重要な役割が漆谷真 (現, 滋賀医大)⁵⁾ や山中宏二 (現, 理研 BSI)⁶⁾⁷⁾らにより報告され注目されている。

ALS のモデル動物としては従来, 上述の変異 SOD1 遺伝子導入マウスが広くもちいられてきたが, とくに病態の首座である脊髄の解析には, その個体の大きさによる研究上の様々な制約があった。東北大学では動物モデルにおける脊髄や脊髄腔に対する治療的なアプローチを可能とするために, 世界にさがかけて変異 SOD1 導入トランスジェニックラットによる ALS モデルの作製に成功した⁸⁾。ALS ラットは従来のマウスに比較して約 20 倍の大きさを持つために, 脳脊髄液 (髄液) の採取および解析ならびに薬剤や遺伝子治療用のペク

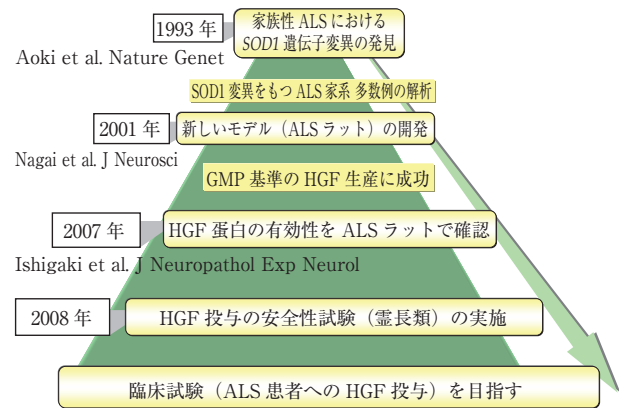
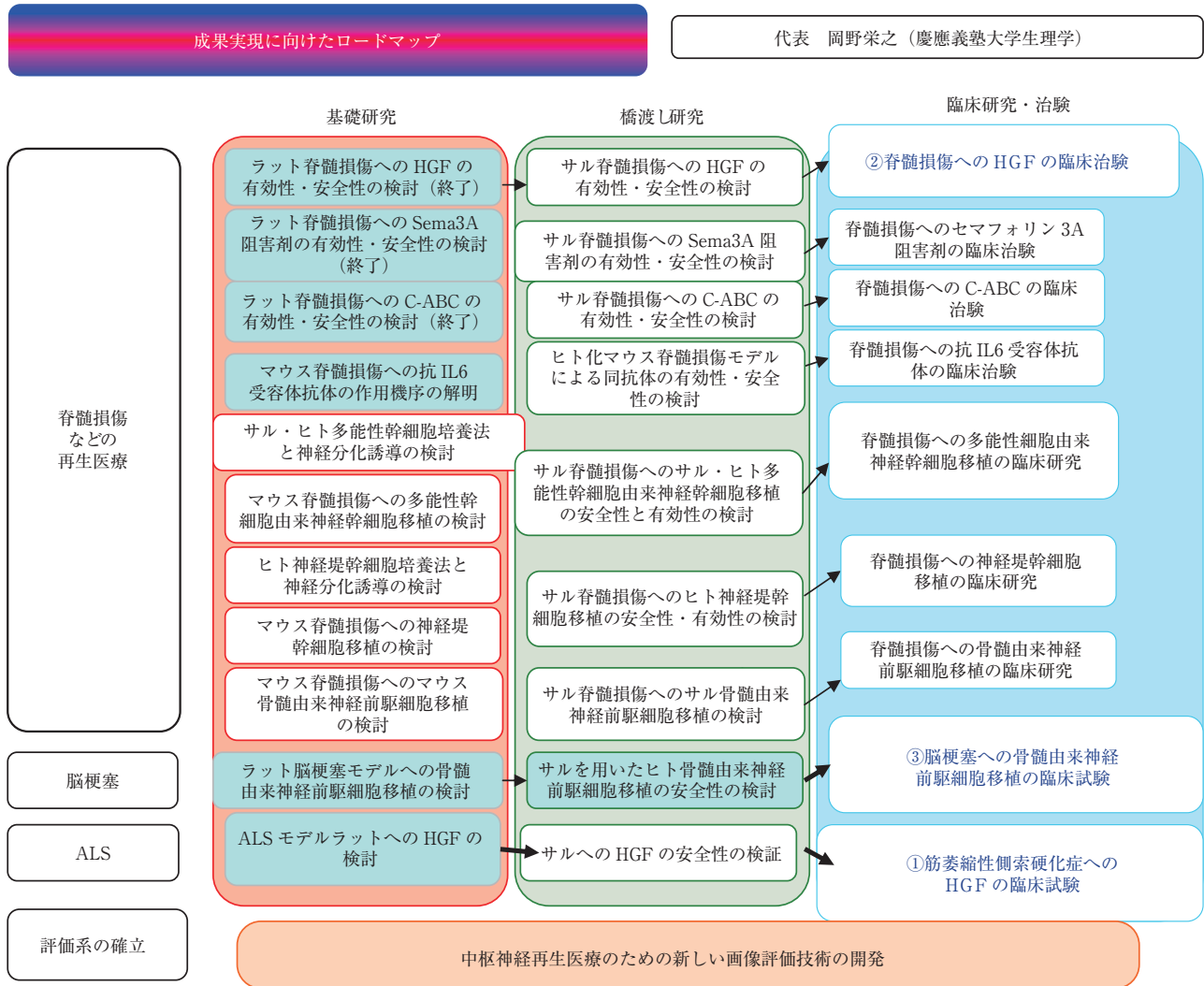


