

RNA 編集酵素 ADAR2 の発現低下が惹起する神経細胞死と 筋萎縮性側索硬化症の原因関連性

A10025 興津雅人

論旨

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis ;ALS) は原因不明の進行性運動神経変性疾患である。現在ではその原因をめぐりいくつかの仮説が提唱されているものの、いずれも実証には至っていない。そのため治療薬も存在しないのが現実である。本論文では ALS に関連した複数の論文を多角的に検討したうえで、RNA 編集酵素 ADAR2 の発現低下が根底にあり、それによる引き起こされる AMPA 受容体の機能異常が神経細胞死を引き起こすという流れを提唱し評価した。

導入

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis ;ALS) は運動神経変性疾患の一つであり、上位運動神経および下位運動神経が選択的に変性・脱落する進行性の神経変性疾患である。有病率は 10 万人あたりに 2,3 人であり我が国においても約 8500 人の患者が存在しているとされている。中高年代で好発する傾向がある。約 90%が孤発性に、約 10%が家族性に発症する。

発症後の症状としては、筋萎縮が全身に広がったのち歩行困難、嚥下障害、言語障害、呼吸障害におよび、最終的には呼吸筋の麻痺をきたすために人工呼吸器の装着を余儀なくされる。その一方で感覚神経、自律神経の構造、機能は正常に保たれるために感覚障害や直腸膀胱障害が見られない

ことが他の神経変性疾患と比べて本症に特徴的な点であるといえる。即ち大脳皮質運動領野、錐体路、脳神経運動核、脊髄前角神経細胞の選択的な変性・脱落であり、自律神経、感覚神経においては変性・脱落は見られないという領域特異性が存在している。

ALS でみられる様々な症状の根幹である、運動神経特異的な変性・脱落すなわち運動神経細胞死の原因は諸説あるのだが、神経細胞死自体はもちろんのこと、その領域特異性の原因解明にはいまだ至っていない。厚生労働省の特定疾患治療研究事業対象に指定され、国内外において研究が進められているものの現在のところでは根治療法は確立されていないために平均生存期間は 3 ~5 年となっている。以下ではまずいくつ

か提唱されている代表的な仮説について概要を述べたいと思う。

はじめに興奮性細胞死仮説を取り上げたい。グルタミン酸は中枢神経における主要な興奮性アミノ酸の1つで、過剰にグルタミン酸が蓄積するとイオンの流入が多くなるために神経細胞の過剰興奮が起こり神経細胞死が生じる。ALSでみられる神経細胞死にはグルタミン酸受容体のなかでもAMPA受容体サブタイプが関与しており、カルシウムイオンの過剰な流入が問題であることが分かってきた。特に運動ニューロンは他のニューロン種に比べてAMPA受容体の過剰興奮に脆弱なのでALSの病因と関連すると以前から考えられていた。

研究の進歩により、AMPA受容体のカルシウムイオン透過性の制御機構が明らかになりALSの運動ニューロンにはカルシウムイオンを過剰に透過してしまう通常は発現しないAMPA受容体が発現していることが突き止められた。この異常とはAMPA受容体を構成するサブユニットであるGluR2のRNA編集異常によるものであり、 Ca^{2+} の透過性が増すという(図1)。ここでのRNA編集は後の文章でも出てくるADAR2という酵素が担っている。さらに最近、この分子異常が運動ニューロン死の直接原因になることが動物実験で証明され¹⁾、孤発性ALS運動ニューロンでは正常には発現していないタイプのカルシウム透過性AMPA受容体が発現することが発症原因であることが提唱されている。

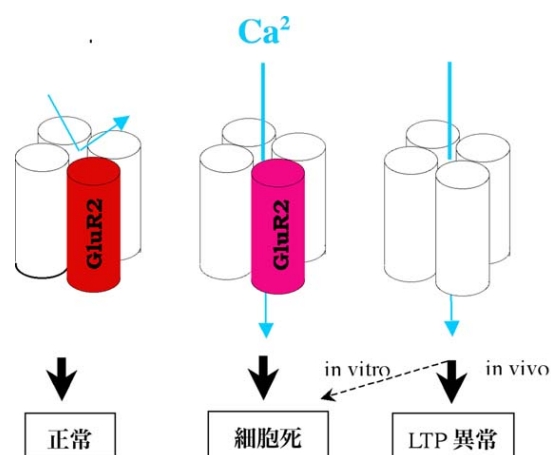


図1 GluR2のRNA編集異常によるAMPA受容体異常

これはすなわち、通常神経伝達のために放出されたグルタミン酸が同時にカルシウムイオンを過剰に流入させるために細胞を傷害し、細胞死を引き起こすというメカニズムである。この分子異常は、ALSの大多数を占める孤発性ALS患者に共通してみられるのに対し、家族性ALSを含め、孤発性ALS以外のさまざまな疾患ではみられないという。この現象については、後の仮説の評価の際に取り上げて詳細に述べたいと思う。

