

29. Schmauss C. Serotonin 2C receptor: suicide, serotonin and runaway RNA editing. *Neuroscientist* 2003; 9:237-42.
30. Iwamoto K and Kato T. RNA editing of serotonin 2C receptor in human postmortem brains of major mental disorders. *Neurosci Lett* 2003; 346:169-72.
31. Dracheva S, et al. Increased serotonin 2C receptor mRNA editing: a possible risk factor for suicide. *Mol Psychiatry* 2007.
32. Bhanali B, Dunning J, Singer SE, David L and Schmauss C. Early life stress alters adult serotonin 2C receptor pre-mRNA editing and expression of the alpha subunit of the heterotrimeric G-protein G_q. *J Neurosci* 2007; 27:1467-73.
33. Englander MT, Dulawa SC, Bhanali P and Schmauss C. How stress and fluoxetine modulate serotonin 2C receptor pre-mRNA editing. *J Neurosci* 2005; 25:648-51.
34. Bruus R, et al. Early-onset epilepsy and postnatal lethality associated with an editing-deficient GluR-B allele in mice. *Science* 1995; 270:1677-80.
35. Vissel B, et al. The role of RNA editing of kainate receptors in synaptic plasticity and seizures. *Neuron* 2001; 29:217-27.
36. Grigorenko EV, Bell WL, Glazier S, Pons T and Deadwyler S. Editing status at the Q/R site of the GluR2 and GluR6 glutamate receptor subunits in the surgically excised hippocampus of patients with refractory epilepsy. *NeuroReport* 1998; 9:2219-24.
37. Kortenbruck G, Berger E, Speckmann EJ and Mushoff U. RNA editing at the Q/R site for the glutamate receptor subunits GLUR2, GLUR5 and GLUR6 in hippocampus and temporal cortex from epileptic patients. *Neurobiol Dis* 2001; 8:459-68.
38. Miyamura Y, et al. Mutations of the RNA-specific adenosine deaminase gene (DSRAD) are involved in dyschromotaxis symmetrica hereditaria. *Am J Hum Genet* 2003; 73:693-9.
39. Kawahara Y, et al. Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons. *Nature* 2004; 427:801.
40. Kiner R, et al. Late-onset motoneuron disease caused by a functionally modified AMPA receptor subunit. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:5826-31.
41. Feldmeyer D, et al. Neurological dysfunctions in mice expressing different levels of the Q/R site-unedited AMPAR subunit GluR-B. *Nat Neurosci* 1999; 2:57-64.
42. Van Damme P, Braeken D, Callewaert G, Robberecht W and Van Den Bosch L. GluR2 deficiency accelerates motor neuron degeneration in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005; 64:605-12.
43. Tateo M, et al. Calcium-permeable AMPA receptors promote misfolding of mutant SOD1 protein and development of amyotrophic lateral sclerosis in a transgenic mouse model. *Hum Mol Genet* 2004; 13:2183-96.
44. Kawahara Y, et al. Underediting of GluR2 mRNA, a neuronal death inducing molecular change in sporadic ALS, does not occur in motor neurons in ALS1 or SBMA. *Neurosci Res* 2006; 54:11-4.
45. Jia Z, et al. Enhanced LTP in mice deficient in the AMPA receptor GluR2. *Neuron* 1996; 17:945-56.
46. Kwak S and Weiss JH. Calcium-permeable AMPA channels in neurodegenerative disease and ischemia. *Curr Opin Neurobiol* 2006; 16:281-7.
47. Mahajan SS and Ziff EB. Novel toxicity of the unedited GluR2 AMPA receptor subunit dependent on surface trafficking and increased Ca²⁺-permeability. *Mol Cell Neurosci* 2007; 35:470-81.
48. Greger IH, Khatri L and Ziff EB. RNA editing at arg607 controls AMPA receptor exit from the endoplasmic reticulum. *Neuron* 2002; 34:759-72.
49. Burns CM, et al. Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature* 1997; 387:303-8.
50. Hoopengardner B, Bhalla T, Straber C and Reenan R. Nervous system targets of RNA editing identified by comparative genomics. *Science* 2003; 301:832-6.
51. Rueter SM, Dawson TR and Emeson RB. Regulation of alternative splicing by RNA editing. *Nature* 1999; 399:75-80.
52. Peng PL, et al. ADAR2-dependent RNA editing of AMPA receptor subunit GluR2 determines vulnerability of neurons in forebrain ischemia. *Neuron* 2006; 49:719-33.
