

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461316

研究課題名(和文)軸索膜電位とイオンチャネル機能異常をターゲットとしたALSの新規治療法の開発

研究課題名(英文)A new therapeutic attempt to target neuronal ionic channels for ALS

研究代表者

野寺 裕之(NODERA, Hiroyuki)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・講師

研究者番号：40363147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：神経変性疾患モデルマウスに対して神経イオンチャネル機能異常が果たす役割、あるいは神経イオンチャネル機能調整薬を用いて治療ターゲットにすることで神経保護作用を持つ、という仮説を立てて評価を行った。

通常用いられているSODモデルマウスは発症時期が早期であり、かつ一旦発症すると急激に機能低下が起こるため、イオンチャネル機能調整薬では臨床効果を認めなかった。より緩徐発症の新規モデルマウスを当施設で作成しており、本研究が終了した後も引き続き今回の仮説を用いた研究を行っていく。

研究成果の概要(英文)：Neuronal ionic channels have been considered to play a major role in neurodegenerative diseases such as amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Medications that influence ionic channels have been administered to SOD1 model mice. There was no significant clinical neuroprotective effect by any of the agent, presumably due to its rapid progression after onset. We developed a new animal model for ALS that has slower onset and progression that mimics human diseases. We continue to test the channel hypothesis with the use of the new animal model.

研究分野：臨床神経生理学

キーワード：筋萎縮性側索硬化症 イオンチャネル 神経保護作用

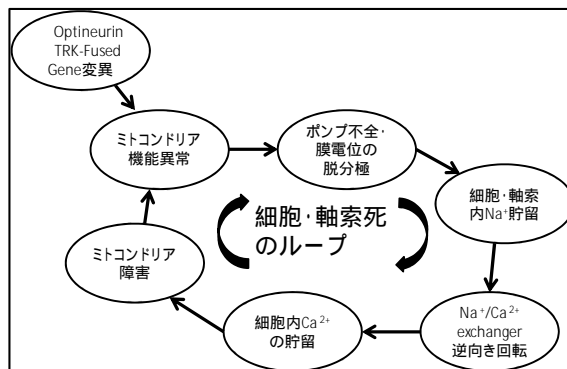
1. 研究開始当初の背景

ALSは代表的な神経変性疾患であり、多くは弧発症である。1993年に報告されたSOD1遺伝子に加え、最近ALS関連遺伝子が多数報告されており、我々の施設からはOptineurin変異を報告した(Maruyama, Nodera, et al 2010)。また、ALS関連疾患である遺伝性近位優位運動感覚ニューロパシー(HMSN-P)の遺伝子がTRK-fused geneであることも我々は報告した(Ishiura, et al, 2012)。運動ニューロン死に対するこれらの遺伝子の関与は不明であるが、両遺伝子とも細胞輸送に関与することからミトコンドリア機能異常を引き起こすことが推察されている。さて、ミトコンドリア障害によりNa⁺-K⁺-ATPポンプが障害され膜電位を脱分極にシフトさせ神経興奮性が異常亢進する。ポンプ不全により細胞内に貯留したNa⁺をくみ出す結果、細胞内Ca²⁺が上昇しミトコンドリア障害をさらに増悪させる負のスパイラルを来す。神経軸索の膜電位を規定するのは細胞内外のイオン勾配である。電位依存性イオンチャネルはごく短時間のみ開口するため、膜電位に対する影響は小さい。それに対し、開口時間の長いイオンチャネルは膜電位に影響を及ぼす。例えばMチャネルと言われる遅いK⁺チャネルは開口により静止膜電位を過分極側にシフトする。また電位依存性Na⁺チャネルの一部は持続性Na⁺電流としてNa⁺を長時間流入させるため膜電位は脱分極側にシフトする。そのため、これらチャネルの機能調節により膜電位をコントロールし、神経興奮性を改善させることが可能である。遅いK⁺チャネル作動薬であるレチガビン(retigabine)は抗てんかん薬として欧米で最近承認された。また、持続性Na⁺電流は慢性狭心症の増悪因子であり、その阻害薬であるラノラジン(ranolazine)は数年前に欧米で承認されている。いずれの薬物とも神経変性疾患への使用はほとんどなされていない。我々はシスプラチンを用いた末梢神経障害モデルマウスにおいてレチガビンが神経保護作用を持つことを初めて報告した(Nodera, 2011)。シスプラチン投与マウスでは末梢神経膜電位が脱分極側にシフトし、レチガビン投与により膜電位が正常化することを示した。以上の背景から、運動神経膜電位とイオンチャネル機能の異常はミトコンドリア機能異常から生じ、運動神経変性に関わっていることが示された。イオンチャネル調節薬の使用によりこれらの異常を改善し、ALSモデル動物の予後を改善することが実際に可能であるかをこの研究では明らかにする。

