

＜シンポジウム 35—4＞運動ニューロン疾患の分子病態の解明と治療法開発への展望

## ALS におけるグリア関連病態

山中 宏二

(臨床神経 2011;51:1192-1194)

Key words : 筋萎縮性側索硬化症, グリア, SOD1

### はじめに

運動ニューロンの選択的変性を特徴とする ALS の病巣では、疾患の進行にともなってグリア細胞の活性化や増生がみられる。これまでは、グリア細胞の病態は神経変性にともなう二次的反応という考え方が主流であった。ところが近年、SOD1 優性変異による遺伝性 ALS モデルマウスをもちいた一連の研究により非神経細胞であるグリア細胞における病的变化が ALS の疾患進行過程と運動神経死に積極的に関与していることが明らかとなり、グリア病態の疾患に関する役割が注目されてきている<sup>1)2)</sup>。本シンポジウムでは、遺伝性 ALS モデルをもちいたグリア病態に関する研究の進展状況をレビューするとともに、これらの知見が孤発性 ALS のグリア病態の理解に応用できる可能性について議論する。

### ALS のグリア関連病態について

優性遺伝性 ALS の原因遺伝子である SOD1 (Cu/Zn superoxide dismutase) の点変異を再現したトランスジェニックマウスは、脊髄前角の運動ニューロンの選択的な神経変性とそれによる骨格筋麻痺を生じるため、ALS の病態をよく再現しているモデルとして研究にもちいられてきた。SOD1 の発現はすべての細胞群においてみられるため、運動ニューロンのみならず、非神経細胞における変異 SOD1 が神経変性に何らかの役割を果たしている可能性について、われわれは細胞群特異的に変異 SOD1 を除去しうる新たな ALS モデルマウスを樹立して検討をすすめてきた。われわれをふくむ一連の研究によりミクログリアまたはアストロサイトに発現する変異 SOD1 を除去することにより変異 SOD1 マウスの疾患進行を遅延させ、マウスの生存期間を延長させることが判明した<sup>3)~5)</sup>。これは、運動ニューロンに発現する変異 SOD1 のみではなく、運動ニューロン周囲の環境を構成するミクログリアやアストロサイトに発現する変異 SOD1 も運動ニューロン死に関与しているという興味深い事実を示している。変異 SOD1 を発現するミクログリアでは、活性酸素や一酸化窒素などの細胞傷害性物質、TNF $\alpha$  などの炎症性サイトカインの産生が亢進し、IGF-1 などの神経栄養因子の産生が低下する

ことが示されている。また変異 SOD1 が低分子 G タンパク質である Rac1 の GTPase 活性を阻害することにより、活性酸素の発生源である NOX2 を持続的に活性化することが示されている<sup>6)</sup>。

最近では、孤発性 ALS の病巣に広く異常蓄積がみられる TDP-43 の発見を機に、SOD1-ALS の病態は、孤発性 ALS の分子病態とはことなるという考え方が優勢となってきている。そこで、われわれは孤発性 ALS と SOD1-ALS のグリア細胞における病態に共通性がみられるかどうかを、cDNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析によって検討をすすめている。孤発性 ALS 患者の頸髄病巣において、疾患対照群とくらべて発現異常のみられた 178 遺伝子を同定した。同定した遺伝子の神経系での発現細胞を予測するため、マウス神経系初代培養細胞をもちいて細胞群特異的なトランスクリプトームを樹立し、それらを統合したデータベースを作製し、ヒトの相同遺伝子の解析に応用した。トランスクリプトームによる分析の結果、同定した遺伝子の約 60% がグリア細胞であるミクログリアとアストロサイトに多く発現する遺伝子であった。また、孤発性 ALS 病巣のグリア細胞において異常発現する遺伝子の約半数 (55 遺伝子) は、変異 SOD1 マウスでも発現異常がみられ、これらは自然免疫経路や貪食に関与する遺伝子群であった。これは、変異 SOD1 マウスにおけるグリア関連病態の解析が孤発性 ALS のグリア病態解明にも応用できることを示唆している。また、孤発性 ALS ミクログリア関連遺伝子群の機能連関を知るためにさらにパスウェイ解析をおこなったところ、NF $\kappa$ B などマイクロアレイでは検出できなかった遺伝子群の関与が示唆され、これらの遺伝子に関する検討をおこなっている。

ミクログリアは、神経系における損傷、病原体による感染などを検知してまず反応する自然免疫系の主要細胞であることから、自然免疫経路に関する遺伝子発現の異常はグリア病態の一端を説明するものと考えられる<sup>7)</sup>。自然免疫系の主要なパスウェイである Toll 様受容体経路の主要アダプター分子 MyD88 を欠失したミクログリアでは、SOD1-ALS モデルの疾患進行が加速することが報告されているが<sup>8)</sup>、われわれの検討ではことなる結果をえており、疾患進行に関与する自然免疫経路の同定に向けてさらなる検討が必要といえる。自然免疫経路と関連して、ミクログリアは中枢神経系における抗原

