

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07537

研究課題名(和文)筋萎縮性側索硬化症の分子病態研究

研究課題名(英文)Molecular pathophysiology of amyotrophic lateral sclerosis

研究代表者

相澤 仁志(Aizawa, Hitoshi)

東京医科大学・医学部・主任教授

研究者番号：10292103

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：孤発性筋萎縮性側索症(ALS)ではRNA編集酵素であるadenosine deaminase acting on RNA2(ADAR2)の酵素活性が疾患特異的、運動ニューロン特異的に低下する。本研究ではNuclear isomerase Pin1は核内ADAR2活性を維持するためには重要な酵素であるが、細胞質内にTDP-43陽性封入体を有するALSの病的運動ニューロンでPin1の発現が亢進している事を組織学的に明らかにした。Pin1はADAR2活性の維持に必要であり、Pin1発現の亢進はADAR2活性の低下を補完する方向で作用し細胞保護的に働くものと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

孤発性筋萎縮性側索硬化症(ALS)は運動ニューロンの変性脱落により全身の筋力低下をきたし2-5年で呼吸不全に陥る疾患であるが、現在まで臨床的に効果的治療法は存在しない。孤発性ALSではRNA編集酵素であるadenosine deaminase acting on RNA2(ADAR2)の酵素活性の低下が運動ニューロン死の原因と考えられるが、ADAR2活性を制御する因子の解析がなされていなかった。本研究により病的運動ニューロンにおいてADAR2を制御するPin1の発現が亢進していることを明らかにした。孤発性ALSの病態の解明に寄与するとともに新規治療薬に結びつく結果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal motor neuron disease. Selective deficiency of edited adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2), a key molecule in the acquisition of Ca²⁺ resistance in motor neurons has been reported in sporadic ALS (sALS) spinal motor neurons. ADAR2 activity is positively regulated by prolyl isomerase Pin1, a known phosphorylation-dependent peptidyl-prolyl cis/trans isomerase. In sALS, neurons expressing high Pin1 levels had TDP-43 inclusions, a pathological marker of dying motor neurons, more frequently than those without high Pin1 expression. These results suggest that the higher Pin1 expression in motor neurons with TDP-43 pathology from sALS patients may represent a compensatory mechanism.

研究分野：筋萎縮性側索硬化症

キーワード：筋萎縮性側索硬化症 ADAR2 Pin1 TDP-43

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

孤発性筋萎縮性側索硬化症(ALS)の運動ニューロン死のメカニズムに AMPA 受容体を介した Ca^{2+} の過剰な流入が関与していることが明らかにされている。この AMPA 受容体の Ca^{2+} 流入は AMPA 受容体サブユニットである GluA2 の Q/R 部位の編集率により決定される。孤発性 ALS ではこの編集酵素である adenosine deaminase acting on RNA2(ADAR2)の酵素活性が疾患特異的、部位特異的に低下していることが示されている(Kawahara et al. 2004)。ADAR2 の conditional knockout (AR2) mice でも ALS と同様の臨床症状と病理変化をきたし、孤発性 ALS の病態モデルと考えられる (Hideyama et al. 2010)。一方、ADAR2 は nuclear isomerase Pin1 により機能制御されることから(Marcucci et al. 2011, Behm et al. 2017)、Pin1 は ADAR2 活性の維持に必須であることが示唆されている。ALS における Pin1 の役割を ADAR2 との関連から明らかにすることは ALS の分子病態を解明するうえで重要と考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は孤発性 ALS の分子病態として明らかになっている ADAR2 活性の低下に影響を及ぼす因子で、特に Pin1 をターゲットとして、ALS の病態におけるこの分子の役割を ADAR2 との関連から明らかにすることである。

3. 研究の方法

Immunohistochemical analysis

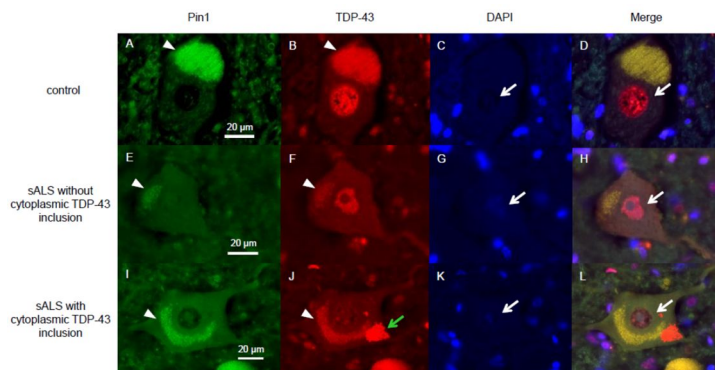
ALS およびコントロール脊髄と AR2 マウス脊髄ホルマリン固定パラフィン切片を用いた。脱パラフィン処理と前処置後に一次抗体を 4 over night で反応させる。別の一次抗体を 1 時間室温で反応させる。PBS buffer で洗浄後、二次抗体を 1 時間室温で反応させる。DAP 染色後、蛍光二重染色した標本を Biozero 蛍光顕微鏡 (キーエンス) で観察する。