53. Kwak S, et al. Development of a mouse model of sporadic ALS by deficient RNA editing. *Neurosci Res* 2007; 58 (Suppl):S119.
54. Kawahara Y and Kwak S. Excitotoxicity and ALS: what is unique about the AMPA receptors expressed on spinal motor neurons? *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2005; 6:131-44.
55. Lewanon EY, et al. Evolutionarily conserved human targets of adenosine to inosine RNA editing. *Nucleic Acids Res* 2005; 33:1162-8.
56. Dentzer JM, et al. Dynamic association of RNA-editing enzymes with the nucleolus. *J Cell Sci* 2003; 116:1805-18.
57. Poulsen H, Nilsson J, Damgaard CK, Egebjerg J and Kjems J. CRM1 mediates the export of ADAR1 through a nuclear export signal within the Z-DNA binding domain. *Mol Cell Biol* 2001; 21:7862-71.
58. Sansam CL, Wells KS and Emeson RB. Modulation of RNA editing by functional nuclear sequestration of ADAR2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:14018-23.
59. Macbeth MR, et al. Inositol hexakisphosphate is bound in the ADAR2 core and required for RNA editing. *Science* 2005; 309:1534-9.
60. Gan Z, et al. RNA editing by ADAR2 is metabolically regulated in pancreatic islets and beta-cells. *J Biol Chem* 2006; 281:33386-94.
61. Maas S, Pat S, Schrey M and Rich A. Underediting of glutamate receptor GluR-B mRNA in malignant gliomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:14687-92.
62. Cenci C, et al. Downregulation of RNA Editing in Pediatric Astrocytomas: ADAR2 editing activity inhibits cell migration and proliferation. *J Biol Chem* 2008; 283:7251-60.
63. Cho DS, et al. Requirement of dimerization for RNA editing activity of adenosine deaminases acting on RNA. *J Biol Chem* 2003; 278:17093-102.
64. Gallo A, Keegan LP, Ring GM and O'Connell MA. An ADAR that edits transcripts encoding ion channel subunits functions as a dimer. *Embo J* 2003; 22:3421-30.
65. Ayala YM, et al. Human, *Drosophila* and *C. elegans* TDP43: nucleic acid binding properties and splicing regulatory function. *J Mol Biol* 2005; 348:575-88.
66. Buratti E, Brindisi A, Pagani F and Baralle FE. Nuclear factor TDP-43 binds to the polymorphic TG repeats in CFTR intron 8 and causes skipping of exon 9: a functional link with disease penetrance. *Am J Hum Genet* 2004; 74:1322-5.
67. Buratti E, et al. Nuclear factor TDP-43 and SR proteins promote in vitro and in vivo CFTR exon 9 skipping. *Embo J* 2001; 20:1774-84.
68. Ayala YM, Pagani F and Baralle FE. TDP43 depletion rescues aberrant CFTR exon 9 skipping. *FEBS Lett* 2006; 580:1339-44.
69. Mercado PA, Ayala YM, Romano M, Buratti E and Baralle FE. Depletion of TDP 43 overrides the need for exonic and intronic splicing enhancers in the human apoA-II gene. *Nucleic Acids Res* 2005; 33:6000-10.
70. Arai T, et al. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351:602-11.
71. Neumann M, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2006; 314:130-3.
72. Mackenzie IR, et al. Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Ann Neurol* 2007; 61:427-34.
73. Tan CE, et al. TDP-43 immunoreactivity in neuronal inclusions in familial amyotrophic lateral sclerosis with or without SOD1 gene mutation. *Acta Neuropathol (Berl)* 2007; 113:535-42.
74. Yokoei A, et al. TDP-43 mutation in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 2008; 63:538-42.
75. Van Deerlin VM, et al. TARDBP mutations in amyotrophic lateral sclerosis with TDP-43 neuropathology: a genetic and histopathological analysis. *Lancet Neurol* 2008; 7:409-16.
76. Kabashi E, et al. TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet* 2008; 40:572-4.
77. Sreedharan J, et al. TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2008; 319:1668-72.
78. Gitcho MA, et al. TDP-43 A315T mutation in familial motor neuron disease. *Ann Neurol* 2008; 63:535-8.

