

平成25年6月6日

報道機関 各位

新潟大学

【英国科学雑誌「Human Molecular Genetics」掲載】  
筋萎縮性側索硬化症の新たな病態メカニズムの発見

新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センターの石原 智彦 助教, 小野寺 理 教授らの研究グループは, 神経難病の一つである筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis, 以下 ALS) における運動神経細胞死に核内小体である GEM 小体の減少と機能性 RNA の一種である snRNA の発現低下が関与することを明らかにしました。

今回の成果は, ALS 発症の仕組みの解明につながるるとともに, 将来的な治療法の開発にも結びつくことが期待できます。

詳細は別紙をご覧ください。

※本研究成果は, 英国の科学雑誌「Human Molecular Genetics」への掲載に先立ちオンライン版 (6月4日付け: 日本時間6月6日) で公開されました。

本件に関するお問い合わせ先  
新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター  
分子神経疾患資源解析学分野  
チームリーダー 小野寺 理 (おのでら おさむ) 教授  
研究員 石原 智彦 (いしはら ともひこ) 助教  
E-mail (小野寺): onodera@bri.niigata-u.ac.jp

2013年6月6日  
新潟大学脳研究所 生命科学リソース研究センター

## 筋萎縮性側索硬化症の新たな病態メカニズムの発見

### ポイント

- ・ 代表的な神経難病である筋萎縮性側索硬化症の病態生理の一つを解明
- ・ 小児の運動神経変性疾患である脊髄性筋萎縮症との共通性
- ・ RNA代謝に関連した病態生理からの将来的な治療法への期待

### 要旨

新潟大学脳研究所(高橋均所長)は、神経難病の一つである筋萎縮性側索硬化症(Amyotrophic lateral sclerosis、以下 ALS)<sup>\*1</sup>における運動神経細胞死に核内小体<sup>\*2</sup>であるGEM<sup>\*3</sup>小体の減少と機能性RNAの一種であるsnRNA<sup>\*4</sup>の発現低下が関与することを明らかにしました。これは新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター 分子神経疾患資源解析学分野 石原智彦助教、小野寺理教授らの研究グループによる成果です。

ALSはいまだに病態機序が解明されておらず、根本的な治療法の確立されていない代表的な運動神経変性疾患です。近年の研究からその運動神経細胞死にはTDP-43<sup>\*5</sup>という蛋白質の機能喪失が関連することが確実視されていますが、その具体的な病態機序はなお明らかになっていません。

研究グループは小児の運動神経変性疾患である脊髄性筋萎縮症(SMA)<sup>\*6</sup>で明らかになっている、GEM小体およびsnRNAの減少に注目しました。TDP-43蛋白質の量を低下させた培養細胞およびALS患者組織を対象として、免疫染色法<sup>\*7</sup>でGEMの減少を、逆転写定量PCR<sup>\*8</sup>でsnRNAの低下がみられることをそれぞれ明らかにしました。snRNAはmRNA<sup>\*9</sup>のスプライシング<sup>\*10</sup>に関与する機能的RNAであり、ALSの病態生理にスプライシング異常が重要であることが想定されます。今回の成果は、ALS発症の仕組みの解明につながるとともに、将来的な治療法の開発にも結びつくことが期待できます。また2つの運動神経変性疾患に共通するメカニズムが存在することを示した点からも重要な発見といえます。

本研究成果は、英国の科学雑誌『*Human Molecular Genetics*』に掲載されるに先立ちオンライン版(6月4日付け:日本時間6月6日)に掲載されました。

### 背景

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は代表的な運動神経変性疾患であり、成人発症で進行性に全身の運動神経が障害され最終的には呼吸不全を来します。いまだに病気の進行をとめる有効な治療法が開発されていない神経難病の一つです。ALSの運動神経細胞死を説明する有力な仮説の一つに「TDP-43という蛋白質の機能喪失により細胞死がおこされる」というものがあります。TDP-43は細胞内の「核」という場所に通常は存在していますが、ALS患者の運動神経細胞では核からTDP-43が消失し、細胞質内で封入体という塊を形成しているからです。また本研究グループを含む複数の施設よりTDP-43遺伝子の異常がALSを引き起こす事が報告されています。

しかしTDP-43の機能喪失が、どのように神経細胞死に関わるのかについては、様々な説が提唱されていますが、いまだ決定的なものはありません。本研究では小児の運動神経変性疾患である、脊髄性筋萎縮症(SMA)で明らかになっている、GEM小体とsnRNAの低下に注目し、ALSにおいてもTDP-43の機能低下を介して同様の異常が存在することを明らかにすることを目指しました。