抗体: rabbit polyclonia anti-ADAR2 (sigma), mouse monoclonal anti-Pin1 (G-8, Santa Cruz Biotechnology)

4. 研究成果

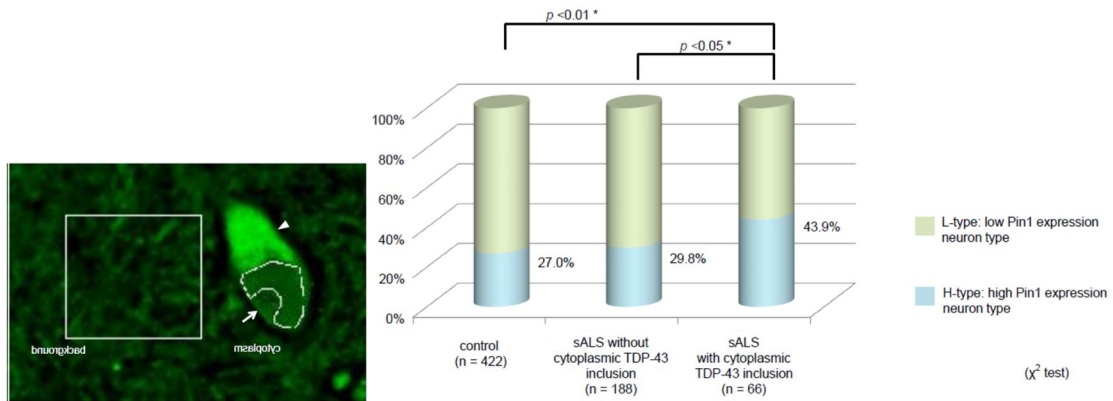
(1) 運動ニューロンにおける Pin 1 と TDP-43 の発現

正常運動ニューロンでは TDP-43 は核内に存在し、Pin 1 は細胞質内で低発現を示した。ALS 運動ニューロンでは TDP-43 は正常ニューロンと同様に核内に存在するものと、細胞質内に封入体を認めるニューロンが存在した。細胞質内封入体を有する病的ニューロンでは Pin 1 の発現が亢進するものが見られた。



(2) Pin 1 の発現の定量的評価

蛍光強度から Pin 1 の細胞質内発現を定量化した。細胞質内 TDP-43 陽性封入体を有する運動ニューロンではコントロールおよび ALS の封入体を認めないニューロンより Pin 1 の発現が亢進している割合が優位に高かった。



< 引用文献 >

Kawahara Y, et al. Nature. 427:801, 2004.

Hideyama T, et al. Neurobiol Dis. 45:1121-8, 2012.

Marcucci R, et al. EMBO J. 30:4211-22, 2011.

