

## 経口 AMPA 受容体拮抗剤による筋萎縮性側索硬化症(ALS)の治療法確立 — 孤発性 ALS 分子病態モデルマウスへの長期投与試験 —

### 1. 発表者：

郭 伸 (国際医療福祉大学 臨床医学研究センター 特任教授/  
東京大学大学院医学系研究科 講師 (非常勤))  
赤松 恵 (東京大学大学院医学系研究科 脳神経医学専攻 神経病理学分野 特任研究員)  
山下 雄也 (東京大学大学院医学系研究科 脳神経医学専攻 神経病理学分野 特任研究員)

### 2. 発表のポイント：

- ◆死に至る難病であり、有効な治療法がなかった筋萎縮性側索硬化症 (ALS、注1) の発症原因に根ざした新規治療法の開発に成功した。
- ◆分子病態モデルマウスに既存の抗てんかん薬である高選択非競合 AMPA 受容体拮抗剤ペランパネル (製品名「フィコンパ (注2) 」) を 90 日間連続経口投与し、細胞死の原因になっている異常なカルシウム流入を軽減することにより、ALS に疾患特異的な TDP-43 病理を伴う神経細胞死を抑制する治療に成功した。
- ◆臨床的薬用量での有効性が得られたことから ALS 患者の大多数を占める孤発性 ALS の特異的な治療法としての早期実現が期待される。

### 3. 発表概要：

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は主に中高年に発症する、進行性の筋力低下や筋萎縮を特徴とし、健康人を数年の内に呼吸筋麻痺により死に至らしめる神経難病で、この経過を遅らせる有効な治療法はありません。これまで、国際医療福祉大学臨床医学研究センター 郭伸特任教授 (東京大学大学院医学系研究科 講師) らの研究グループは、ADAR2 という酵素 (注3) が低下することで、過剰な細胞内カルシウム流入を引き起こすことにより ALS の大多数を占める遺伝性のない孤発性 ALS の運動ニューロン死に関与していることを突き止めていました。

今回、郭伸特任教授と東京大学大学院医学系研究科赤松恵特任研究員らの研究グループは、この過剰なカルシウム流入を抑える作用が期待される、既存の抗てんかん薬であるペランパネル (製品名「フィコンパ」エーザイ株式会社) を ALS モデルマウスに 90 日間連続で経口投与したところ運動機能低下の進行、及びその原因となる運動ニューロンの変性脱落が食い止められ、しかも、運動ニューロンで引き起こされている ALS に特異的な TDP-43 タンパクの細胞内局在の異常 (TDP-43 病理) が回復・正常化しました。また、発症前のみならず発症後に投与した場合でも、運動ニューロン死による症状の進行が抑えられました。

モデルマウスでの結果ではありますが、ペランパネルは既に承認されているてんかん治療薬であり、ヒトに換算した場合にてんかん治療に要する用量以下でマウスに有効性が確認出来たことから、臨床応用へのハードルも低いと考えられ、ALS の特異的な治療法になるものと期待されます。

以上の成果は、「Scientific Reports」 (6月28日オンライン版) に掲載されます。なお、本研究は一般財団法人日本 ALS 協会の「IBC グラント」研究奨励金、および公益財団法人難病医学研究財団研究奨励助成金、日本医療研究開発機構 (AMED) の支援を受けて行われました。

#### 4. 発表内容：

##### 【研究の背景】

国際医療福祉大学臨床医学研究センター 郭伸特任教授（東京大学大学院医学系研究科 講師）らの研究グループは、これまでの研究の積み重ねにより、ALS では神経伝達に関わるグルタミン酸受容体の一種である AMPA 受容体（注4）の異常が運動ニューロン死の原因であることを突き止めていました。具体的には、AMPA 受容体のカルシウム透過性を規定するサブユニットである GluA2 に本来生ずべき RNA 編集（転写後の一塩基置換、注5）が起こらず、未編集型 GluA2（注6）が発現するためカルシウム透過性が異常に高い AMPA 受容体が運動ニューロンに発現していること、加えて、GluA2 が未編集となるのは RNA 編集酵素である ADAR2 酵素の発現低下のためであることを確かめていました（注7）。さらに、ADAR2 のコンディショナルノックアウトマウス（AR2 マウス、注8）の解析から、ADAR2 酵素の発現低下は、異常なカルシウム透過性 AMPA 受容体の発現を引き起こすことにより運動ニューロン死の直接の原因であることを証明し、孤発性 ALS の運動ニューロンで起きる TDP-43 の局在異常（TDP-43 病理、注9）を引き起こすことから、この分子異常が孤発性 ALS に病因的意義を持つことを示してきました。

