

[PRESS RELEASE]

2010年9月9日  
東京大学医学部附属病院

**孤発性筋萎縮性側索硬化症のモデルマウスの開発**  
- グルタミン酸受容体のポストゲノム修飾（RNA編集）の欠陥 -

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は運動ニューロンを選択的に侵す、原因不明かつ治療法のない致死性の神経変性疾患で、病因解明・治療法開発が強く望まれています。私たちは、ALS患者全体の90%以上を占める孤発性ALSの変性運動ニューロンの解析から、グルタミン酸受容体に本来生ずべきRNA編集が不十分であることを見出したことに基づき（Nature 427: 801, 2004）、この分子変化を再現するRNA編集酵素ADAR2遺伝子のコンディショナルノックアウトマウスを開発しました。その結果、ADAR2の活性低下に伴うグルタミン酸受容体の分子変化が運動ニューロン死の直接原因であることを証明しました（米国神経科学会機関雑誌Journal of Neuroscienceに発表）。この研究は、孤発性ALS患者に見出された疾患特異的分子異常が運動ニューロン死の直接原因であることを証明したものであり、孤発性ALSの分子病態を反映した疾患モデル動物として世界でも初めてのものです。ALSの治療法開発にとり治療標的が特定できたと共に、治療効果の判定のために有用性が高い疾患モデル動物であると期待されます。

**【研究の背景】**

筋萎縮性側索硬化症（ALS）（用語解説）は運動ニューロンを選択的に侵す、原因不明かつ治療法のない致死性の神経変性疾患で、主に壮年期以降（平均発症年齢55歳）にこれといった誘因もなく発症し、数年で死に至る難病です。ALSの本邦における患者数は約8,000人ですが、罹病期間が短いため毎年の発症数は3,000人前後と必ずしも稀な疾患ではありません。特に、60歳以降の有病率をみると人口10万人あたり20-30人にも及びます。働き盛りの壮年期を侵す致死性の疾患であるため、社会的損失が大きく、病因解明・治療法開発が強く望まれております。

ALS患者の1割程度は同胞にも発症者がある家族性ALS（用語解説）であり責任遺伝子も数種類同定されています。しかし、90%以上を占める孤発例（孤発性ALS（用語解説））の大多数には、家族性ALSの責任遺伝子として同定されたものはいずれも見出されていないことから、孤発性ALSと家族性ALSとでは病因メカニズムが異なると考えられています。

私どもは最近、孤発性ALS患者の剖検脊髄組織を用いた病因研究を行い、脊髄運動ニューロンでは、本来行われるべきグルタミン酸受容体（AMPA受容体）のサブユニットであるGluR2（用語解説）のRNA編集（用語解説）が正常に行われていないことを見出しました

(Nature 427 : 801, 2004)。ニューロンに発現する GluR2 は、正常ニューロンのみならず、孤発性 ALS 以外では全て編集型 GluR2 (用語解説) のみであること、この RNA 編集が行われないマウスが致死性のけいれん重積を引き起こすことから、未編集型 GluR2 (用語解説) が発現していることは神経細胞死の原因であることが予想されましたが、それを示す知見は得られておりませんでした。この論文では、このギャップを埋めることを目的に行った研究成果を発表しました。

