

特別講演



神経細胞死をターゲットとする
アルツハイマー病と
筋萎縮性側索硬化症の研究
Neuronal cell death-oriented research for
Alzheimer's disease and
amyotrophic lateral sclerosis

松岡 正明
Masaaki MATSUOKA

東京医科大学薬理学講座
Department of Pharmacology, Tokyo Medical University

【要旨】 アルツハイマー病 (AD) は、高齢人口の約 3% が罹患する非常に頻度の高い神経変性疾患である。超高齢化社会を迎えた我国では、その克服が医学上の最も大きな課題の一つとなってきた。我々は、AD 神経細胞死のメカニズムに着目した研究を行い、TGFβ2 が APP との結合を介して神経細胞死をひき起こすことを見出し、TGFβ2 仮説を提唱した。また、AD 神経細胞死を抑制する内在性 AD 防御因子ヒューマニン (HN) の特異的な受容体を発見し、AD における HN 療法の理論的な妥当性を示すとともに、臨床応用面では、HN 誘導体コリペリンが全ての AD モデル動物の認知症を改善することを示すことにより、HN 応用療法が神経細胞死を直接抑制する新しい治療法として臨床応用可能な第 3 世代の治療法であることを確立した。また、運動神経特異的な神経変性難病である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の基礎研究を行い、家族性 ALS 遺伝子のひとつ alsin/ALS2 と ALS8 原因遺伝子 VAPB の運動神経細胞死を引き起こすメカニズムの一端を発見した。また孤発性 ALS では神経細胞の周りに存在するグリア細胞内の D-Serine の産生が亢進し、そのために NMDA 受容体を介する神経細胞死が誘導されやすい状態であることを最初に見出した。

はじめに

65 歳以上では人口の約 3.0% が罹患するといわれる極めて発症頻度の高い認知症性神経変性疾患アルツハイマー病 (AD) は疾患特異的な神経細胞死が進行性に起こる疾患群であり、その発症メカニズムはいまだ十分解明されていない。その結果現在有効

な治療手段が十分開発されていない。高齢化社会を迎えた先進国では、このような治療法の乏しい AD の及ぼす影響が社会問題化しつつあり、これらを克服することが医学の最も大きな課題となりつつある。現在世界中で開発中の AD 治療新薬の多くは Aβ の量を減少させる治療薬であるが、臨床治験の初期段階の成績は芳しくなく、この閉塞状況を打破

2009 年 11 月 7 日 第 164 回東京医科大学医学会総会における特別講演

キーワード: アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、神経変性疾患、TGFβ2、ヒューマニン
(別冊請求先: 〒160-8402 東京都新宿区新宿 6-1-1 東京医科大学薬理学講座 松岡 正明)

するために、新たな戦略に基づいた抜本的な診断治療方法の開発が緊急課題となっている。また、運動神経特異的神経変性疾患の代表である ALS も現在治療法が殆どない神経変性難病である。筆者のグループは両者を対象として、神経細胞死のメカニズムを明らかにし、それを直接抑制する治療法の開発研究を行ってきた。本説では、神経細胞死機序解明の基礎研究、内在性神経細胞死抑制因子の基礎研究、同因子の臨床応用研究、等について紹介する。

アルツハイマー病神経細胞死のメカニズム
— TGFβ2 仮説

AD の進行性認知症状出現には、海馬や大脳皮質における広汎な神経細胞死が中心的役割を果たしている。現在までアミロイドベータ（以下 Aβ）仮説、すなわち老人斑の主成分である Aβ が AD におけるすべての現象の根幹にあるという考え方が広く信じられてきた。Aβ が多くの AD の症候に関与することは確実であるが、中心的な役割を果たしている事を支持する直接証拠はない。逆に、現在世界中の製薬企業で治験がなされている 2 種類の脳内 Aβ レベルを低下させる治療法等が現時点ではあまり明瞭な有効性を示せていないこともあり、Aβ が AD 神経細胞死の唯一の原因ではなく、Aβ 以外のメカニズムが重要な役割をはたしている可能性が示唆されている¹⁾。