Weidong Pan
Rika Soma
Shin Kwak
Yoshiharu Yamamoto

Improvement of motor functions by noisy vestibular stimulation in central neurodegenerative disorders

Received: 19 November 2007
Received in revised form: 23 February 2008
Accepted: 25 March 2008
Published online: 18 July 2008

W. Pan, MD, PhD · S. Kwak, MD, PhD
Dept. of Neurology
Graduate School of Medicine
The University of Tokyo
7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku
113-8655 Tokyo, Japan

R. Soma, PhD · Y. Yamamoto, PhD (✉)
Educational Physiology Laboratory
Graduate School of Education
The University of Tokyo
7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku
113-0033 Tokyo, Japan
Tel.: +81-3/5841-3971
Fax: +81-3/5689-8069
E-Mail: yamamoto@p.u-tokyo.ac.jp

Abstract Through the cerebellar vermis, the vestibular nerves are known to influence the basal ganglia and the limbic system. By means of noisy galvanic vestibular stimulation (GVS), it may be possible to ameliorate movement disorders, particularly akinesic symptoms, in patients with central neurodegenerative disorders. We evaluated the effect of 24-hour noisy GVS on a power-law temporal autocorrelation exponent of daytime wrist activity, separately for higher (local maxima) and lower (local minima) levels of activity, in 14 hospitalized patients.

The power-law exponent for the local maxima was significantly ($p < 0.002$) lower with the noisy GVS than with sham stimulation, suggestive of more frequent switching behavior from low to high levels of activity or less severe akinesia. The noisy GVS may thus potentially improve certain motor dysfunctions in patients with distinct central neurodegenerative diseases.

Key words Parkinson's disease · multiple system atrophy · physical activity · power-law exponent · stochastic resonance

Introduction

With galvanic vestibular stimulation (GVS), electrical current is delivered transcutaneously to the vestibular afferents through electrodes placed over the mastoid bones, modulating their continuous firing levels [6]. The vestibular nerves are known to influence the basal ganglia and the limbic system [1, 2] via the cerebellar vermis [3, 9]. As these projections have a strong effect on the turnover of dopamine and noradrenaline in these areas [1, 2], activation of these pathways may alleviate the lack of a monoamine-mediated limbic-to-motor link, such as that responsible for the akinesic symptom observed in Parkinson's disease (PD) patients [4], in addition to the direct vestibulo-cerebellar effects on motor functions. We thus hypothesized that the GVS may alleviate movement disorders, particularly akinesic symptoms, in patients with PD and other central neurodegenerative disorders, including multiple system atrophy (MSA).

Indeed, Yamamoto et al. [17] evaluated the effect of continuous GVS on day-long spontaneous trunk activity dynamics in patients with either levodopa responsive PD or levodopa unresponsive parkinsonism, and reported a quickening of bradykinesic rest-to-active transitions probed by a power-law temporal autocorrelation measure. Also, they used zero-mean, noisy stimulation applied with a portable device, which is more advantageous than constant GVS because it does not cause side effects in the form of unilateral oculomotor and postural responses [14]. The rationale behind using noisy stimulation is the beneficial role played by input noise in sensitizing neural systems [5, 8], possibly through a mechanism known as stochastic resonance, a basic physical mechanism underlying noise-enhanced responses of nonlinear systems to weak signals [16], and it is hypothesized that a central circuit signaling the onset of movement of which the threshold is relatively increased due to the diseases may benefit from noisy modulation of the afferent firing rates. However, symptom-

atic correlates of the alteration in the autocorrelation measure by noisy GVS are still unknown.