Fig. 1 私たち研究グループの ALS 治療開発研究の歩み
本 ALS 治療研究は 1993 年に SOD1 遺伝子が一部の家族性 ALS の原因遺伝子であることが北米で発見され¹⁾, 日本からもそれを支持する報告と新たな SOD1 遺伝子変異の発見がなされた時²⁾ から始まっている。



本事業では次の課題の①、②、③の順で先導的に進める

Fig. 2 中枢神経の再生医療のための先端医療開発特区 (スーパー特区)

本スーパー特区は、我が国で開発された薬剤や発見された細胞をもちいた多くの基礎研究をさらに加速し、我が国発の脊髄損傷や ALS の再生医療を実現することを目標としている。HGF はわが国発の ALS 治療薬候補として特区の中でも最先導課題となった (①)。

ターの髄腔内投与がきわめて容易である。将来的な遺伝子治療をふくめた新しい治療法開発のために非常に有用なモデルとなることが期待される。さらには TDP43 や FUS/TLS 遺伝子など新たに判明した遺伝子変異を導入したモデル動物の開発も期待されている。

肝細胞増殖因子 (HGF) の髄腔内持続投与による新しい治療法の開発

肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor : HGF) はわが国でクローニングされた新しい増殖因子である。HGF は海馬、大脳皮質、運動、感覚、小脳顆粒細胞などの神経細胞に対しても神経栄養因子として作用することが明らかになったが、中でも HGF の培養運動ニューロンに対する神経生存促

進活性は非常に強力である。その活性は既知の運動神経栄養因子の中でも強力とされ ALS に対する治験がおこなわれたグリア細胞由来神経栄養因子 (GDNF) や脳由来神経栄養因子 (BDNF) にまったくひけをとらないとされる。さらに大阪大学の船越 洋らは遺伝子工学的に導入された HGF の ALS マウスにおける有効性を示し、ALS の新しい治療薬として注目されている⁹⁾。

上述のように ALS に対する治療法の開発のために、東北大学神経内科ではトランスジェニックラットによる ALS モデルの開発に成功した⁸⁾。この ALS ラットに対して浸透圧ポンプをもちいてヒト型リコンビナント HGF 蛋白の髄腔内への持続投与をおこなったところ、発症期からの投与開始でも罹病期間の有意な延長をみとめた¹⁰⁾。Fig. 2 は HGF 投与群および対象群の経過を示す。平均発症は HGF 投与群が 126.8 ±

13.1日、対照群が 126.3 ± 13.8 日 ($p=0.6346$)と有意差はみとめない。一方で平均死亡はHGF投与群が 154.3 ± 16.4 日、対照群が 143.25 ± 17.0 日 ($p=0.0135$)とHGF投与群が対照群より有意に遅延している。発症から死亡までの平均罹病期間が、HGF投与群が 27.5 ± 11.1 日間、対照群が 16.9 ± 8.17 日間と、HGF投与群では対照群の62.7%の増大を示し、発症期からの投与によってもHGFがALSラットの罹病期間を大幅に延長させ、ALS病態の進行を遅らせることが示された。

マーモセットに対するリコンビナントHGF蛋白の 髄腔内持続投与

さらにはHGFによるALS患者に対する治療法の開発を目的に臨床用量の設定と安全性確認のため慶應大学との共同研究でマーモセットに対するリコンビナントHGF蛋白の髄腔内持続投与を開始した。これまでにマーモセットによる脊髄損傷モデルに対して $400\mu\text{g}$ のリコンビナントHGF蛋白を髄腔内に4週間持続投与したところ、対象群に比較してリコンビナントHGF蛋白投与群では上肢筋力の有意な回復をみると、MRIでも病巣面積の縮小が確認された。12週の観察期間では安全性にも問題はない。

リコンビナントHGF蛋白による研究成果は医薬品機構との安全性相談が終了し、平成22年度には治験届け(フェーズI)の提出を目標としている。2008年の秋から内閣府主導で先端医療開発特区(スーパー特区)制度が開始されたが、HGFはわが国発のALS治療薬候補として再生医療分野のスーパー特区(中枢神経の再生医療のための先端医療開発特区:代表 岡野榮之)の中でも最先導課題となった(Fig. 2)。