## 研究手法と成果

研究グループは、TDP-43 と GEM 小体が細胞の核内でしばしば隣り合って存在すること（図 1）に注目しました。このような場合、TDP-43 が GEM 小体の形成に関与していることが予想されます。これを確認するために RNA 干渉<sup>\*11</sup> で TDP-43 蛋白質を低下させた培養細胞を作成し、免疫染色を行い核内の GEM 小体の数を観測しました。すると TDP-43 が低下した細胞では明らかに GEM 小体が低下することがわかりました。さらに ALS 患者由来の脊髄運動神経細胞でも同様の検討を行ったところ、対照群と比較して GEM 小体数の明らかな低下を認めました。

GEM 小体の機能として snRNA の成熟、安定に関与することが知られており、GEM 小体の低下している細胞では snRNA の低下が予想されます。これを裏付けるために、定量的逆転写 PCR 法で snRNA の定量を行いました。まず培養細胞での実験において TDP-43 の低下が snRNA 低下を引き起こすこと、細胞の種類によってその効果が異なることを確認しました。さらに ALS 患者由来の脊髄および大脳皮質運動野においても snRNA の低下があることを認めました。ALS で障害されない小脳や腎臓などの臓器ではこの低下は認めませんでした。snRNA は複数の種類がありますが、ALS 障害組織においては U12 snRNA が主に低下していました。他施設から報告されている SMA の先行研究でも U12 snRNA の低下が報告されています。我々の研究結果からは運動神経変性疾患である ALS と SMA に共通するメカニズムとして、U12 snRNA 低下を介したスプライシング異常があることが想定されました。

## 今後の期待

ALS、SMA を含めた運動神経変性疾患は難治性の進行性疾患であり、病態生理の解明と治療法の確立が望まれます。今回の成果から運動神経変性疾患の共通の病態生理としての U12 snRNA の低下とスプライシング異常が想定され、より具体的な運動神経細胞死の仕組みの解明につながることを期待できます。また先行する SMA の治療研究を ALS に応用することも期待できます。また 2 つの運動神経変性疾患に共通するメカニズムが存在することを示した点からも重要な発見といえます。

## 原論文情報

Tomohiko Ishihara、Yuko Ariizumi、Atsushi Shiga、Taisuke Kato、Chun-Feng Tan、Tatsuya Sato、Yukari Miki、Mariko Yokoo、Takeshi Fujino、Akihide Koyama、Akio Yokoseki、Masatoyo Nishizawa、Akiyoshi Kakita、Hitoshi Takahashi、Osamu Onodera “Decreased number of Gemini of coiled bodies and U12 snRNA level in amyotrophic lateral sclerosis” *Human Molecular Genetics*, 2013 doi: 10.1093/hmg/ddt262

## 発表者 お問い合わせ先

新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター

分子神経疾患資源解析学分野

チームリーダー 小野寺 理（おのでら おさむ）

研究員 石原 智彦（いしはら とむひこ）

E-mail（小野寺）：onodera@bri.niigata-u.ac.jp







内の RNA の発現量を定量することができる。

#### 9. mRNA (messenger RNA)

蛋白質の設計図となる塩基情報と構造を持った RNA をさす。DNA から転写された mRNA 前駆体は実際に蛋白質に翻訳される領域を含むエクソンと蛋白質に翻訳されないイントロンからなる。後述するスプライシング反応によりイントロンが除去され、mRNA が作成される。mRNA はさらに cap 構造や、polyA 鎖が付加されることにより、翻訳活性や安定性が向上する。

#### 10. スプライシング

mRNA 前駆体にあるイントロンを除去し、前後のエクソンを結合する反応。snRNA がスプライシング反応において中心的な役割を果たす。スプライシングが終了した成熟 mRNA を設計図として蛋白質が翻訳される。ひとつの mRNA 前駆体において異なる場所でスプライシングが起こり、複数の成熟 mRNA が生産されることがある。これは選択的スプライシングと呼ばれ、限られた遺伝情報から複数の蛋白質を合成する機構として重要である。逆にスプライシングの異常は、本来作られるべき蛋白質の量的な減少や機能低下、あるいは異常な機能をもった蛋白質の合成の原因となる。

#### 11. RNA 干渉

遺伝子の発現を抑制する手法の一つ。細胞内に人工的に合成した短い二本鎖 RNA を導入することにより、対応する塩基配列をもった mRNA が分解される。この方法により塩基配列が判明している特定の遺伝子の発現を選択的に抑制することができる。