2. 研究の目的

上記の背景およびこれまでの研究成果をもとに、本研究はイオン調節薬による膜電位とイオンチャネル機能異常の改善がALSの治療ターゲットとして有望であることを解明

するため、以下のことを明らかにする。



レチガビンとラノラジンはALSモデルマウスに対し安全性を持つこと

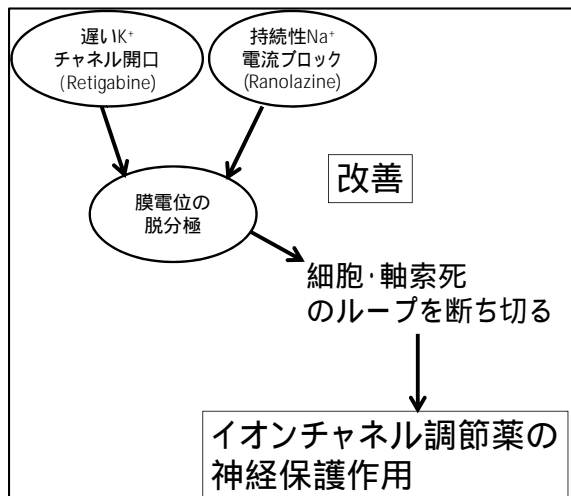
非侵襲的電気生理検査によりALSモデルマウスの発症時期をより早期に特定出来ること、また運動神経障害のバイオマーカーとして経過観察に有用なこと

レチガビンやラノラジン治療がALSモデルマウスの生命予後や運動機能を改善すること

レチガビンやラノラジン治療を行ったALSモデルマウスではALSに特徴的な病理変化や封入体の産生を抑制すること

3. 研究の方法

SOD1変異ALSモデル雄マウスを用いる。自然経過は体重、運動検査、神経伝導検査、軸索興奮性検査を用いて行う。レチガビンあるいはラノラジンを生後第6週から定期的に腹腔内投与し同様の手法で経過を観察する。自然経過による発症時期にすべての群から脳脊髄標本を作成し、イオンチャネル調節薬の投与による残存神経数の比較を行い、エンドポイントでも同様の比較を行う。発症早期に脊髄組織よりミトコンドリアを単離し、ミトコンドリア機能の比較を各群で行う。さらに、最近開発された、TFG遺伝子変異による運動感覚ニューロパシーモデル動物を用いて同様の手技を行い、イオンチャネル機能調整薬が神経変性疾患の治療ターゲットに適するかを検討する。



4. 研究成果

ALSのモデル動物として標準的なSOD1マウスを用いて自然歴を調べ、行動学的に歩行速度が低下すること、神経伝導検査により複合筋活動電位が低下していくことを確認した。末梢神経イオンチャンネル機能異常を評価するため閾値追跡法を行い、末梢神経の膜電位の異常が生じることを確認した。イオンチャンネル調整薬として、メキシレチン・レチガビン・ラノラジンを投与したところ、統計学的に優位な延命効果及び、複合筋活動電位の振幅低下の抑制効果を認めなかった。

その理由として、SOD1遺伝子変異モデル動物では発症までの期間が短く、かつ一旦発症すると急激に機能異常が起こるため、十分な治療効果を認めることができなかつたと考える。

そのため、より緩徐に発症・進行を示すモデル動物の開発・使用が重要と考えた。我々は最近TFG遺伝子変異モデル動物を開発し、40週から50週で発症する緩徐進行モデルを得た。そのモデルを用いて、同様の方法を用いて神経保護作用がイオンチャンネル調節薬による得ることができるかを引き続き実証している。

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 12 件)

1: Nodera H, Takamatsu N, Matsui N, Mori A, Terasawa Y, Shimatani Y, Osaki Y, Maruyama-Saladini K, Izumi Y, Kaji R.