1990 年以降、我々の共同研究者である西本博士のグループは Aβ 仮説にこだわらないで、独自に開発した神経細胞死アッセイ系を駆使して、世界で最初に家族性 AD の原因遺伝子（APP など）を神経細胞に発現させることにより Aβ 上昇を介さずに神経細胞死を引き起こすことに成功した²⁾。その研究を受け継いだ我々のグループは、APP は TGFβ2 をデスリガンドとするデス受容体あることを発見した。さらにその後、TGFβ2 が AD 脳組織で上昇するメカニズムの一端を示し、AD における神経細胞死の少なくとも一部は不明の機序（Aβ その他などの原因により）で上昇した TGFβ2 が神経細胞膜表面に存在する APP に結合して引き起こされるという理論（TGFβ2 仮説）を提唱してきた³⁻⁵⁾（図 1）。

アルツハイマー病神経細胞死を直接抑制する
因子の基礎研究

加齢は AD の発症にとって最も重要な危険因子で

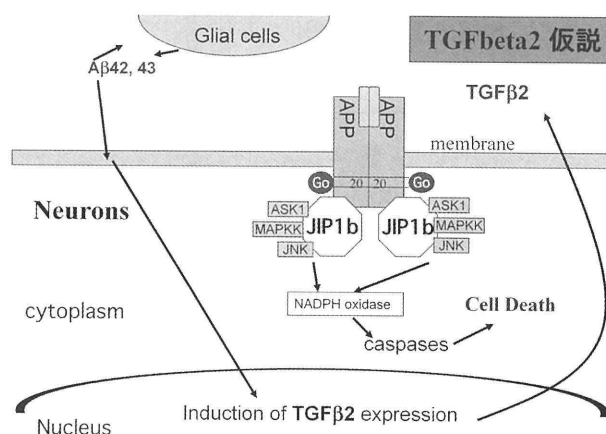


図 1 アルツハイマー病神経細胞死における TGFβ2 仮説。何らかの原因で増加した TGFβ2 が神経細胞膜に局在する APP に結合して神経細胞死カスケードを活性化させる。

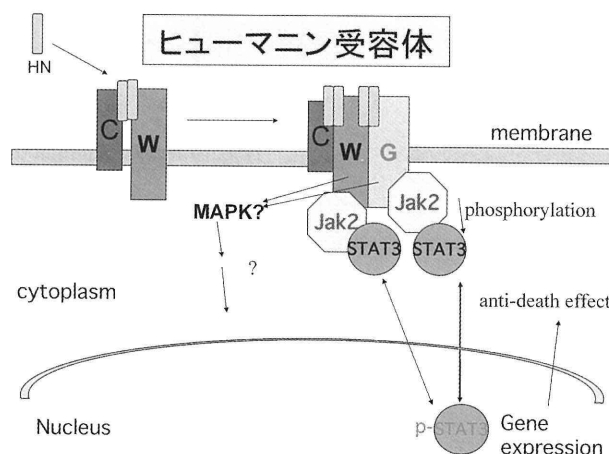


図 2 ヒューマニン受容体の構造。ヒューマニンが結合すると CNTFR/WSX-1/gp130 三量体が形成され、Jak2/STAT3 prosurvival pathway を活性化させる。

あり、若年者に AD はおこらない。Aβ 等の攻撃因子の上昇は若年期には存在する可能性が高いことを考慮すると、この事実は AD には長期の潜伏期間が存在する可能性が高い事を示唆している。そのメカニズムの詳細は未だ解明されていない。我々のグループは、AD の発症には神経細胞死を誘導する攻撃因子が増強するだけでは不十分であり、神経細胞死を抑制する内在性防御機構が存在し、その機能が加齢により不全状態になるために、発症するのではないかと考えた。2001 年、橋本/西本らはこの考え方に基づいて、AD 患者の残存大脳皮質後頭葉より AD 神経細胞死を抑制するペプチド因子ヒューマニン（HN）をコードする cDNA をクローニングした。HN が生理的な細胞死防御因子である事を強く支持

する発見として、ごく最近、我々は、HNの特異的な細胞膜受容体がIL-6受容体群に属し、WSX-1/CNTFR/gp130の3量体からなることを見出した^{6,7)}(図2)。この発見は、生体内に確実にHNあるいはHN類似因子が存在し、生体内でWSX-1/CNTFR/gp130の3量体からなる特異受容体を介してAD関連神経細胞死を抑制していること、すなわち、HN防御因子仮説の妥当性を強く支持している。