Recently, Pan et al. [11] showed that the power-law exponent (α) for higher levels of wrist activity - measured by a standard actigraph device [15] - or at the so-called local maxima of coefficients of the wavelet transform significantly correlated with the symptom severity of PD patients; the less severe PD patients exhibited lower α values for the local maxima, suggestive of more frequent switching behavior from low to high levels of physical activity or less severe akinesia. Thus, by using this power-law exponent for local maxima in the present study, we aim to evaluate the possible ameliorating effect of noisy GVS on impaired motor functions of patients with central neurodegenerative disorders.

Patients and methods

Participants

Ten patients with akinesia and four with ataxia at the Department of Neurology of the University of Tokyo Hospital participated in this study (Table 1). All the patients were ambulant but exhibited gait disturbance due to akinesia or ataxia. Medication was kept the same throughout the experiment. Seven of the fourteen patients (Nos. 3-6, 11, 13, 14) were also tested in our previous study [17]. The study was approved by the Ethics Committee of the Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, and performed under the principles outlined in the Declaration of Helsinki.

Procedures and data analyses

The GVS devices used and the experimental procedures were the same as those used previously [17]. In brief, a portable GVS device

was used to deliver currents using a bilateral unipolar configuration [6], in which electrodes were placed over the patient's bilateral mastoid processes with the reference electrodes placed on the forehead. The waveform, a zero-mean, linearly detrended noisy current with a 1/f-type power spectrum within a range of 0.01-2.0 Hz or a constant zero current for control, with a duration of 300 s was continuously repeated during the tests. The device has a switch inside so that the experimenter could choose the waveform to use; this was, however, concealed from the patients and doctors in charge of them. The tests started at about noon during the patients' hospital stay. After determining the nociceptive threshold of each patient, the magnitude (standard deviation) of noisy GVS was set to 60% of each subject's nociceptive threshold (SD of the current amplitude; 0.29 ± 0.20 mA), ensuring the absence of apparent oculomotor responses and that the patients were not aware of the presence of the GVS during the tests. Then, either the noisy GVS or the control zero current was continuously applied for the first 24 hours, and then switched to the counterpart and applied for another 24 hours, while the patients' wrist activity was monitored continuously for 48 hours. The order of conditions was determined for each patient by random selection.

The methods for data collection and analyses were the same as those in Pan et al. [11]. Briefly, all the patients wore a small watch-type activity monitor equipped with a computer (Ruputer Pro, Seiko Instruments, Chiba) [17] on the wrist of their non-dominant hand. Zero-crossing counts were recorded for every minute and were separated into the time awake and the time asleep, according to the patient's report. Only the data during the time awake were used for analyses. The wavelet coefficients ($W(S)$) at each point along the time series and at different time scales (S) were obtained by convolving the third derivative of the Gaussian function as the so-called "mother wavelet" with the time series. By this approach, the transient increases (low-high-low level activity patterns) yielded local maxima of the wavelet coefficients at their time points, while the decreases (high-low-high level activity patterns) yielded local minima of the wavelet coefficients. Then, the squared wavelet coefficients at the local maxima or minima were averaged for all the data points, and the power-law exponent (α) was obtained separately for local maxima and minima as the slope of a straight line fit in the double-logarithmic plot of S vs. $W(S)$ in the range of S corresponding to 8 to 35 min (Fig. 1 c, d). The differences in the α values for GVS and control condi-