Behm M, et al. J Cell Sci. 130:745-53, 2017.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamamoto Joe, Omura Tomohiro, Kasamo Sachiko, Yamamoto Shota, Kawata Masayoshi, Yonezawa Atsushi, Taruno Yosuke, Endo Hisako, Aizawa Hitoshi, Sawamoto Nobukatsu, Matsubara Kazuo, Takahashi Ryosuke, Tasaki Yoshikazu	4. 巻 128
2. 論文標題 Impact of the catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism on the pharmacokinetics of l-dopa and its metabolite 3-O-methyldopa in combination with entacapone	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neural Transmission	6. 最初と最後の頁 27 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00702-020-02267-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashida A, Li Y, Yoshino H, Daida K, Ikeda A, Ogaki K, Fuse A, Mori A, Takanashi M, Nakahara T, Yoritaka A, Tomizawa Y, Furukawa Y, Kanai K, Nakayama Y, Ito H, Ogino M, Hattori Y, Hattori T, Ichinose Y, Takiyama Y, Saito T, Kimura T, Aizawa H, et al.	4. 巻 146
2. 論文標題 The identified clinical features of Parkinson's disease in homo-, heterozygous and digenic variants of PINK1.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurobiology in Aging	6. 最初と最後の頁 e1-e13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Terashi H, Taguchi T, Ueta Y, Okubo Y, Mitoma H, Aizawa H.	4. 巻 20
2. 論文標題 Analysis of non-invasive gait recording under free-living conditions in patients with Parkinson's disease: relationship with global cognitive function and motor abnormalities.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Neurol	6. 最初と最後の頁 161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12883-020-01729-w.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Honda Takeru, Mitoma Hiroshi, Yoshida Hirotaka, Bando Kyota, Terashi Hiroo, Taguchi Takeshi, Miyata Yohane, Kumada Satoko, Hanakawa Takashi, Aizawa Hitoshi, Yano Shiro, Kondo Toshiyuki, Mizusawa Hidehiro, Manto Mario, Kakei Shinji	4. 巻 11
2. 論文標題 Assessment and Rating of Motor Cerebellar Ataxias With the Kinect v2 Depth Sensor: Extending Our Appraisal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2020.00179	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oyama Munenori, Okada Kensuke, Masuda Masayuki, Shimizu Yuko, Yokoyama Kazumasa, Uzawa Akiyuki, Kawaguchi Naoki, Ikeguchi Ryotaro, Hoshino Yasunobu, Hatano Taku, Ozawa Yukiko, Nakahara Jin, Aizawa Hitoshi, Kitagawa Kazuo, Hattori Nobutaka, Kuwabara Satoshi, Murai Hiroyuki, Suzuki Shigeaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Suitable indications of eculizumab for patients with refractory generalized myasthenia gravis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Therapeutic Advances in Neurological Disorders	6. 最初と最後の頁 1617 ~ 1624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1756286420904207	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kikuno Muneaki, Ueno Yuji, Shimizu Takahiro, Kuriki Ayako, Tateishi Yohei, Doijiri Ryosuke, Shimada Yoshiaki, Takekawa Hidehiro, Yamaguchi Eriko, Koga Masatoshi, Kamiya Yuki, Ihara Masafumi, Tsujino Akira, Hirata Koichi, Toyoda Kazunori, Hasegawa Yasuhiro, Aizawa Hitoshi, Hattori Nobutaka, Urabe Takao	4. 巻 267
2. 論文標題 Underlying embolic and pathologic differentiation by cerebral microbleeds in cryptogenic stroke	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurology	6. 最初と最後の頁 1482 ~ 1490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00415-020-09732-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Terashi Hiroo, Taguchi Takeshi, Ueta Yuki, Mitoma Hiroshi, Aizawa Hitoshi	4. 巻 126
2. 論文標題 Association of daily physical activity with cognition and mood disorders in treatment-naive patients with early-stage Parkinson's disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neural Transmission	6. 最初と最後の頁 1617 ~ 1624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00702-019-02085-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 相澤 仁志、郭 伸	4. 巻 71
2. 論文標題 孤発性ALSに対するベランパネル	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain and Nerve	6. 最初と最後の頁 1270 ~ 1278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 相澤 仁志	4. 巻 73
2. 論文標題 筋萎縮性側索硬化症への挑戦	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 東京都医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 5~7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aizawa Hitoshi, Yamashita Takenari, Kato Haruhisa, Kimura Takashi, Kwak Shin	4. 巻 15
2. 論文標題 Impaired Nucleoporins Are Present in Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis Motor Neurons that Exhibit Mislocalization of the 43-kDa TAR DNA-Binding Protein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Neurology	6. 最初と最後の頁 62~62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3988/jcn.2019.15.1.62	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Aizawa H, Kato H, Oba K, Kawahara T, Okubo Y, Saito T, Naito M, Urushitani M, Tamaoka A, Nakamagoe K, Ishii K, Kanda T, Katsuno M, Atsuta N, Maeda Y, Nagai M, Nishiyama K, Ishiura H, MD, Toda T, et al.
2. 発表標題 A Phase II Clinical Trial of Peramppanel for Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis
3. 学会等名 31th International symposium on ALS/MND (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Aizawa H, Kato H, Oba K, Kawahara T, Okubo Y, Saito T, Naito M, Urushitani M, Tamaoka A, Nakamagoe K, Ishii K, Kanda T, Katsuno M, Atsuta N, Maeda Y, Nagai M, Nishiyama K, Ishiura H, MD, Toda T, et al.
2. 発表標題 PERAMPANEL FOR SPORADIC AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS
3. 学会等名 2020 Annual Meeting of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Aizawa H, Yamashita T, Kato H, Kimura T, Saito T, Teramoto S, Kwak S.
2. 発表標題 Disrupted nuclear pore complex with mislocalization of TDP-43 in sporadic amyotrophic lateral sclerosis motor neurons
3. 学会等名 第60回日本神経病理学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	郭 伸 (Kwak Shin) (40160981)	東京医科大学・医学部・兼任教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------