

＜シンポジウム 35—5＞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

肝細胞増殖因子による ALS に対する新規治療法の開発

青木 正志 割田 仁 鈴木 直輝 加藤 昌昭 糸山 泰人

(臨床神経 2011;51:1195-1198)

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

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis : ALS) は主に中年期以降に発症し, 上位および下位運動ニューロンを選択的かつ系統的に障害をきたす神経変性疾患である。現在までに有効な治療薬や治療法がほとんどないため, 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。この疾患に対する再生医療の開発においては単なる iPS 細胞から分化させた運動ニューロンなどの細胞補充では不十分であり, 神経変性にいたる環境の改善, すなわちグリア細胞をふくめた神経系の再構築が必要と考えられる。

ALS における病態の解明

ALS 発症者の 5~10% は家族性で発症がみられ, 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⁾。さらには ALS 患者で同定された SOD1 遺伝子変異をマウスやラットに導入することにより, ヒト ALS の病態を非常によく再現することに成功した³⁾。これらの ALS モデル動物を利用して, 治療法が開発が進んでいる。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, VAPB, TDP43 遺伝子などが報告されている。2009 年には新規遺伝子として fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS) 遺伝子が報告された。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 遺伝子をスクリーニングしたところ, ALS 5 家系に遺伝子変異を同定した⁴⁾。わが国においては SOD1 について 2 番目に頻度の高い原因遺伝子と考えられている。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⁴⁾。さらに 2010 年 5 月には広島大学の川上秀史らによって細胞内シグナル伝達に重要な役割を果たす NF-κB (nuclear factor-kappa B) を制御する opti-

neurin 遺伝子が新たな原因遺伝子であることが報告された⁵⁾。このような家系を集積し解析を進めることが ALS 病態の解明および治療法の開発に寄与すると考えられる。

再生医療に向けた ALS モデル動物の開発

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, 世界にさきがけて変異 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³⁾。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ベク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再生医療の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, ES や iPS 細胞から分化させた運動ニューロンを脊髄へ直接移植する研究にも利用されている⁶⁾⁷⁾。

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, わが国の中村敏一らによって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, なかでも 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 (現, 旭川医科大学) 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⁸⁾。

ALS に対する治療法の開発のために, 東北大学神経内科で

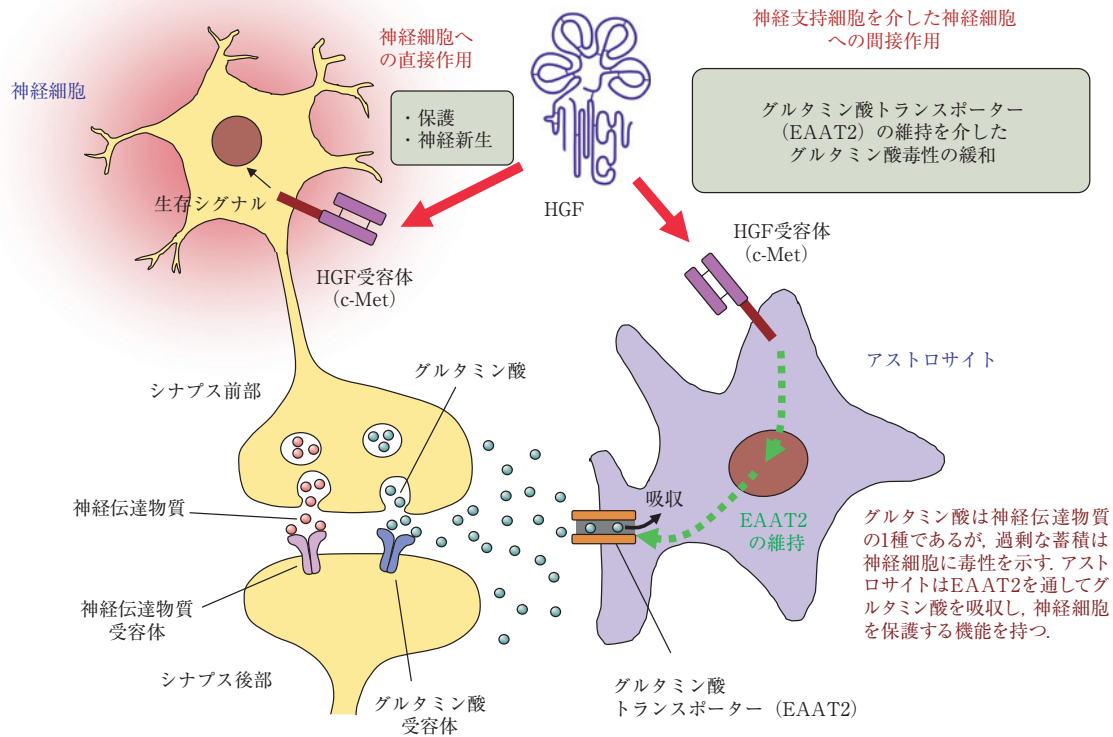


Fig. 1 HGF の ALS 病態における 2 つの作用.