ALS には有効な治療法がなく、死に至る難病であるため、根本的な治療法が切望されています。高選択非競合 AMPA 受容体拮抗剤であるペランパネルは、グルタミン酸によるシナプス後 AMPA 受容体の活性化を阻害し、神経の過興奮を抑制することで運動ニューロン死を抑制すると考えられます。またすでに抗てんかん薬として国内外で承認されており、安全性も確立されていることから、ALS の治療薬剤として大いに期待されます。本研究では、孤発性 ALS の病態を示すモデルマウスに経口投与を行い、臨床的薬用量での効果を検討しました。

##### 【研究内容】

###### モデルマウスへの治療

本研究グループが開発した孤発性 ALS の病態を示すコンディショナル ADAR2 ノックアウトマウス（AR2 マウス）では、ALS に特有な運動機能障害、選択的な運動ニューロン死、ALS に特異的な TDP-43 病理が観察されることから、孤発性 ALS の病態を反映するモデル動物であると考えられます。このマウスに臨床的に用いられている薬用量相当のペランパネルを経口的に投与し効果を検討したところ、脊髄の運動ニューロンの減少が有意に抑制され、進行性の運動機能低下が抑えられました。また、ALS に特有な TDP-43 タンパクの細胞内の異常な局在変化を改善しました。上記の結果は、ペランパネル投与により、AMPA 受容体での異常なカルシウム透過性が改善され、神経細胞の過興奮が抑えられた結果、運動ニューロン死が阻止された事が考えられます（図1）。またこの効果は症状が進行した時期のマウスにおいても確認されており、全てのマウスが90日間の経口投与を完了できたという安全性の面からも、これらの解析結果は、孤発性 ALS 患者に対しての治療効果が得られる可能性があることを示唆します。

##### 【社会的意義・今後の予定】

国際医療福祉大学臨床医学研究センター 郭伸特任教授（東京大学大学院医学系研究科 講師）の研究グループは、モデルマウスを用いて、死に至る神経難病である孤発性 ALS の治療法の開発を行っており、ADAR2 の遺伝子治療に引き続き、AMPA 受容体拮抗剤ペランパネルを用いての治療に成功しました。ペランパネルはすでにてんかんの治療薬として承認されており、既存薬を用いた今回の治療法の開発は、臨床試験への道のりもハードルが低いと考えら

れ、早期の臨床試験開始が期待できます。また、ADAR2 の遺伝子治療とは治療標的が異なることから、併用により更なる効果が期待できる点でも（図 1）、ALS 患者の大多数を占める孤発性 ALS の治療実現への道筋が拓かれたと言えます。

#### 5. 発表雑誌：

雑誌名：「Scientific Reports」（6月28日オンライン版）

論文タイトル：The AMPA receptor antagonist perampanel robustly rescues amyotrophic lateral sclerosis (ALS) pathology in sporadic ALS model mice

著者：Megumi Akamatsu, Takenari Yamashita, Naoki Hirose, Sayaka Teramoto, Shin Kwak

DOI 番号：DOI: 10.1038/srep28649

#### 6. 問い合わせ先：

国際医療福祉大学 臨床医学研究センター 特任教授／

東京大学大学院医学系研究科 講師（非常勤）

郭 伸（かく しん）

電話/Fax：03-5841-3566

e-mail：kwak-tky@umin.ac.jp

#### 7. 用語解説：

（注1）筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic Lateral Sclerosis；ALS）：