#### 【研究の内容】

GluR2 の RNA 編集は adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2) (用語解説) という酵素により触媒されるので、ADAR2 遺伝子を発現しないように遺伝子操作をすることで、GluR2 の RNA 編集が起こらなくなります。ところが、全ての細胞の ADAR2 をノックアウトすると、マウスはけいれん重積で生後 2-3 週間で死亡してしまいます。このような非特異的なけいれん重積による死亡を避けるために、運動ニューロン選択的に ADAR2 遺伝子をノックアウトしたマウス (AR2 マウス) を作製しました。約半数の運動ニューロンで ADAR2 遺伝子の発現がなくなり、残りの半数の ADAR2 遺伝子を発現するニューロンが編集型 GluR2 のみを発現するのに対し、未編集型 GluR2 のみが発現していました。AR2 マウスは生後 2-6 ヶ月の間緩徐進行性の運動機能低下が認められ、1 年以上生存するものの寿命は野生型に比べ短縮していました。運動ニューロン数を算定すると、月齢と共に減少し、その全てが ADAR2 を発現しない運動ニューロンに限られていました。生後 1 年ではほぼ全ての ADAR2 を欠損した運動ニューロンが脱落していましたが、ADAR2 を発現するニューロンの変化はありませんでした。運動ニューロンの脱落に伴い、脊髄前根、神経筋接合部、筋肉に形態変化、脊髄前角のグリオーシスがみられました。また、脊髄運動ニューロン以外の運動ニューロン脳神経核にも細胞脱落がみられましたが、ALS では障害を受けにくい外眼筋運動ニューロンの神経核には未編集型 GluR2 を発現するにもかかわらず細胞脱落がありませんでした。このように、孤発性 ALS 患者に見出された分子変化を反映する病態モデルマウスであることが確認され、さらに、ALS に見られるのと類似した病変の選択性が認められました。

以上のように、AR2 マウスが孤発性 ALS の分子病態、表現型を反映する病態モデルとして適切であることを示しました。孤発性 ALS の分子病態を反映するモデル動物が世界で初めて開発されたことにより、ALS の病因解明・治療法開発研究が加速されることが期待されま

#### [研究の意義]

1. 患者に見出された疾患特異的分子異常をマウスに再現し、そのマウスが緩徐進行性の運動ニューロンに選択的な細胞死を引き起こすことを明らかにしました。すなわち、グルタミン酸受容体 (AMPA 受容体) サブユニット GluR2 の RNA 編集が充分行われないことが AMPA 受容体の機能異常を通じて運動ニューロン変性を引き起こすことが明らかになりました。
2. 分子病態を反映するのみならず、ALS に見られる運動ニューロン死の時間経過、病変の選択性を忠実に反映しています。遺伝子異常が同定された家族性 ALS の動物モデル

は存在していましたが、ALS 患者の大多数を占める孤発性 ALS の分子病態を反映する動物モデルとして世界初のものです。

3. このノックアウトマウスは、これまでに得られていなかった、分子病態に基づく、初めての孤発性 ALS の疾患モデル動物であり、孤発性 ALS の病因研究・特異的治療法開発研究に有用であると期待されます<sup>5)</sup>。

#### 【用語解説】

<筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、家族性 ALS、孤発性 ALS>

ALS は運動ニューロンを選択的に侵す、原因不明かつ治療法のない致死性の神経変性疾患で、主に壮年期以降（平均発症年齢 55 歳）にこれといった誘因もなく発症し、数年で死に至る難病です。ALS の本邦における患者数は約 8,000 人ですが、罹病期間が短いため毎年の発症数は 3,000 人前後と必ずしも稀な疾患ではありません。特に、60 歳以降の有病率をみると人口 10 万人あたり 20-30 人にも及びます。働き盛りの壮年期を侵す致死性の疾患であるため、社会的損失が大きく、病因解明・治療法開発が強く望まれております。

ALS 患者の 1 割程度は同胞にも発症者がある家族性 ALS であり責任遺伝子も数種類同定されています。しかし、90%以上を占める孤発例（孤発性 ALS）の大多数には、家族性 ALS の責任遺伝子として同定されたものはいずれも見出されていないことから、孤発性 ALS と家族性 ALS とでは病因メカニズムが異なると考えられており、孤発性 ALS に特化した病因研究の必要性があります。

<神経変性疾患>

神経細胞が何らかの原因で変性（緩徐な経過で細胞死に陥ること）・脱落する神経疾患の総称で、ALS の他アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄小脳変性症などが含まれます。ある機能を持つ神経細胞種が選択的に変性するものの他の神経細胞種は変性を免れるため（系統変性と呼ばれます）、特徴的な臨床症状を呈することで臨床診断が下されます。運動ニューロン（ALS）、大脳皮質ニューロン（アルツハイマー病）、大脳基底核黒質ニューロン（パーキンソン病）、小脳プルキンエ細胞（脊髄小脳変性症）などが選択的に変性します。神経病理学的には、変性過程にある神経細胞に封入体を形成するという特徴があります。大多数は遺伝歴のない孤発性で、少数の家族例に見出された責任遺伝子がいくつか同定されていますが、孤発例の大多数にはこれらの遺伝子に変異がみられず、孤発例と家族例では病因メカニズムが異なると考えられています。ALS を含め、孤発例についても各疾患の分子病態の解明が徐々に進んでいます。