実際それに関連した事実として、グルタミン酸遊離抑制作用のあるリルゾールが、ALSの生存期間および呼吸障害出現までの期間を延長することが証明され、現在唯一ALSの治療薬として承認されている。このようにまだ詳細は不明だが、グルタミン酸にかかわる異常が重要な役割を担っている可能性が示唆されている。

次にRNA調節機構異常仮説について述べたい。細胞には、遺伝子情報を様々な方法で発現するメカニズムがあり、RNAの修飾も重要な役割をもっている。ここに障害

があると、遺伝子発現の微妙な調節が崩れ、急性の細胞死には至らないまでも、長い間に細胞の機能を落とし、細胞死に至ると考えられる。

ここ数年来の研究の進展で、RNAの修飾機能をもつ蛋白の異常がALSの発症に関わる可能性が注目されている。その代表的なものがTDP-43で、同遺伝子の変異によりALSが発症することが相次いで見出されている。さらに重要なことは、孤発性の患者の神経細胞にも細胞特異的にTDP-43が蓄積するということである(図2)。

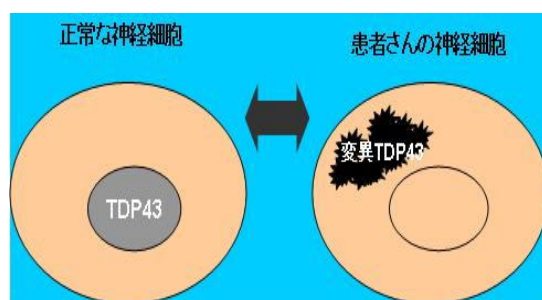


図2 TDP-43の細胞質蓄積

したがって、遺伝子変異や代謝機構の変化によりRNA修飾蛋白が本来の機能を果たせなくなることがALSの発症に深く関わる分子異常であろうとも考えられている。

脊髄運動ニューロンと大脳皮質のニューロンにはTDP-43蛋白の代謝異常を引き起こす、共通のメカニズムがあると考えられ、それが明らかになれば、これらの疾患の原因の理解が進むと期待される。

最後に遺伝子異常仮説について述べたい。たとえばALSのうち約10%を占める家族性のものうち、代表的な遺伝子変異としてSOD1遺伝子変異があげられる。ある研究によれば変異型SOD1が、小胞体に存在するDerlin-1というタンパク質に極めて特

異的に結合し、その分子機能に影響を与え、小胞体ストレスを誘導し、運動神経細胞死を引き起こすことを明らかにしている。

しかしながら、家族性ALSの責任遺伝子としてSOD1も含め10種類前後が同定されているが、そのいずれもが孤発性ALSの大多数には見出されていないのが実情である。他にも例えば、ALSのうち大半を占める、孤発性の患者群において認められる上述したTDP-43の蓄積はSOD1遺伝子変異陽性患者群では陰性であり、逆にTDP-43の蓄積はSOD1遺伝子変異陰性患者群でみられることが確認されている²⁾。また孤発性ALS運動ニューロンにみられるAMPA受容体サブユニットのRNA編集異常が生じていないことも、SOD1トランスジェニックラットの単一運動ニューロンにおける解析で既に報告されている³⁾。