HGF 投与によって脊髄の運動ニューロンにおいて HGF の受容体が活性化される一方で、細胞に死をもたらすカスパーゼの活性化の抑制が確認された。さらには運動ニューロンの周辺にあるアストロサイトではグルタミン酸トランスポーターである EAAT2 の病態進行にともなう低下が抑制された。



Fig. 2 ヒト組み換え HGF 蛋白質製剤の開発スケジュール.

カニクイザルに対して GLP 基準 (Good Laboratory Practice 薬事法によるデータの信頼性を確保するための実施基準) にしたがったヒト型リコンビナント HGF 蛋白髄腔内持続投与の安全性試験 (赤字) を終了し、現在、治験届けを提出するために実施計画書 (プロトコル) の作成をおこなっている。

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³⁾。このラットは従来のマウスに比較して約 20 倍の大きさを持ち、脊髄や脊髄腔に対するアプローチが容易である⁶⁾⁷⁾。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 蛋白の脊髄腔内への持続投与をおこなったところ、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% の増大を示した。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⁹⁾。この効果はこれまでに報告されたモデル動物に対する治療実験の中でもっとも良い成績である。

さらには HGF がどのような機序で ALS に効果があるかを明らかにするための検討では、HGF 投与群では脊髄の運動ニューロンにおいて HGF の受容体が活性化される一方で、細胞に死をもたらすカスパーゼの活性化の抑制が確認された。さらには運動ニューロンの周辺にあるアストロサイトやマイクログリアなどの神経細胞以外の神経組織を構成する細胞にも HGF が作用していることが明らかとなっている (Fig. 1)⁹⁾。

臨床試験に向けた霊長類をもちいた安全性試験

HGF はわが国発の ALS 治療薬候補としてスーパー特区 (中枢神経の再生医療のための先端医療開発特区: 代表 岡野栄之) にも選定され、この研究成果を臨床応用するために大阪大学発のバイオベンチャー企業であるクリングルファーマ社によって GMP 基準を満たすヒト型リコンビナント HGF の生産が開始された。慶応大学との共同研究で霊長類をもちいて HGF の髄腔内投与の安全性を確認するとともに臨床用量の設定の実験をおこなった¹⁰⁾。この結果を受け東北大学のトランスレーショナルリサーチセンター (未来工医学治療開発センター) ではデータマネージメント体制をふくめた臨床試験の準備を進めている。医薬品医療機器総合機構との安全性相談および事前面談も終了し、平成 23 年春の治験届け (第 I 相試験) の提出を目指し、治験をおこなうための実施計画書 (プロトコール) を作成している (Fig. 2)。

おわりに

今回の東日本大震災では東北大学も大きな被害を受けました。それに対して皆様から様々な応援をいただき心から感謝申し上げます。今回の震災により、宮城県は多くの医療関係者や病院も失いました。しかしながら、この地を必ず再建しなければなりません。そのためには少なくとも医療に関してはこれまでと同じものを復元するだけではだめであり、より良い地域医療体制を目指す必要があります。斬新な医療・保健のグランドプランを描いた上で、それに向かって皆で努力する必要があります。また大学病院もより高いレベルを目指すべきです。私たちとしては大学病院の役割である、医薬品開発の原点に立ちもどりたいと思います。とくに、希少疾患、難病の医薬品開発は大学病院や研究所が中心でなければ進みません。東北大学病院は我が国における、とくに難病に対する医薬

品開発の拠点となることによりこの地の復興を図りたいと考えています。

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) 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.
- 4) Suzuki N, Aoki M, Warita H, et al. FALS with FUS mutation in Japan with early onset, rapid progress and basophilic inclusion. *J Hum Genet* 2010;55:252-254.
- 5) Maruyama H, Morino H, Ito H, et al. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 2010;465:223-226.
- 6) Matsumoto A, Okada Y, Nakamichi M, et al. Disease progression of human SOD1 (G93A) transgenic ALS model rats. *J Neurosci Res* 2006;83:119-133.
- 7) Okada Y, Matsumoto A, Shimazaki T, et al. Spatio-temporal recapitulation of central nervous system development by murine ES Cell-derived neural stem/progenitor cells. *Stem Cells* 2008;26:3086-3098.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) Iwanami A, Yamane J, Katoh H, et al. Establishment of graded spinal cord injury model in a nonhuman primate: the common marmoset. *J Neurosci Res* 2005;80:172-181.

Abstract**Regenerative therapies for amyotrophic lateral sclerosis using hepatocyte growth factor**

Masashi Aoki, M.D., Hitoshi Warita, M.D., Naoki Suzuki, M.D.,
Masaaki Kato, M.D. and Yasuto Itoyama, M.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. We have developed rats that express a human SOD1 transgene with two different ALS-associated mutations 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 both its protective effect on motor neurons and its therapeutic potential, we administered human recombinant HGF (hrHGF) by continuous intrathecal delivery to the transgenic rats at the 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. These results should prompt further clinical trials in ALS using continuous intrathecal administration of hrHGF.

(Clin Neurol 2011;51:1195-1198)

Key words: Amyotrophic lateral sclerosis, hepatocyte growth factor, intrathecal administration, mutation, transgenic rats