Intramuscular dissociation of echogenicity in the triceps surae characterizes sporadic inclusion body myositis. *Eur J Neurol*. 2016; 23: 588-596. 査読あり

2: Mori A, Nodera H, Takamatsu N, Maruyama-Saladini K, Osaki Y, Shimatani Y, Oda M, Izumi Y, Kaji R. Which muscle shows fasciculations by ultrasound in patients with ALS? *J Medical Invest*. 2016; 63: 49-53. 査読あり

3: Osaki Y, Nodera H, Banzrai C, Endo S, Takayasu H, Mori A, Shimatani Y, Kaji R. Effects of anesthetic agents on in vivo axonal HCN current in normal mice. *Clin Neurophysiol*. 2015; 126: 2033-2039. 査読あり

4: Shimatani Y, Nodera H, Osaki Y, Banzrai C, Takayasu K, Endo S, Shibuta Y, Kaji R. Upregulation of axonal HCN current by methylglyoxal: Potential association with diabetic polyneuropathy. *Clin Neurophysiol*. 2015;126: 2226-2232. 査読あり

5: Nodera H, Izumi Y, Kaji R. Effects of Vitamin B12 in Patients with Amyotrophic

Lateral Sclerosis and Peripheral Neuropathy. *Brain Nerve*.

2015;67(9):1133-1138. 査読無し

6: Furukawa T, Matsui N, Fujita K, Nodera H, Shimizu F, Miyamoto K, Takahashi Y, Kanda T, Kusunoki S, Izumi Y, Kaji R. CSF cytokine profile distinguishes multifocal motor neuropathy from progressive muscular atrophy. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2015;2(5):e138. 査読あり

7: Mori A, Nodera H, Takamatsu N, Shimatani Y, Maruyama K, Oda M, Izumi Y, Kaji R. Focal nerve enlargement is not the cause for increased distal motor latency in ALS: Sonographic evaluation. *Clin Neurophysiol*. 2015;126(8):1632-1637. 査読あり

8: Osaki Y, Takamatsu N, Shimatani Y, Mori A, Maruyama K, Miyazaki Y, Nodera H, Kaji R. Ultrasonographic evaluation of myokymic discharges. *Clin Neurophysiol*. 2015;126(8):1638-1639. 査読あり

9: Shimatani Y, Nodera H, Shibuta Y, Miyazaki Y, Misawa S, Kuwabara S, Kaji R. Abnormal gating of axonal slow potassium current in cramp-fasciculation syndrome. *Clin Neurophysiol*. 2015;126(6):1246-1254. 査読あり

10: Furukawa T, Matsui N, Fujita K, Miyashiro A, Nodera H, Izumi Y, Shimizu F, Miyamoto K, Takahashi Y, Kanda T, Kusunoki S, Kaji R. Increased proinflammatory cytokines in sera of patients with multifocal motor neuropathy. *J Neurol Sci*. 2014;346(1-2):75-79. 査読あり

11: Nodera H, Manto M. Cerebellum tunes the excitability of the motor system: evidence from peripheral motor axons. *Cerebellum*. 2014;13(6):663-665. 査読なし

12: Miyashiro A, Matsui N, Shimatani Y, Nodera H, Izumi Yら(他20名、4番め); Japanese Multifocal Motor Neuropathy Study Group. Are multifocal motor neuropathy patients underdiagnosed? An epidemiological survey in Japan. *Muscle Nerve*. 2014;49(3):357-361. 査読あり

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 1 件)

野寺裕之、すべてがわかるALS、中山書店、2011

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野寺 裕之 (NODERA, Hiroyuki)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・講師
研究者番号：40363147