<グルタミン酸受容体、AMPA 受容体、GluR2、編集型 GluR2、未編集型 GluR2>

グルタミン酸は脳・脊髄のニューロンの神経伝達物質で興奮性神経伝達を司っています。グルタミン酸はシナプス終末から分泌され後シナプス側にある受容体に結合することでシグナルを送ります。受容体にはいくつか種類があり、その一つに AMPA 受容体があります。AMPA 受容体は 4 個のサブユニットが会合してできており、GluR2 はそのサブユニットの一つでイオンの透過性を決定する重要な役割を持っています。GluR2 がこのような重要な役割を持つ理由は、サブユニットの内 GluR2 のみが RNA 編集 を受けるためです。ニューロン

に発現する全ての GluR2 は RNA 編集を受けており、殆どの AMPA 受容体は編集型 GluR2 をサブユニットに持つのでカルシウムイオンを通しません。GluR2 をサブユニットに含まない AMPA 受容体はカルシウムイオンを透過します。また、孤発性 ALS の運動ニューロンのように、GluR2 の RNA 編集を受けない未編集型 GluR2 が発現すると、未編集型 GluR2 をサブユニットに持つ AMPA 受容体はカルシウムイオン透過性になります。このような AMPA 受容体が発現する神経細胞には大量のカルシウムイオンが流入し、神経毒性を発揮します。孤発性 ALS で運動ニューロンが選択的に変性するメカニズムには未編集型 GluR2 の発現が関与していることが示されています。

#### <RNA 編集、ADAR2>

RNA 編集とは、遺伝子が premature messenger RNA に転写された後に塩基配列が変化（缺失、挿入、置換）することをいいます。ゲノムのタンパクをコードする部分（エクソン）におけると、遺伝情報が書き換えられることがあります。AMPA 受容体のサブユニットである GluR2 の場合は、チャネルポアを構成するアミノ酸をコードするグルタミン・アルギニン（Q/R）部位に塩基置換が起こるため、受容体のイオン透過性が変化します。この反応は adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2) という RNA 編集酵素が pre-mRNA 上のアデノシン A がイノシン I へ書き換えられるため、Q/R 部位にコードされていたグルタミン（Q: CAG）をアルギニン（R: CIG）に置換したタンパクができます。イノシンは翻訳時にグアノシンとして認識されるため、mRNA 上の CIG は CGG すなわちアルギニン R に置換されます。孤発性 ALS の運動ニューロンでは ADAR2 による GluR2 の RNA 編集活性が落ちて未編集型 GluR2 が発現しています。

#### 【発表雑誌】

Journal of Neuroscience (9月8日号、 30巻 頁11917-11925)

表題 : Induced loss of ADAR2 engenders slow death of motor neurons from Q/R site-unedited GluR2

著者 : Hideyama Takuto (日出山拓人)、Yamashita Takenari (山下雄也)、Suzuki Takeshi (鈴木岳之)、Tsuji Shoji (辻省次)、Miyoko, Higuchi、Seeburg, Peter H., Takahashi Ryosuke (高橋良輔)、Misawa Hidemi (三澤日出巳)、Kwak Shin (郭 伸)

#### 【注意事項】

本件につきましては、報道解禁はございません。

#### 【参照 URL】

米国神経科学雑誌 Journal of Neuroscience 9月8日号

<http://www.jneurosci.org/current.dtl>

---

**《本件に関するお問合せ先》**

東京大学医学部附属病院 神経内科

担当：郭 伸

電話：03-5800-8672（直通）

FAX：03-5800-6548

E-mail：kwak-tky@umin.ac.jp

**《取材に関するお問合せ先》**

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当：小岩井、渡部

電話：03-5800-9188（直通）

E-mail：pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

---