

平成 21 年 5 月 13 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18500280

研究課題名（和文）筋萎縮性側索硬化症と変異 SOD1 導入マウスの病理学的研究

研究課題名（英文）Neuropathological study of amyotrophic lateral sclerosis and mutant SOD1 transgenic mice

研究代表者

佐々木 彰一（SASAKI SHOICHI）

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40119962

研究成果の概要：孤発性筋萎縮性側索硬化症（ALS）の脊髄前角、後根神経節および家族性 ALS の動物モデルである変異 SOD1(H46R)導入マウスの脊髄におけるミトコンドリア（Mt）を電子顕微鏡で観察した。孤発性 ALS では前角細胞質内の Mt 内部に線維状の封入体が、後根神経節の Mt 内に縦断面で線維状の、横断面で管状の封入体が、変異 SOD1(H46R)導入マウスでは主に軸索の Mt 内部に電子密度の高い無構造の異常構造物がみられた。これらの Mt の形態異常は、筋萎縮性側索硬化症の病態機序に Mt の異常が関与していることを示唆している。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,500,000	0	1,500,000
2007 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	600,000	4,100,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経解剖学・神経病理学

キーワード：筋萎縮性側索硬化症、運動ニューロン疾患、変異 SOD1 導入マウス、脊髄前角、後根神経節、ミトコンドリア、封入体、超微細構造、

## 1. 研究開始当初の背景

現在、筋萎縮性側索硬化症（ALS）における神経変性の病態機序として最も有力な仮説のひとつは、ミトコンドリアの傷害説である。

(1) ヒト孤発性 ALS のミトコンドリアの超微細構造の異常に関する報告は極めて少なく、特に脊髄の運動神経においては皆無である。

(2) ヒト孤発性 ALS の後根神経節におけるミトコンドリアの異常に関する報告はない。  
(3) わが国で開発された変異 SOD1(H46R)導入マウスのミトコンドリア異常の報告は皆無である。

## 2. 研究の目的

(1) ヒト孤発性 ALS の脊髄運動神経におけるミトコンドリアの超微細構造を観察してその異常を明らかにする。

(2) ヒト孤発性 ALS の後根神経節におけるミトコンドリアの超微細構造の異常を明らかにする。

(3) 変異 SOD1(H46R)導入マウスの脊髄における病変分布を明らかにし、ミトコンドリアの超微細構造の異常についても明らかにする。

以上の検索から、ミトコンドリアの異常が ALS の病態機序に関与しているかどうかを明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 孤発性 ALS および対照例の脊髄および後根神経節を切り出して 2%グルタルールに固定し、型の如く処理したあとエポキシに包埋した。プラスチック切片にトルイジンブルー染色を施して光学顕微鏡で観察し、至適部位の超薄切片を作成、酢酸ウラニウムとクエン酸鉛の二重染色を施して電子顕微鏡で観察した。

(2) 孤発性 ALS の後根神経節を切り出し、(1)と同様の方法で処理して電子顕微鏡で観察した。

(3) 変異 SOD1(H46R)導入マウスおよび対照マウスを灌流固定後に脊髄、前根および後根を切り出し、孤発性 ALS と同様の方法で処理して電子顕微鏡で観察した。

## 4. 研究成果

(1) 孤発性 ALS の運動神経細胞ではミトコンドリアに種々の構造異常がみられ、孤発性 ALS の運動ニューロンの変性過程の病態機序にミトコンドリアの異常が関与していることを世界で初めて国際学会(第 16 回 ALS/MND 国際会議)で発表した。さらにイ英文誌(J Neuropathol Exp Neurol)に発表した。

(2) 孤発性 ALS の後根神経節におけるミトコンドリア内に封入体がみられ、対照例より高頻度に見られることから、ALS では後根神経節のミトコンドリアが傷害されていること、また ALS では病変が運動神経系にとどまらず、感覚系を含むより広範囲な部位にまで及んでいることを国際学会(第 18 回国際 ALS/MND 会議)で発表した。さらに英文誌(Acta Neuropathol)に発表した。