アルツハイマー病神経細胞死を直接抑制する 第3世代治療法の開発

また平行して、我々はAD神経細胞死を抑制する治療薬シーズとして臨床応用する研究を行った。AD動物モデルを用いて種々の前臨床試験を行うためには、アミノ酸一次構造を改変することにより、高活性を有するHNペプチド誘導体を開発する事が必須であるが、2005年、超低濃度でAD関連神経細胞死を抑制する最強力なHN誘導体ペプチドColivelinを開発する事に成功した。ADに対する効果が期待されていた9残基神経栄養性ペプチドADNF(activity-dependent neurotrophic factor)をHN誘導体に結合させた融合ペプチドである。Colivelinは経静脈投与により脳血液関門を通過し、また経鼻投与により効率的に脳内移行する。2005-2009に一連の研究により、我々はColivelinを用いてHN療法がTransgenic Mouseモデル(Tg2576など)を含む既存のADモデルすべてに有効であることを示した⁸⁻¹⁰⁾。

今後のさらなる展開としてはさらに、臨床応用への簡便さを考慮して、HN用経口薬を開発する事が理想である。同定したHN受容体サブユニットの構造情報をもとにして、HN様活性を有する小分子スクリーニングを行う事が今後期待される。

筋萎縮性側索硬化症(ALS)の発症メカニズムと 治療法の開発

1990年代以降家族性ALSの原因遺伝子Zn/Cu依存性スーパーオキシドデスムターゼ(SOD1)変異体を中心にALSの病態の詳細な解析が進められてきたがALSの分子発症機構の詳細はいまだ明らかにされていない。2001-2004年、別の家族性ALS遺伝子としてalsin/ALS2, Senataxin/ALS4, VAPB/ALS8が同定された。2005年、我々は「ALS2のコードするAlsinが変異SOD1によって誘導される運動神経細胞死を抑制する生存シグナルを伝える

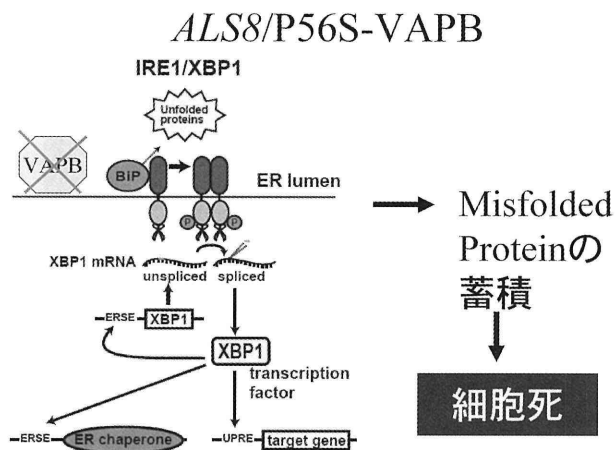


図3 ALS8/VAPBによる筋萎縮性側索硬化症の発症メカニズム仮説。

VAPBは小胞体ストレスのunfolded protein response(UPR)に関係する。VAPBの機能が低下するとUPRが不全状態となり、misfolded proteinの蓄積により運動神経細胞死が起こる。

分子であること、その生存シグナルはAlsin-Rac1-PI3K-Akt3のカスケードを介する」ことを発見した^{11,12)}。

また、2006年、ALS8原因遺伝子VAPBが小胞体ストレスUPR経路のひとつIRE1-XBP1系路に関係することならびにALSを起こすP56S-VAPBはIRE1活性化能を書くミュータントであることを見いだした^{13,14)}(図3)。これらの我々による先駆的な研究などにより現在ではそれぞれのALS原因遺伝子が全く異なる機序によりALS発症を引き起こしている可能性が高いことが示され、ALSは複数の病因病態によりALSという単一の病型を示すという考え方が定着しつつある。さらに、興味深い事に我々は、ALSでは神経細胞の周りに存在するグリア細胞内のD-Serineの産生が亢進し、そのためにNMDA受容体を介する神経細胞死が誘導されやすい状態であることを発見した¹⁵⁾(図4)。

平行して、我々はADに対する効果が期待されていた9残基神経栄養性ペプチドADNFがin vitroで変異SOD1による運動神経細胞死を著明に抑制し、かつ動物ALSモデルに対して運動神経麻痺に有効であることを世界で初めて発見した¹⁶⁾。ADNFはALSに対して、in vitroおよびin vivo両者での有効性が明確に証明された初めてのペプチド性神経栄養因子である。さらにADに関連する神経細胞死の特異的抑制するHNにもALS関連細胞死を抑制する活性があり、ADNFにHN誘導体を融合させたペプ