ゆえに遺伝子変異による家族性ALSと孤発性ALSではその発生機序、病態が異なるのではないかと、というのが現在の定説となっている。

以下の論文ではそれを踏まえ、ALSの約90%を占める孤発性ALSについて取り上げて、論じていきたいと思う。

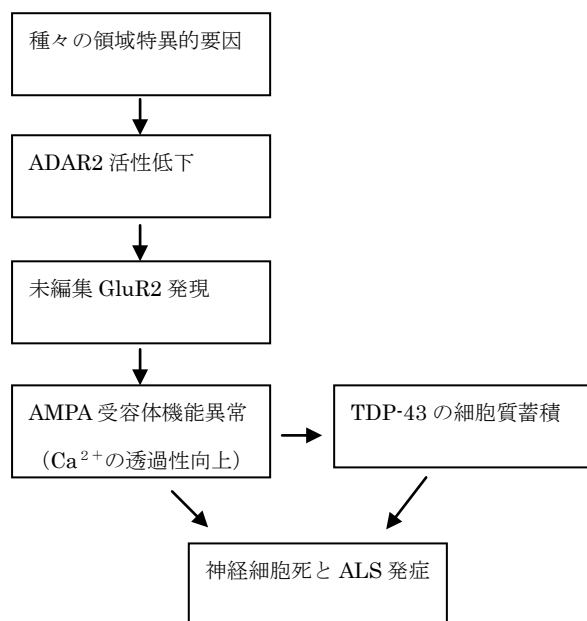
仮説

以上の諸仮説を検討した結果、AMPA受容体の機能異常により引き起こされる神経細胞死は、ALSの病態と合致する点が多々あり、また領域特異的細胞死という観点を考慮し以下のような仮説を立てるに至った。

孤発性ALSの原因はRNA編集酵素ADAR2活性低下による、グルタミン酸受容体AMPAの機能異常で引き起こされる神

神経細胞死であり、病理組織に見られる TDP-43 封入体の出現は神経細胞傷害による二次的变化である。模式図を次ページに示す。

模式図



仮説の評価

ADAR2 の発現低下の誘因

ここまでの文章から ADAR2 の活性低下がなぜ起こるのか、という疑問は当然生じてくるわけだが関連した研究は最近になって脚光を浴び始めた分野であり、実験や論文はあまり見当たらないのが現状である。恐らく何らかの環境因子、例えば特定の栄養素の不足や逆に有害物質の過剰摂取、あるいはストレスなどに対し、領域特異的に脆弱性が存在しており、結果 ADAR2 の活性低下が一部の細胞のみで見られるのではないだろうか。いずれにせよ ALS での領域特異的神経細胞死を考察するうえで、重要

な事項であることは疑いなく、今後の研究が急がれる。

ALS での神経細胞死と ADAR2 の関連性

既に、AMPA受容体のサブユニットのうち GluR2 の RNA 編集異常による機能障害が直接的に神経細胞死を引き起こす事実が動物実験で確かめられていることは述べた。では実際に ALS 患者において ADAR2 が関係した GluR2 の RNA 編集異常とそれに伴う AMPA 受容体の異常は確認できるのだろうか、ということについて検討したい。これについては以下のような実験がなされている⁴⁾。

遺伝性のない筋萎縮性側索硬化症 10 例、疾患対照 7 例、神経精神疾患を有しない正常対照 9 例を対象とし、剖検時凍結保存した脊髄の 3 部分（前角・後角・白質）の組織から、RT-PCR 法により AMPA 受容体サブユニット（GluR1～GluR4） mRNA 発現量を半定量した。また GluR2 サブユニットの転写後編集率を、制限酵素処理により測定する。

結果として GluR2 mRNA は、前角での発現量が各群で大きく異なり、正常対照群の前角での値に対し、ALS 群、疾患対照各群で有意に減少していた。ALS 群、疾患対照群における GluR2 mRNA 発現の低下は、GluR1 mRNA に対する比でも同様であり、サブユニット選択的な低下であったという。

GluR2 mRNA の転写後編集率は、ALS 前角でのみ約 68% に低下していた。これに対し、ALS 後角・白質、正常対照群、疾患対照群の前角・後角・白質ではほぼ 100% に保たれていた。特に ALS の 2 例の前角で

は、編集率がほぼ 0%であり、発現している GluR2 mRNA のほとんどが非編集であることを示していた。

このことから、この実験と上述した別の動物実験から得られた見地を組み合わせると、ALS において GluR2 の RNA 編集異常が生じ、その結果神経細胞死が引き起こされるという一連の流れが想定される。

ADAR2 と TDP-43 封入体の関連性

ADAR2 と TDP-43 とはともに核タンパクで、それぞれ RNA 制御に関与する。ADAR2 (adenosine deaminase acting on RNA 2) は既に述べた AMPA 受容体を構成するサブユニットのうち、GluR2 の RNA 編集を行う酵素である。TDP-43 (TAR DNA binding protein of 43kDa) は RNA の安定化やスプライシング、転写調節などのプロセスに関わっているとされるが、脳における機能はなお不明である。そして未だこれら 2 つの分子間の機能的関連性についての報告はない。