提示細胞としての役割を持つため、最近では T リンパ球の病態への関与を示す報告が相次いでおり<sup>9)</sup>、調節型 T リンパ球 (Treg) が SOD1-ALS モデルに対して保護的役割をする可能性は、新たな治療標的として注目を集めている<sup>10)</sup>。しかし、孤発性 ALS 病巣において T リンパ球を検出する頻度は低く、さらなる検証が必要であると考えられる。

### おわりに

ALS のグリア病態研究によって明らかとなった“非細胞自律性の神経細胞死 (non-cell autonomous neuronal death)” (神経変性は神経細胞に起因する病的変化のみで自律性におこるわけではなく、非神経細胞由来の病的変化も神経変性に積極的に関与している) というコンセプトは、他の神経変性疾患モデルにおいても広がりを見せており、神経変性疾患の病態解明に新たな視点を提供するものである。また、遺伝性 ALS モデルと孤発性 ALS 患者におけるグリア分子病態には共通した部分があることが判明し、グリア病態に関する研究ツールとして遺伝性モデルの有用性を再確認できた。遺伝性モデルの解析を通じて明らかとなった疾患進行にかかわるグリア病態の解明が、孤発性 ALS の進行を抑止する治療法の開発に貢献することを期待する。

謝辞：共同研究者の山下博史先生 (京都大学神経内科)、井口洋平先生、熱田直樹先生、田中章景先生、祖父江元先生 (名古屋大学神経内科) に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Philips T, Robberecht W. Neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: role of glial activation in motor neuron disease. *Lancet Neurol* 2011;10:253-263.
- 2) Lasiene J, Yamanaka K. Glial cells in amyotrophic lateral

sclerosis. *Neurol Res Int* 2011;2011:718987.

- 3) Boillee S, Yamanaka K, Lobsiger CS, et al. Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. *Science* 2006;312:1389-1392.
- 4) Beers DR, Henkel JS, Xiao Q, et al. Wild-type microglia extend survival in PU.1 knockout mice with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:16021-16026.
- 5) Yamanaka K, Chun SJ, Boillee S, et al. Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 2008;11:251-253.
- 6) Harraz MM, Marden JJ, Zhou W, et al. SOD1 mutations disrupt redox-sensitive Rac regulation of NADPH oxidase in a familial ALS model. *J Clin Invest* 2008;118:659-670.
- 7) Lehnardt S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: the role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury. *Glia* 2010;58:253-263.
- 8) Kang J, Rivest S. MyD88-deficient bone marrow cells accelerate onset and reduce survival in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Cell Biol* 2007;179:1219-1230.
- 9) Chiu IM, Chen A, Zheng Y, et al. T lymphocytes potentiate endogenous neuroprotective inflammation in a mouse model of ALS. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:17913-17918.
- 10) Beers DR, Henkel JS, Zhao W, et al. Endogenous regulatory T lymphocytes ameliorate amyotrophic lateral sclerosis in mice and correlate with disease progression in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 2011;134:1293-1314.

**Abstract****Glial pathology in amyotrophic lateral sclerosis**

Koji Yamanaka, M.D.

RIKEN Brain Science Institute

Dominant mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) gene lead to a familial form of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Although ubiquitous expression of mutant SOD1 provokes progressive, selective motor neuron degeneration in human and rodents due to an acquired toxic property (ies) of the mutant, genetic and chimeric mice studies using SOD1 models indicate that non-neuronal cells play important roles in neurodegeneration through non-cell autonomous mechanism. Recent discovery of TDP-43 protein accumulation as a pathological hallmark of sporadic ALS suggested that the mechanisms of neurodegeneration in SOD1-linked familial ALS and sporadic ALS may be distinct. This prompted us to test whether SOD1-ALS and sporadic ALS share the common disease mechanisms in glial cells. To address this question, we have compared gene expression profile of spinal cords of SOD1 mice and sporadic ALS patients by establishing the cell-type specific transcriptome. Significant overlap of misregulated genes enriched in microglia was observed in sporadic ALS and SOD1 mouse models. The pathway analysis indicated the innate immune system, NF-kappaB signaling, and caspase-interleukin cascade that were misregulated in glial cells, suggesting these pathways may be the potential targets for disease modifying therapy of ALS.

(Clin Neurol 2011;51:1192-1194)

**Key words:** ALS, glia, SOD1

---