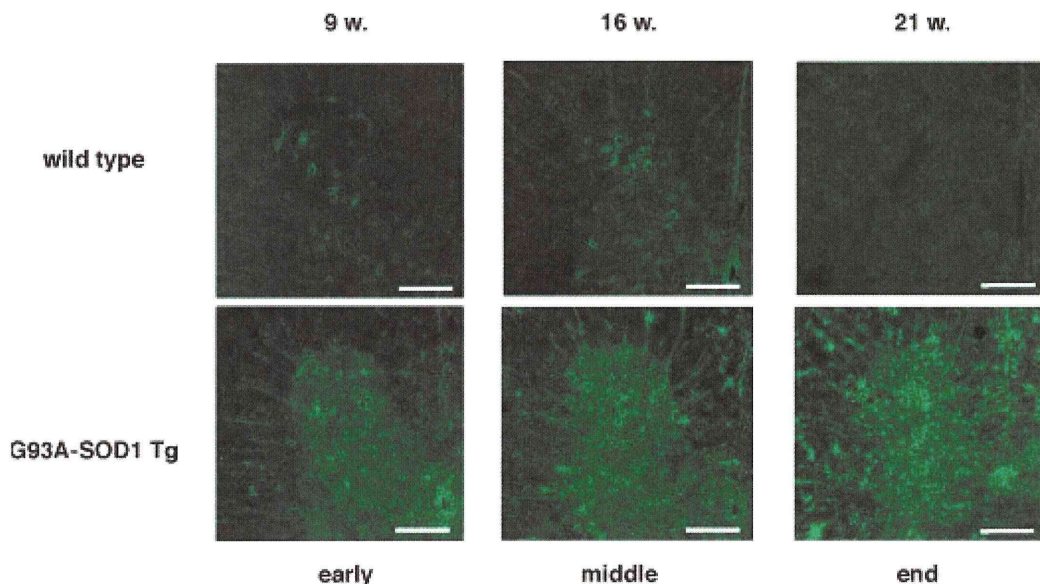


図 4 ALS モデルマウス (G93A-SOD1Tg) では脊髄の D-Serine レベルが上昇する。

チド Colivelin が AD モデルのみならず ALS モデルマウスの生存期間を延長する効果があることを見出した¹⁷⁾。

終わりに

AD の疾患特異的な神経細胞死のメカニズムを解明し治療法を開発するうえで、現在の最も重大な制約事項は、脳萎縮をきたす動物モデルが存在しないことである。現存する家族性 AD 遺伝子を高発現する transgenic mouse では老人斑が形成され高濃度 Aβ 誘導性神経機能異常による認知症状が出現する。しかし、他の有力な AD 病理所見である神経原線維変化や十分な神経細胞死はおこらず、ヒト AD と同様な脳神経細胞死 / 脳萎縮は発生しない。その結果、真の意味での認知症 (神経脱落による認知症) は起こらない。従って、現状の AD 候補薬剤は動物実験により脳神経機能異常に対する効果のみを検証され、脳萎縮に対する有効性を検証できないまま、臨床治験に突入している。筆者は、この事が前臨床試験段階でより効果の期待できる薬物を見つけれないという現在の閉塞状況をきたした大きな原因のひとつであると考えている。

ALS に関しても、近年行われた候補治療薬の臨床治験はことごとく、失敗に終わった。この事実から現存する ALS 動物モデル (変異 SOD1 遺伝子高発現 Transgenic mice の疾患モデルとしての妥当性が強く疑われている。ごく最近 TDP43 という蛋白