運動ニューロン（大脳皮質運動野の上位運動ニューロンと脳幹脳神経核や脊髄前角の下位運動ニューロン）が変性、脱落することで起こる進行性の筋力低下や筋萎縮を特徴とする神経変性疾患である。主に中高年に発症し、有効な治療法はなく数年の内に呼吸筋麻痺により死に至る神経難病で、大多数は遺伝性のない孤発性 ALS である。本研究では孤発性 ALS を対象としている。

（注2）フィコンパ（一般名：ペランパネル水和物）：

抗てんかん剤（エーザイ株式会社）。てんかん発作は、神経伝達物質であるグルタミン酸により誘発されることが報告されており、ペランパネルはグルタミン酸によるシナプス後 AMPA 受容体の活性化を阻害し、神経の過興奮を抑制する高選択、非競合 AMPA 受容体拮抗剤である。<http://www.eisai.co.jp/news/news201635pdf.pdf>

（注3）ADAR2（Adenosine deaminase acting on RNA 2）：

二重鎖 RNA のアデノシンに働く脱アミノ基酵素で、GluA2 Q/R 部位のアデノシンとイノシンの置換（A-I 置換）を特異的に触媒する。この酵素がないと未編集型 GluA2 が発現し、AMPA 受容体はカルシウム透過性になる。

（注4）AMPA 受容体：

ヒトや哺乳類の脳や脊髄で興奮性神経伝達を司る神経伝達物質であるグルタミン酸の受容体の一種で、イオンチャネルの開閉により神経の興奮を制御している。ほとんどのニューロンが AMPA 受容体を発現し、その大多数はカルシウムイオンを透過しない。孤発性 ALS では異常にカルシウム透過性が高い AMPA 受容体が発現している。

(注5) RNA 編集 (転写後の一塩基置換) :  
遺伝子の DNA が RNA に転写された後、RNA 塩基に変化が起こることを総称して RNA 編集と呼び、この場合はアデノシンがイノシンに変換する脱アミノ基の反応 (A-I 置換) を指す。

(注6) 未編集型 GluA2 :  
RNA 上のイノシンは翻訳時にグアノシンと認識されるので、ゲノム上のグルタミン (Q) コドン (CAG) が RNA 上で CIG に置換されアルギニン (R) コドン (CGG) として翻訳されるためにタンパク質においてアミノ酸置換が起こる。GluA2 の Q/R 部位はイオンチャネルポアの内腔に面しており、陽性電荷の R はカルシウムイオンの流入を妨げるが、中性電荷の Q は妨げないので、GluA2 は RNA 編集によりカルシウムを制御する特性を獲得する。AMPA 受容体の多くは GluA2 を含み、その GluA2 は全て編集型なので、GluA2 を含む AMPA 受容体はカルシウム非透過性である。

(注7) ALS 患者の剖検脊髄を用いた単一運動ニューロンの解析から、GluA2 Q/R 部位の RNA 編集が不十分で、未編集型 GluA2 が発現することが疾患特異的な病的変化であることを明らかにした (Takuma et al, Ann Neurol, 1999; Kawahara et al, Nature 2004; Hideyama et al, Neurobiol Dis 2012) 。

(注8) コンディショナルノックアウトマウス (AR2 マウス) :  
ADAR2 遺伝子の活性基部分を二個の Flox 配列ではさみ、運動ニューロン特異的に発現させた Cre により ADAR2 を運動ニューロンでノックアウトした (二個の Flox で挟まれた遺伝子部分は切り取られるため) マウスで、運動ニューロンでは未編集型 GluA2 が発現し、緩徐な運動ニューロン死による進行性運動麻痺を呈する、孤発性 ALS の表現型を再現する唯一の分子病態モデルマウスである (Hideyama et al., J Neurosci 2010) 。