(3) H46R 変異 SOD1 導入マウスの脊髄における病変分布を明らかにし日本神経学会総会で発表した。さらに、英文誌(J Neuropathol Exp Neurol)に発表した。また、脊髄前角では前発症期から主に軸索のミトコンドリア内部に形態異常が認められたことから、ミトコンドリアの異常が同マウスの軸索流傷害に関与していることを国際学会(第 19 回国際 ALS/MND 会議)で発表した。さらに、英文誌(J Neuropathol Exp Neurol)に発表した。

以上の報告は、ALS における将来の治療戦略として、ミトコンドリアを保護あるいはその機能を賦活させる薬物が有用である可能性を示唆している。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 16 件)

- 1) Shibata N, Kakita A, Takahashi H, Ihara Y, Nobukuni K, Fujimura H, Sakoda S, Sasaki S, et al.: Activation of signal transducer and activator of transcription-3 in the spinal cord of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegener Dis* 6:118-126, 2009. 査読有
- 2) Sasaki S, Aoki M, Nagai M, Kobayashi M, Itoyama Y.: Mitochondrial alterations in transgenic mice with an H46R mutant SOD1 gene. *J Neuropathol Exp Neurol* 68:365-373, 2009. 査読有
- 3) Sasaki S, Shirata A, Yamane K, Iwata M.: Involvement of the spinal motor neurons in parkin-positive autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Neuropathology* 28:74-80, 2008. 査読有
- 4) 佐々木彰一: 筋萎縮性側索硬化症の臨床病型. *東女医大誌* 78:E19-E25, 2008. 査読無
- 5) 佐々木彰一: 「ALS - 臨床と研究の最新情報」 孤発性 ALS 古典型 臨床症候と経過. *Clinical Neuroscience* 26:268-269, 2008. 査読無
- 6) 橋詰良夫、汪寅、佐々木彰一: アテローム塞栓症による脊髄梗塞. *脊椎脊髄ジャーナル*, 21: 95-98, 2008. 査読無
- 7) 佐々木彰一: 注目される感染症: 診断と治療の進歩. I I . 人獣共通感染症. 5 . バリアント CJD. *日本内科学会雑誌* 96(11):2423-2428, 2007. 査読無
- 8) 佐々木彰一: 「ALS: 研究と診療の進歩」 ALS の病型 臨床と病理 . *BRAIN and NERVE* 59(10):1013-1021, 2007. 査読無
- 9) Sasaki S, Nagai M, Aoki M, Komori T, Itoyama Y, Iwata M.: Motor neuron disease in transgenic mice with an H46R mutant SOD1

gene. *J Neuropathol Exp Neurol* 66:517-524, 2007. 査読有

10) Sasaki S, Iwata M.: Mitochondrial alterations in the spinal cord of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 66:10-16, 2007. 査読有

11) Shibata N, Kawaguchi M, Uchida K, Kakita A, Takahashi H, Sasaki S, et al.: Protein-bound crotonaldehyde accumulates in the spinal cord of superoxide dismutase-1 mutation-associated familial amyotrophic lateral sclerosis and its transgenic mouse model. *Neuropathology* 27:49-61, 2007 査読有

12) Sasaki S, Horie Y, Iwata M.: Mitochondrial alterations in dorsal root ganglion cells in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol* 114:633-639, 2007 査読有

13) Sasaki S, Warita H, Komori T, Murakami T, Abe K, Iwata M. Parvalbumin and calbindin D-28k immunoreactivity in transgenic mice with a G93A mutant SOD1 gene. *Brain Res* 1083:196-203, 2006. 査読有

14) Sasaki S, Komori T, Iwata M. Neuronal inclusions in sporadic motor neuron disease are negative for alpha-synuclein. *Neurosci Lett* 397:15-19, 2006. 査読有

15) 佐々木彰一: ALS の亜型. *臨床神経学* 46(11):825-827, 2006 査読無

16) 佐々木彰一: バリアント CJD. *化学療法の領域* 22:45-50, 2006. 査読無

〔学会発表〕(計 10 件)