おわりに

製薬会社が参入したい希少疾病は、大学をはじめとする研究機関が中心となって治療法の開発を進めるしか道はない。わが国には基礎研究の成果がたくさんあるが、残念なことにそれを治療薬として開発していく手段があまりにも貧弱である。基礎研究の成果を医療として実用化する研究を「橋渡し研究」あるいは「トランスレーショナルリサーチ」とよばれている。このトランスレーショナルリサーチを動かして行かないと、せっかくの日本での基礎研究の成果も実用化はすべて外国でおこなわれることになり、やがては莫大な医療費のほとんどは薬剤費や特許料として外国へ支払うことになりかねない。私たちはHGFの開発を通じてわが国における中枢神

経再生医療開発のためのプラットフォーム作り・評価系の確立を目指したいと考えている。

文 献

- 1) Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al: Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59—62
- 2) Aoki M, Ogasawara M, Matsubara Y, et al: Mild ALS in Japan associated with novel SOD mutation [published erratum appears in *Nature Genet.* 1994; 6: 225]. *Nature Genet* 1993; 5: 323-324
- 3) Kwiatkowski TJ Jr, Bosco DA, Leclerc AL, et al: Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2009; 323: 1205—1208
- 4) Vance C, Rogelj B, Hortobagyi T, et al: Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 2009; 323: 1208—1211
- 5) Urushitani M, Sik A, Sakurai T, et al: Chromogranin-mediated secretion of mutant superoxide dismutase proteins linked to amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Neurosci* 2005; 9: 108—118
- 6) Boillée S, Yamanaka K, Lobsiger CS, et al: Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. *Science* 2006; 312: 1389—1392
- 7) Yamanaka K, Chun SJ, Boillee S, et al: Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Neurosci* 2008; 11: 251—253
- 8) Nagai M, Aoki M, Miyoshi I, et al: Rats expressing human cytosolic copper-zinc superoxide dismutase transgenes with amyotrophic lateral sclerosis: associated mutations develop motor neuron disease. *J Neurosci* 2001; 21: 9246—9254
- 9) Sun W, Funakoshi H, Nakamura T: Overexpression of HGF retards disease progression and prolongs life span in a transgenic mouse model of ALS. *J Neurosci* 2002; 22: 6537—6548
- 10) Ishigaki A, Aoki M, Nagai M, et al: Intrathecal delivery of HGF from the ALS onset suppresses disease progression in a rat ALS model. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66: 1037—1044

Abstract**Development of motor neuron restorative therapy in amyotrophic lateral sclerosis using hepatocyte growth factor**

Masashi Aoki, M.D., Ph.D., Hitoshi Warita, M.D., Ph.D., Naoki Suzuki, M.D., Ph.D. and Yasuto Itoyama, M.D., Ph.D.
Department of Neurology, Tohoku University School of Medicine
Tohoku University Hospital ALS Center

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is an adult onset neurodegenerative disorder characterized by the death of upper and lower motor neurons. Approximately 20% of familial ALS cases are caused by mutations in the superoxide dismutase 1 (SOD1) gene. Mutations in the fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS) gene have been recently discovered to be associated with familial ALS. We found *FUS/TLS* mutations in familial ALS cases in Japan. Even in Asian races, ALS with *FUS/TLS* mutations may have common characteristics of early onset, rapid progress, high penetrance trait.

We developed rats that express a human SOD1 transgene with two different ALS-associated mutations (G93A and H46R) develop striking motor neuron degeneration and paralysis. The larger size of this rat model as compared with the ALS mice will facilitate studies involving manipulations of spinal fluid (implantation of intrathecal catheters for chronic therapeutic studies; CSF sampling) and spinal cord (e.g., direct administration of viral- and cell-mediated therapies).

Hepatocyte growth factor (HGF) is one of the most potent survival-promoting factors for motor neurons. To examine its both protective effect on motor neurons and therapeutic potential, we administered human recombinant HGF (hrHGF) by continuous intrathecal delivery to G93A transgenic rats at onset of paralysis for 4 weeks. Intrathecal administration of hrHGF attenuates motor neuron degeneration and prolonged the duration of the disease by 63%. Our results indicated the therapeutic efficacy of continuous intrathecal administration of hrHGF in ALS rats. In addition, HGF is capable of reducing astrogliosis and microglial accumulation, and thus supports the attention of a glial-dependent mechanism of ALS progression. These results should prompt further clinical trials in ALS using continuous intrathecal administration of hrHGF.

(Clin Neurol, 49: 814—817, 2009)

Key words: amyotrophic lateral sclerosis, hepatocyte growth factor, mutation, SOD1, transgenic rat