(注9) TAR DNA binding protein of 43 kDa (TDP-43) :  
TDP-43 は、RNA 結合タンパクで ALS の運動ニューロンに異常な物質の集積により形成される構造体 (封入体) の構成要素であることが 2006 年に明らかにされた (Arai et al, BBRC 2006; Neumann et al, Science 2006)。孤発性 ALS の大多数の症例やある種の家族性 ALS ではこの封入体と同時に正常な局在部位である核から TDP-43 の喪失が運動ニューロンに観察されるため (TDP-43 病理)、これは ALS の病理学的指標になっている。ADAR2 の発現低下は、カルシウム透過性 AMPA 受容体の異常な発現、カルシウム依存性プロテアーゼであるカルパインの活性化により TDP-43 病理の原因となるため (Yamashita et al, Nat Commun 2012)、運動ニューロンで TDP-43 病理が消失し、TDP-43 の正常な核内局在を取り戻すことは治療効果の指標になる。

## 8. 添付資料 :

## 孤発性ALSの分子病態モデルマウスAR2

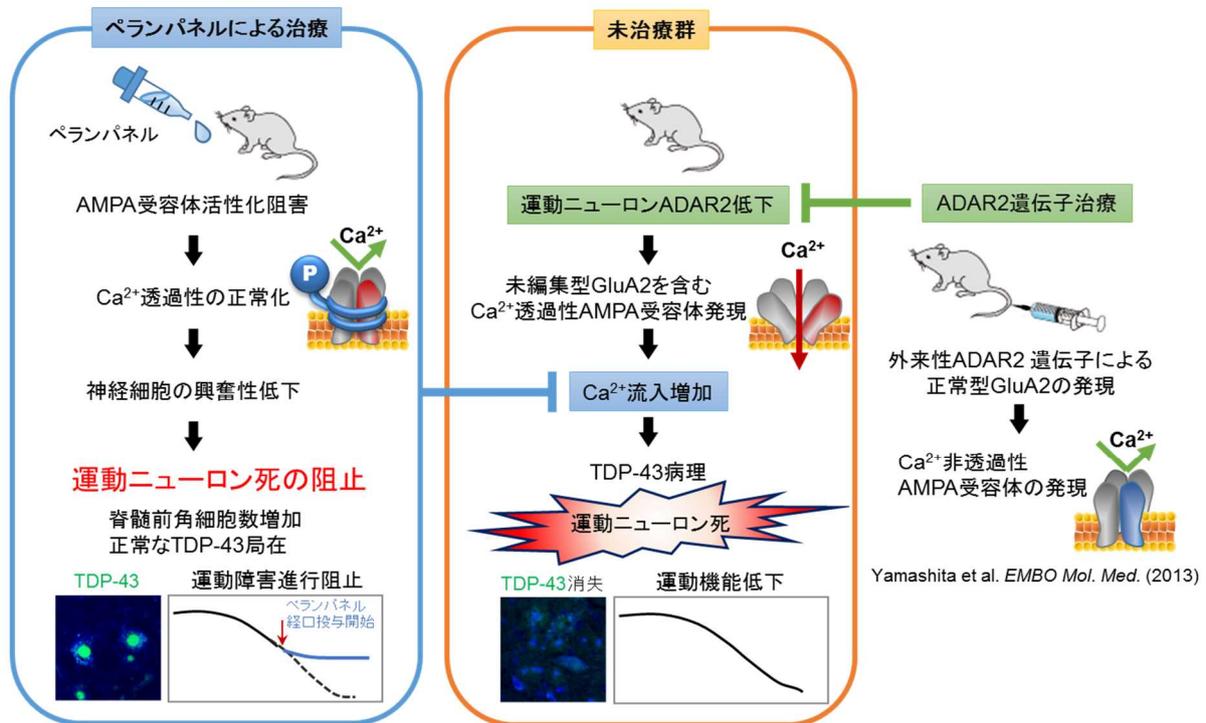


図1：高選択非競合AMPA受容体拮抗剤ペランパネルを用いたALSの治療戦略

孤発性ALSの病態を示すモデルマウスを用いて、AMPA受容体拮抗剤であるペランパネルをマウスに経口投与した結果、進行性の運動ニューロン死が減少し、運動機能低下の抑制、さらにALS特異的な病理変化であるTDP-43病理の正常化が確認された。ペランパネル単独でも有意な効果がみられるが、図に示すように2013年に本研究グループが報告したアデノ随伴ウイルス(AAV)によるADAR2遺伝子治療の標的とは異なるので、両者の併用により相乗効果が期待できる。