1. 佐々木彰一, 武田貴裕、本間温、内山真

一郎： 孤発性筋萎縮性側索硬化症の脊髄前角細胞における小胞体の変化. 第 50 回日本神経病理学会総会, 2009 年 6 月 4-6 日、高松

2. 佐々木彰一, 武田貴裕、本間温、柴田亮行、小林槇雄、内山真一郎： 孤発性 ALS の脊髄前角における TDP-43 免疫活性の細胞内分布. 第 50 回日本神経学会総会, 2009 年 5 月 20-22 日、仙台

3. Sasaki S, Nagai M, Aoki M, Itoyama Y. Mitochondrial alterations in transgenic mice with an H46R mutant SOD1 gene. 19<sup>th</sup> International symposium on ALS/MND. Birmingham, UK, Nov 3-5, 2008

4. 佐々木彰一, 永井真貴子、青木正志、糸山泰人、岩田誠： H46R 変異 SOD1 導入マウスのミトコンドリア異常. 第 49 回日本神経学会総会, 2008 年 5 月 15-17、横浜

5. Sasaki S, Iwata M. Mitochondria in dorsal root ganglion cells are affected in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. 18<sup>th</sup> International symposium on ALS/MND. Toronto, Canada, Dec 1-3, 2007 (ALS and other motor neuron disorders 8 Suppl 1:130, 2007)

6. Sasaski S, Shirata A, Yamane K, Iwata M. Involvement of the spinal autonomic nervous system in parkin-positive autosomal recessive juvenile parkinsonism. 5<sup>th</sup> Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience. Kyoto, Japan, Oct.5-8, 2007

7. 佐々木彰一, 本間温、広井敦子、柴田亮行、小林槇雄、岩田誠： 孤発性筋萎縮性側索硬化症の後根神経節におけるミトコンドリアの異常. 第 48 回日本神経病理学会総会, 2007 年 5 月 30-6 月 1 日、東京

8. 佐々木彰一, 永井真貴子、青木正志、小森隆司、糸山泰人、岩田誠： H46R 変異 SOD1

導入マウスの病理像. 第 48 回日本神経学会総会、2007 年 5 月 16-18、名古屋

9. Sasaki S, Iwata M. Neuronal inclusions in sporadic motor neuron disease are negative for alpha-synuclein. 17<sup>th</sup> International symposium on ALS/MND. Yokohama, Japan, Nov 30-Dec 2, 2006 (ALS and other motor neuron disorders 7 Suppl 1:164, 2006)

10. Sasaki S, Iwata M. Neuronal inclusions in sporadic motor neuron disease are negative for alpha-synuclein. XI. International congress on neuromuscular disease. Istanbul, Turkey, July 2-7, 2006 (Neuromuscular disorders 16 Suppl 1:S66, 2006)

[図書](計 5 件)

1. Sasaki S: Determination of altered mitochondria ultrastructure by electron microscopy. "Protein misfolding and cellular stress in disease and ageing - Concepts and Protocols". Methods in Molecular Biology. (ed.J. Walker). Humana Press/Springer. (in press)

2. 佐々木彰一：神経症状と検査異常。8 . 1) 症状。6. 筋萎縮・筋力低下。チャート病態 内科診断学. 中外医学社(印刷中)

3. 佐々木彰一：老化. サブテキスト神経学. 医学書院(印刷中)

4. 佐々木彰一：筋萎縮性側索硬化症の近況 . Year note series. Selected articles. 2010 岡庭 豊編。メディクメディア社, 東京, p1697-1711, 2009

5. 佐々木彰一：筋萎縮性側索硬化症. 「整形外科診療実践ガイド」 守屋秀繁、糸満盛憲、内田淳正、荻野利彦、黒坂昌弘、戸山芳昭編集、文光堂、東京、p450-452, 2006

6 . 研究組織

(1)研究代表者

佐々木 彰一 ( SASAKI SHOICHI )  
東京女子医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：40119962

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし