

## 神経難病 ALS の進行にグリア細胞由来の TGF- $\beta$ 1 が関与 -ALS の進行を制御する治療標的として期待-

### 概要

名古屋大学環境医学研究所（所長・澤田誠）病態神経科学分野の山中宏二（やまなかこうじ）教授、遠藤史人（えんどうふみと）研究員らの研究グループは、グリア細胞<sup>[1]</sup>の一種であるアストロサイトから産生される TGF- $\beta$ 1 が原因不明の神経難病である筋萎縮性側索硬化症（ALS）の進行を制御することを明らかにしました。本研究成果は、平成 27 年 4 月 17 日（日本時間）に米国科学誌『Cell Reports』オンライン版に掲載されます。

TGF- $\beta$ 1 は、免疫系細胞の抑制、細胞増殖の制御や神経保護作用を有する多機能性サイトカイン<sup>[2]</sup>で、ALS 患者の脳脊髄液で上昇していることが報告されています。本研究で、ALS モデルマウスや ALS 患者の脊髄組織では、TGF- $\beta$ 1 はアストロサイトで増加していることがわかりました。そこで脳・脊髄のアストロサイトで TGF- $\beta$ 1 の産生量を増加するように遺伝子操作した ALS モデルマウスを作製して発症時期や罹病期間への効果を検討したところ、アストロサイト由来の TGF- $\beta$ 1 を増加させた ALS モデルマウスでは、発症後の進行が加速し生存期間が短縮しました。その原因として、病巣におけるもう一種のグリア細胞であるミクログリアの活性低下や病巣へ浸潤する T リンパ球が減少し、運動神経細胞への保護効果が減弱したことが考えられました。これらの研究結果をふまえた実験的治療として、ALS マウスに TGF- $\beta$  シグナル阻害剤を発症後より投与するとマウスの生存期間が延長しました。

本研究成果は、発症後に急速な進行をとる ALS において、グリア細胞を標的とする新たな視点からの疾患進行を遅延させる治療法や発症後の進行を予測する技術の開発につながるものと期待されます。

\* 本研究は、文部科学省新学術領域研究「脳内環境」、JST-CREST、厚生労働科学研究費などの研究助成を受けて行われ、本学医学系研究科神経内科（祖父江元教授、勝野雅央准教授）、スタンフォード大学、理化学研究所脳科学総合研究センター、東北大学との共同研究による成果です。

### ポイント

- ALS モデルマウスおよび ALS 患者の脊髄病巣ではアストロサイトにおいて TGF- $\beta$ 1 が増加する
- アストロサイトにおいて TGF- $\beta$ 1 を過剰産生させた ALS モデルマウスでは疾患進行が加速する
- アストロサイト由来の TGF- $\beta$ 1 は活性化ミクログリアや T リンパ球に作用し、神経保護作用を減弱させる
- TGF- $\beta$  シグナル阻害薬の発症後投与により ALS モデルマウスの生存期間が延長する

## 背景

ALS は大脳や脊髄にある運動神経細胞が変性、細胞死を起こすことにより、全身の筋肉が動かなくなる原因不明の神経難病です。中年以降に発症し、進行すると呼吸筋が麻痺し、発症後 3~5 年以内に人工呼吸器なしには生存が維持できなくなる重篤な疾患で、原因解明と治療法の開発が強く望まれています。本邦では約 9000 人の ALS 患者が闘病しています。

ALS の約 90%は遺伝歴がなく孤発性 ALS と呼ばれ、残りの約 10%が遺伝性であると報告されています。遺伝性 ALS の約 20%は SOD1 (スーパーオキシドジスムターゼ 1) 遺伝子<sup>[3]</sup>の優性変異により発症することが知られています。遺伝子工学的手法を用いて遺伝性 ALS 患者由来の SOD1 遺伝子変異を導入したマウスが ALS 病態を再現するモデル動物として開発され、ALS 研究の進展に寄与しています。

ALS の病巣では運動神経周囲の環境を構成するグリア細胞の活性化や T リンパ球の浸潤が起こり、進行期には神経傷害性因子や神経保護性因子を含む様々な炎症関連因子が放出されることが知られています。このような現象は神経炎症と呼ばれ、ALS を含む神経変性疾患の病巣において認められており、その病態に関与すると考えられています。また、本研究グループや他の研究者によるこれまでの研究成果より、神経炎症に関わるアストロサイト、ミクログリア、および脊髄に浸潤する T リンパ球は、それぞれ ALS の進行を規定する細胞群である<sup>[4]</sup>ことが明らかになりました。したがって、ALS の進行を抑制するうえで神経炎症の制御は重要な治療標的となると考えられます。

## 研究の内容

多機能性サイトカインの Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) は、抗炎症、グリア細胞や免疫細胞の分化、また組織修復などの様々な作用をもつことが知られており、アルツハイマー病や脊髄損傷では TGF- $\beta$ 1 を標的とした治療の可能性が報告されています。また、ALS 患者の血清や脳脊髄液では TGF- $\beta$ 1 値が上昇することが報告されていますが、ALS の病態における TGF- $\beta$ 1 の役割は未解明でした。今回、研究チームは、以下の研究結果から ALS の進行の規定因子、治療標的として TGF- $\beta$ 1 の重要性を明らかにしました。

1. ALS モデルマウスでは進行に伴ってアストロサイトにおける TGF- $\beta$ 1 が上昇し、この現象は孤発性 ALS 患者脊髄組織においても共通して認められた (図 1)。
2. 遺伝子工学的手法を用いて ALS モデルマウスのアストロサイト特異的に TGF- $\beta$ 1 を過剰に産生させると、ミクログリアの活性の低下と病巣の浸潤する T リンパ球が減少することで、グリア細胞や T リンパ球が担う神経保護環境が抑制され、ALS モデルマウスの進行が加速した (図 2)。
3. TGF- $\beta$ 1 値は ALS モデルマウスの生存期間と負に相関した (図 3A)。
4. ALS モデルマウスのアストロサイトから選択的に変異 SOD1 を除去すると、アストロサイトにおける TGF- $\beta$ 1 が低下し、モデルマウスの進行が遅延した<sup>[4]</sup> (図 3B)。
5. TGF- $\beta$  シグナル阻害薬を ALS モデルマウスの発症後に腹腔内投与するとモデルマウスの生存期間は延長した (図 3C)。

これらの研究結果は、運動神経細胞の周囲の環境を構成するグリア細胞や T リンパ球の TGF- $\beta$  シグナル伝達異常が ALS の進行に密接に関与することを示唆しています。また、TGF- $\beta$  は運動神経に対する直接的な保護効果を持つことが知られていますが、ALS の進行期においては、むしろグリア細胞における TGF- $\beta$  シグナルを抑制することが、ALS の進行抑制の治療標的として有望であると考えられます (図 4)。

## 成果の意義

ALSのほとんどは遺伝歴のない孤発例であるため、発症後から治療を開始することを考慮すると、ALSの進行抑制を目標とした治療法の開発は重要な課題であると考えられます。本研究の成果により、発症後に急速に進行するALSの病態において、アストロサイト由来のTGF- $\beta$ 1の重要性が明らかになりました。今後、グリア細胞のTGF- $\beta$ シグナル伝達を標的としたALSの進行を抑制する治療法や発症後の進行を予測する技術の開発につながることが期待されます。また、このようなグリア細胞の病態に根ざした新たな治療法の開発は、ALSを含めた神経難病の治療概念に新たな視点をもたらすものと考えられます。

## 用語説明

[1] グリア細胞：脳や脊髄に分布する非神経細胞で、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイトなどがある。アストロサイトは神経細胞の周囲で神経伝達物質の濃度調整や神経栄養因子の放出により神経細胞の恒常性維持に関与する。ミクログリアは自然免疫細胞の一種で、組織損傷に反応し炎症性サイトカインや神経栄養因子を放出し組織修復に関与する。これらのグリア細胞は、正常では神経保護的な作用をもつが、神経変性疾患などの病巣では、多種の神経傷害性物質を放出することが知られている。

[2] サイトカイン：細胞から分泌されるタンパク質で、特定の細胞に情報伝達をするものをいう。特に免疫、炎症に関係したものが多く、微量でその効果を発揮する。細胞の増殖、分化、細胞死、あるいは創傷治癒などにも関与する。

[3] SOD1 遺伝子：酸素に依存する生物の細胞内で発生する有害な活性酸素であるスーパーオキシドを解毒する反応系を触媒する酵素をコードする。遺伝性ALSの約20%では、この遺伝子に優性変異を認めるが、SOD1酵素の活性が失われるために運動神経細胞死が起こるのではなく、SOD1タンパク質の性状が変化して凝集しやすくなった結果、神経細胞に異常に蓄積し神経傷害性を発揮することが知られている。

[4] グリア細胞とALS：運動神経細胞死を特徴とするALSの病態には、運動神経の異常のみではなく周囲のグリア細胞の異常や病巣へ浸潤するTリンパ球も関与している。これまでに本研究グループは、遺伝子工学的手法を用いてALSモデルマウスのグリア細胞であるアストロサイトあるいはミクログリアから変異SOD1タンパク質を除去するとALSモデルマウスの進行が遅延し、生存期間が延長することを報告している。

Yamanaka K, et al. Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Neuroscience*, 11: 251-253, 2008.

[http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2008/20080204\\_2/20080204\\_2.pdf](http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2008/20080204_2/20080204_2.pdf) (理化学研究所プレスリリース)

また、他の研究グループは、ALSモデルマウスから機能的なTリンパ球を除去するとALSモデルマウスの生存期間が短縮することを報告している。

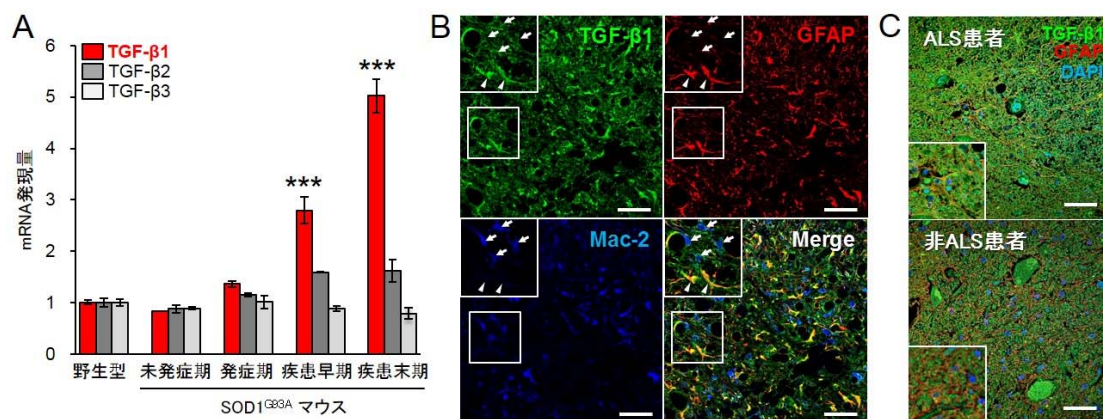
## 論文名

Fumito Endo, Okiru Komine, Noriko Fujimori-Tonou, Shijie Jin, Masahisa Katsuno, Gen Sobue, Mari Dezawa, Tony Wyss-Coray, Koji Yamanaka

"Astrocyte-derived TGF- $\beta$ 1 accelerates disease progression in ALS mice by

interfering with the neuroprotective functions of microglia and T cells”

*Cell Reports* 2015 DOI: 10.1016/j.celrep.2015.03.053



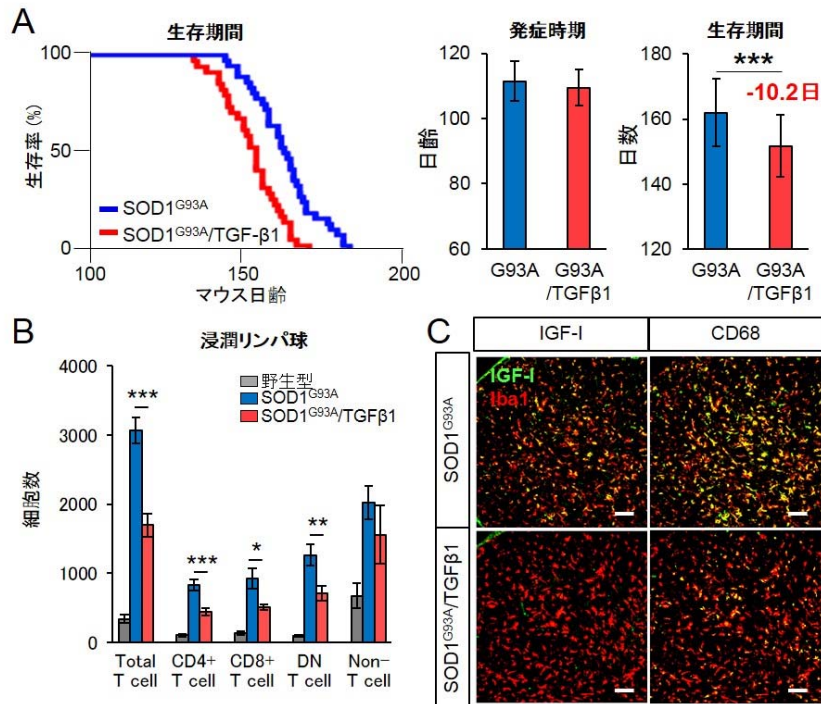
**図1 TGF-β1はALS患者、モデルマウスのアストロサイトにおいて上昇する**

(A) ALSマウスの疾患進行に伴い、脊髄におけるTGF-β1 mRNA量は増加した。

\*\*\*:  $p < 0.001$ .

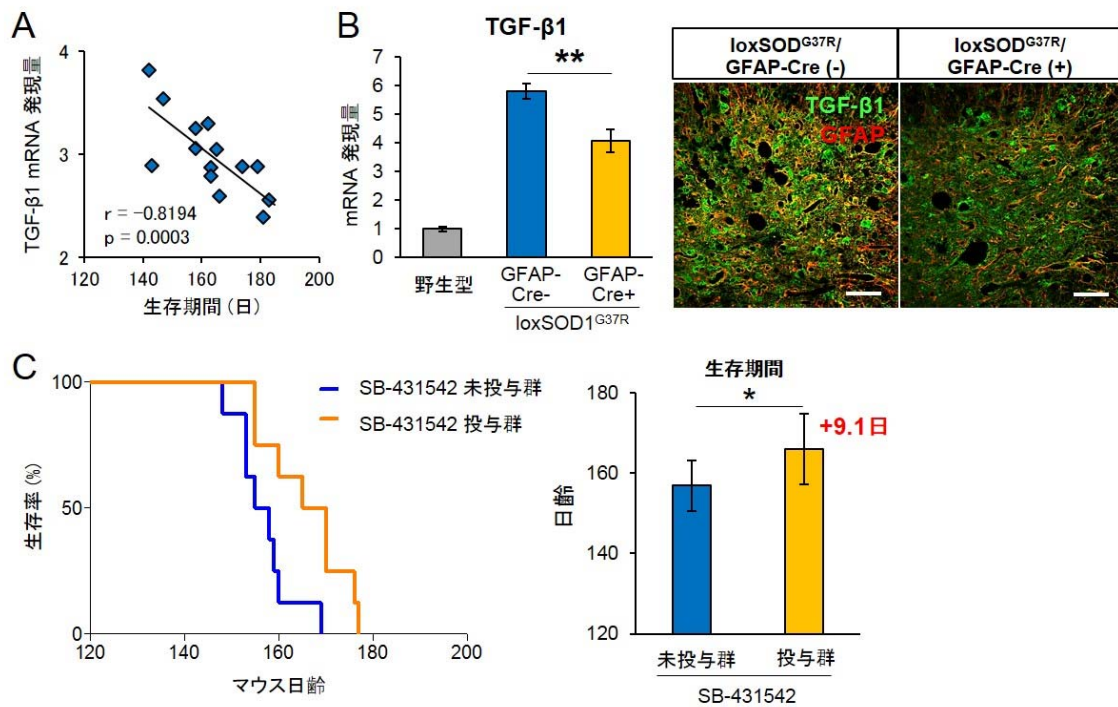
(B) 進行期のALSマウス脊髄では、TGF-β1(緑)はミクログリア(矢印)ではなく、アストロサイト(赤, 矢尻)に集積した。スケール:  $50 \mu\text{m}$ 。

(C) ALS患者脊髄組織(上)においてもTGF-β1(緑)はアストロサイト(赤)に集積した。スケール:  $50 \mu\text{m}$ 。



**図2 アストロサイト特異的にTGF-β1の産生を増加させたALSマウスはその進行が加速し、生存期間が短縮する**

- (A) ALSマウスのアストロサイト特異的にTGF-β1を過剰に産生させたマウス(SOD1<sup>G93A</sup>/TGF-β1:赤)は、対照のALSマウス(SOD1<sup>G93A</sup>:青)に比べ、発症時期は差がなかったが、生存期間は短縮し、疾患進行が加速した。\*\*\*: p<0.001.
- (B) 脊髄に浸潤するTリンパ球はSOD1<sup>G93A</sup>/TGF-β1マウス(赤)で減少した。\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001.
- (C) 進行期のSOD1<sup>G93A</sup>/TGF-β1のミクログリアでは活性が低下し、神経栄養因子IGF-I(インスリン様成長因子)の発現が著しく低下した(下段)。スケール: 50μm.



**図3 TGF-β1 は ALS マウスの進行を規定する因子である**

- (A) ALS マウス (SOD1<sup>G93A</sup>) 脊髄における TGF-β1 量と生存期間は負に相関した。
- (B) アストロサイト特異的に変異 SOD1 を除去した ALS マウス (loxSOD1<sup>G37R</sup>/GFAP-Cre+ : 黄) では, 対照の ALS マウス (loxSOD1<sup>G37R</sup>/GFAP-Cre- : 青) に比べ生存期間が延長し, アストロサイトにおける TGF-β1 量が低下した. \*\*:  $p < 0.01$ . スケール: 50  $\mu$ m.
- (C) 発症後の ALS マウス (SOD1<sup>G93A</sup>) に TGF-β 阻害剤 SB-431542 の腹腔内投与を行うと (黄), 未投与群 (青) に対して生存期間が延長した. \*:  $p < 0.05$ .

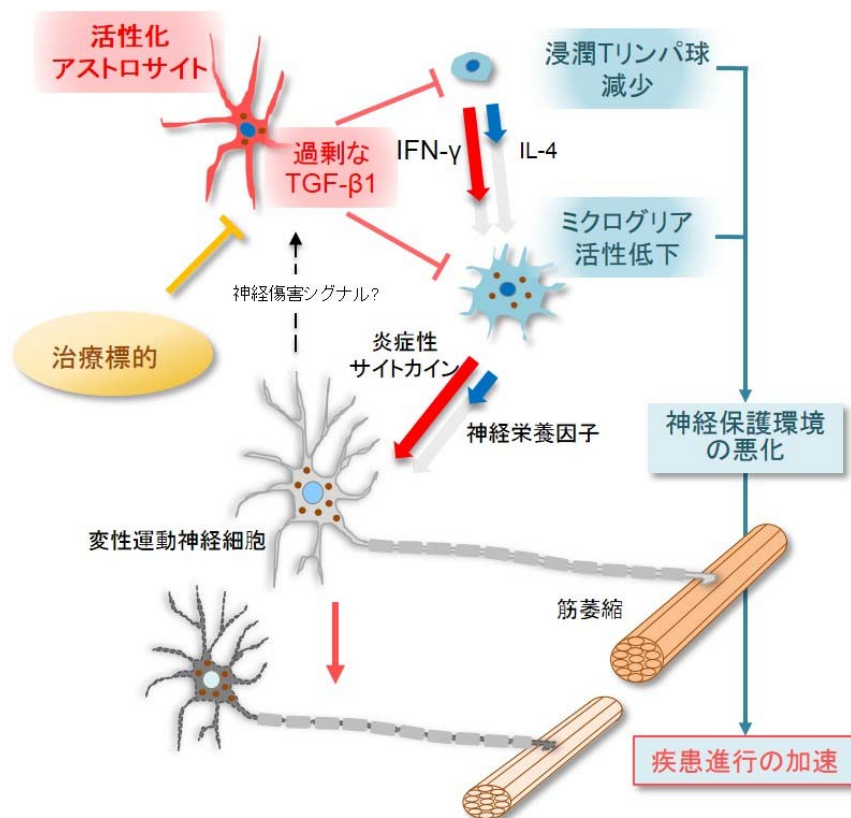


図 4

本研究

#### 成果の概念図

ALS の運動神経変性に伴い活性化アストロサイトから TGF-β1 が産生されると、ミクログリアの活性低下や病巣に浸潤する T リンパ球の減少をきたし、ミクログリアと T リンパ球の神経保護的な機能が阻害され、運動神経細胞の変性が加速すると考えられる。このようなアストロサイト由来の TGF-β1 を標的として ALS の進行を遅延する新たな治療法の開発が期待される。具体的には、アストロサイト由来の過剰な TGF-β1 シグナルを抑制する方法が考えられ、今後その最適化を行う計画をしている。