質が孤発性 ALS の発症機序に深く関与している証拠が多数出始め、この蛋白質の機能解析を通じてあらたな研究の展開が訪れる可能性がある。

我々は流行に流されず、神経細胞死のメカニズムを解明するという切り口で今後も独自の神経変性疾患研究を進めていきたいと考えている。

文 献

- 1) Hardy J : The amyloid hypothesis for Alzheimer's disease : a critical reappraisal. *J Neurochem* **110** : 1129-1134, 2009
- 2) Yamatsuji T, Okamoto T, Takeda S, Komatsuzaki K, Fukumoto H, Iwatsubo T, Suzuki N, Asami-Odaka A, Ireland S, Kinane TB, Giambarella U, Nishimoto I : G protein-mediated neuronal DNA fragmentation by familial Alzheimer's disease associated V642 mutants of APP. *Science* **272** : 1349-1352, 1996
- 3) Hashimoto Y, Chiba T, Yamada M, Nawa M, Kanekura K, Suzuki H, Terashita K, Aiso S, Nishimoto I, Matsuoka M : Transforming growth factor beta 2 is a neuronal death-inducing ligand for amyloid-beta precursor protein. *Mol Cell Biol* **25** : 9304-9317, 2005
- 4) Matsuoka M, Hashimoto Y, Aiso S, Nishimoto I : Humanin and Colivelin : neuronal-death-suppressing peptides for Alzheimer's disease and ALS. *CNS Drug Rev* **12** : 113-122, 2006
- 5) Matsuoka M : HUMANIN ; A Defender against Alzheimer's disease. *Recent Patents CNS Drug Discov* **4** : 37-42, 2009
- 6) Hashimoto Y, Kurita M, Aiso S, Nishimoto I, Matsuoka M : Humanin inhibits neuronal cell death by interacting with a cytokine receptor complex or com-

- plexes involving CNTF receptor alpha/WSX-1/gp130. *Mol Biol Cell* **20** : 2864-2873, 2009
- 7) Matsuoka M, Hashimoto Y: Humanin and the receptors for Humanin. *Mol Neurobiol.* in press.
 - 8) Chiba T, Yamada M, Hashimoto Y, Sato M, Sasabe J, Kita Y, Terashita K, Aiso S, Nishimoto I, Matsuoka M: Development of a femtomolar-acting Humanin derivative named Colivelin by attaching ADNF to its N terminus: characterization of Colivelin-mediated neuroprotection against Alzheimer's disease-relevant insults in vitro and in vivo. *J Neurosci* **25** : 10252-10261, 2005
 - 9) Yamada M, Chiba T, Sasabe J, Terashita K, Aiso S, Matsuoka M: Nasal Colivelin Treatment ameliorates Memory Impairment Related to Alzheimer's Disease. *Neuropsychopharmacology* **33** : 2020-2033, 2008
 - 10) Chiba T, Yamada M, Sasabe J, Terashita K, Shimoda M, Matsuoka M, Aiso S: Amyloid-beta causes memory impairment by disturbing the JAK2/STAT3 axis in hippocampal neurons. *Mol Psychiatry* **14** : 206-222, 2009
 - 11) Kanekura K, Hashimoto Y, Kita Y, Sasabe J, Aiso S, Nishimoto I, Matsuoka M: A Rac1/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt3 anti-apoptotic pathway, triggered by AlsinLF, the product of the *ALS2* gene, antagonizes Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD1) mutant-induced motoneuronal cell death. *J Biol Chem* **280** : 4532-4543, 2009
 - 12) Kanekura K, Hashimoto Y, Kita Y, Sasabe J, Aiso S, Nishimoto I, Matsuoka M: A Rac1/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt3 anti-apoptotic pathway, triggered by AlsinLF, the product of the *ALS2* gene, antagonizes Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD1) mutant-induced motoneuronal cell death. *J Biol Chem* **280** : 4532-4543, 2005
 - 13) Kanekura K, Nishimoto I, Aiso S, Matsuoka M: Characterization of amyotrophic lateral sclerosis-linked P56S mutation of vesicle-associated membrane protein-associated protein B (VAPB /ALS8). *J Biol Chem* **281** : 30223-30233, 2006
 - 14) Suzuki H, Kanekura K, Levine T, Kohno K, Olkkonen V, Aiso S, Matsuoka M: ALS-linked P56S-VAPB mutant predisposes motor neurons to ER stress-induced death by inducing detergent-insoluble aggregation of wild-type VAPB. *J Neurochem* **108** : 973-998, 2009
 - 15) Sasabe J, Chiba T, Yamada M, Okamoto K, Nishimoto I, Matsuoka M, Aiso S: D-Serine is a key determinant of glutamate toxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J* **26** : 4149-4159, 2007
 - 16) Chiba T, Hashimoto Y, Tajima H, Yamada M, Kato R, Niikura T, Terashita K, Schulman H, Aiso S, Kita Y, Matsuoka M, Nishimoto I: Neuroprotective effect of activity-dependent neurotrophic factor against toxicity from familial amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant SOD1 in vitro and in vivo. *J Neurosci Res* **78** : 542-552, 2004
 - 17) Chiba T, Yamada M, Sasabe J, Terashita K, Aiso S, Matsuoka M, Nishimoto I: Colivelin prolongs survival of an ALS model mouse. *Biochem Biophys Res Commun* **343** : 793-798, 2006