しかしながらある研究によると⁵⁾、正常対照群ではすべての運動ニューロンが ADAR2 陽性で、かつ核は TDP-43 陽性であり、TDP-43 封入体は細胞質には認められなかった。その一方で ALS 患者から得た脊髄運動ニューロンにおいては、7 症例全例において半数以上 (総計 170 運動ニューロン中 98 ニューロン; 58%) が ADAR2 陰性であった。加えてこの ADAR2 陰性運動ニューロンはすべて、細胞質に TDP-43 陽性封入体を有していたのに対し、ADAR2 陽性運動ニューロンは、TDP-43 陽性細胞質封入体を有せず、核は TDP-43 陽性であっ

た、という事実が確認されている。

この実験から得られた結果から、ALS 患者の運動ニューロンにおける ADAR2 活性の低下と TDP-43 陽性封入体形成との間に分子的関連性があるということが示唆されるといえよう。

TDP-43 封入体出現に対する ADAR2 活性低下の先行性

ここまでの記述からでは、ADAR2 の機能異常に關係して神経細胞死が起こる、また ADAR2 活性低下と TDP-43 病理像には関連性があるということは述べられているものの、ADAR2 が先行するのかそれとも TDP-43 が先行するのかということに対して論ぜられていない。このことに関して、以下の文章では導入で触れた、ALS では領域特異的に神経細胞の変性・脱落が生じるという観点から記述していきたいと思う。

そもそも TDP-43 は 2006 年に ALS と前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration: FTL D) で出現する封入体の構成タンパクとして同定されたものである。FTL D は前頭葉、側頭葉の萎縮による人格変化や行動異常を示す前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia: FTD) と側頭葉優位の変性を示す意味性認知症、進行性非流暢性失語症を合わせたものの総称である。またアルツハイマー型認知症、レビー小体型認知症においても 30~50% の頻度で認められるという⁶⁾。これらの疾患では組織の変性・萎縮が脳全般にわたって認められることが知られている。

これらのことから考えると、ALS において領域特異的な TDP-43 の蓄積が本質的

因であるというよりも、各神経変性疾患における神経細胞死誘発因子（アルツハイマー病であればベータアミロイド）によって何らかの障害が発生することで二次的に TDP-43 の細胞質内蓄積が生じるのではないかと、と思われる。

おわりに

現在のところ ALS でみられる個々の病理像や機能異常（この論文中では細胞質中での TDP-43 の蓄積、ADAR2 の活性低下や AMPA 受容体の機能異常）に着目した実験とその結果をまとめた論文は存在しているが、それらの個々の事象の結びつきや、ALS を発症するまでの流れについて検討したものはあまりなかった。それらを全体像としてとらえてまとめ上げることで、本仮説を提唱するに至った次第である。この仮説によって ADAR2 と ALS の関連が明らかになれば、例えば ADAR2 の活性増加を促すような医療措置によって ALS の改善が見込めるかもしれない。本文中でも既に少し触れたことではあるが、この分野における研究は最近になって明らかになった事実も多く、疾患の概念自体も不鮮明であることからわかるように発展途上である。今後の研究の動向に着目し、いつの日か治療薬の開発に到達することを願うばかりである。

参考

1) Hideyama T, Yamashita T, Suzuki T, et al. Induced loss of ADAR2 engenders slow death of motor neurons from Q/R site-unedited GluR2. J Neurosci

30(36):11917-11925, 2010

2) Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations

Mackenzie IRA; Bigio EH; Ince PG; Geser F; Neumann M; Cairns NJ; Kwong LK; Forman MS; Ravits J; Stewart H; Eisen A; McClusky L; Kretzschmar HA; Monoranu CM;

Highley JR; Kirby J; Siddique T; Shaw PJ; Lee Virginia M-Y; Trojanowski JQ
Annals of neurology, 2007, 61 (5), p427-434.

3) Kawahara, Y. et al. Neurosci Res 54, 11-4, 2006

4) Reduction of GluR2 RNA Editing, a Molecular Change that Increases Calcium Influx through AMPA Receptors, Selective in the Spinal Ventral Gray of Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis.

Takuma H, Kwak S, Yoshizawa T, Kanazawa I

Ann Neurol, 46:806-815, 1999

5) TDP-43 pathology in sporadic ALS occurs in motor neurons lacking the RNA editing enzyme ADAR2

Aizawa H; Sawada J; Hideyama T; Yamashita T; Katayama T; Hasebe N; Kimura T; Yahara O; Kwak S

Acta Neuropathol, 2010, 120, p75-845

6) アルツハイマー病およびレビー小体型認知症におけるリン酸化 TDP-43

秋山治彦 新井哲明 長谷川成人
最新医学 65 巻 7 号