

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：筋萎縮性側索硬化症（ALS）新規治療法開発をめざした病態解明
2. 研究開発代表者：青木 正志（東北大学大学院医学系研究科）
3. 研究開発の成果

本研究は、ALS 新規治療法開発を目的として計画された。今年度も新たな研究成果は積極的に論文・学会発表を、また薬事審査経験者のアドバイスのもと実用化シーズの前臨床試験を進め、特許取得をおこなった。さらに、有機的に研究成果を総括し、次年度に向けた研究開発促進と共同研究推進を図るため、ワークショップと成果報告会を開催した。

ALS 治療法開発上の最重要課題を研究開発項目として設定し、(a) 新規 ALS 動物／細胞モデル開発、(b) 主要な ALS 関連分子病態の解明、(c) 病原蛋白伝播と抑止戦略の解明、(d) 診断・病態マーカー開発、(e) 神経再生療法の開発、(f) シーズの前臨床試験、(g) 総合推進会議 を実施した。

(a)および(b) 家族性 ALS 関連 *FUS* および *TARDBP* 変異 iPS 細胞由来の運動ニューロンを用いた病態解析基盤を構築でき、表現型を確認、既存薬スクリーニングを実施した。iPS 細胞／ES 細胞に遺伝子導入することで運動ニューロン分化率を向上させる化合物のハイスループットスクリーニング系を確立しヒットコンパウンドを得た。新規 ALS 動物／細胞モデルとして、ヒト *TFG* 遺伝子導入マウスを作出し下位運動ニューロン障害を見出した。*OPTN* 欠損ヒト変異 *SOD1* 遺伝子導入マウスの解析から、*OPTN* 欠損が *TBK1* を介して *TRIF* 経路を活性化し ALS 症状を一時的に緩和することがわかった。また、*FUS* 機能喪失がもたらす病態を細胞レベルで解明し、海馬特異的 *FUS* ノックダウンによる新規 ALS/前頭側頭型認知症モデルマウスを開発した。さらに、*TDP-43* と関連する重要な核内 Cajal 小体の容積が孤発性 ALS で減少していることを見出した。一方、ALS 病態における神経炎症悪化因子としてグリア細胞由来 *TGF-β* を見出し、神経炎症制御による実験的モデル動物治療に成功した。

(c) *TDP-43* 凝集メカニズム・細胞外伝播メカニズムを解明するため、プロフィリン 1 変異による *TDP-43* 凝集を明らかにし発表した。*TDP-43* 試験管内凝集系を構築した。動物レベルでのエクソソームを介した *TDP-43* 断片の細胞間伝播現象を生体内で証明した。

(d) 孤発性 ALS 診断マーカーとして *IDI1-2* 遺伝子と *PCSK6* 遺伝子コピー数異常を見出し、臨床表現型との関係を解析した。ALS 患者血漿および脳脊髄液を対象とした網羅的マイクロ RNA 解析により、孤発性 ALS 血漿における ALS 病態バイオマーカー候補を見出し報告した。

(e) ALS モデルマウスへの骨髄移植と G-CSF 併用による実験的治療を行い、神経および血管保護効果を見出した。また、再生阻害因子受容体が ALS モデルラット活性化アストロサイトに異所性発現していることを見出した。さらに、神経再生因子 *HGF* 遺伝子導入により運動ニューロン疾患モデルマウスの病態改善・寿命延長効果を得た。

(f) 新規経口薬として開発中の 2-デオキシ-D-グルコースによる ALS モデルマウス進行抑制実験に成功し、病理組織学的有効性を確認できた。また、孤発性 ALS モデルマウスに対する AMPA 受容体アンタゴニスト X の前臨床試験を実施し、投与方法、評価法を決定し、短期および長期投与の安全性・有効性を確認した。さらに、核酸医薬として *TDP-43* 凝集抑制作用を示す *TDP-43* 結合核酸を同定できた。

(g) 総合推進会議としてワークショップと成果報告会を開催した。

以上の成果により、ALS 分子標的治療薬、将来的には神経再生療法の開発につながる本研究の発展が見込まれ、広く難治性神経筋疾患の医薬品開発に貢献すると期待される。