Table 1 Demographic and clinical data of 14 patients

No. of patients	Age (yr)	Sex	Diagnoses	UMSARS PartI/PartII/PartIII	UPDRS (PartIII) /H&Y	Duration (yr)	Medication
1	72	M	PD	-	33/3	7	L 200 mg, A 150 mg, C 1 mg
2	78	M	PD	-	32/2	4	L 400 mg, A 150 mg, P 500 mg, D 300 mg
3	38	M	PD	-	35/3	8	L 400 mg, TL 0.4 mg, C 4 mg
4	74	M	PA	-	48/3	2	TZ 150 mg
5	77	F	MSA-p	22/30/3	-/3	3	L 300 mg
6	55	M	MSA-p	25/26/3	-/3	2	C 2 mg, L 300 mg, D 600 mg
7	63	M	MSA-p	34/37/4	-/4	3	L 300 mg, DB 10 mg
8	74	F	MSA-p	25/25/3	-/3	3.5	L 500 mg, S 100 mg, C 4 mg
9	56	F	MSA-p	26/28/3	-/3	4	L 450 mg
10	74	F	MSA-p	16/15/1	-/2	2	L 100 mg
11	54	M	MSA-c	20/19/2	-	1.5	PS 180 mg
12	59	M	MSA-c	23/20/2	-	5	none
13	52	M	CCA	15/6/1	-	4	none
14	61	M	CCA	11/13/2	-	6	TT 10 mg

H&Y Hoehn-Yahr staging; UMSARS unified MSA rating scale; UPDRS unified Parkinson's disease rating scale; AR/P autosomal recessive juvenile parkinsonism; CCA cortical cerebellar atrophy; MSA multiple system atrophy with dominant cerebellar ataxia (c), or parkinsonism (p); PA pure akinesia; PD Parkinson's disease; A amantadine; C cabergoline; D droxidopa; DB distigmine; L L-dopa/DCI; P pergolide; PS pyridostigmine; S selegiline; TL talipexole; TT taltirelin; TZ trazodone

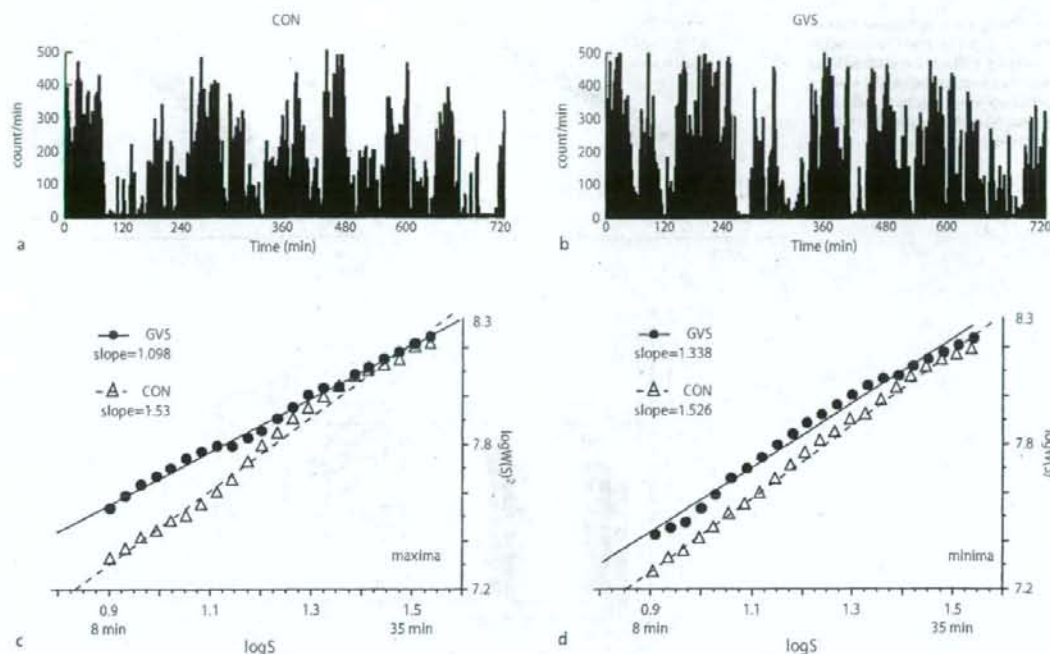


Fig. 1 Illustrative examples of wrist activity data of a PD patient during the control (CON) period (a) and during GVS application (b). The wavelet coefficients ($W(S)$) of these data, as a function of the wavelet scale (S), are shown for local maxima (c) and minima (d). The slopes are power-law exponents α

tions, and those for the first and the second days, were tested by a paired *t*-test.

Results

The representative wrist activity data of a PD patient during the control period (Fig. 1a) and during the application of GVS (Fig. 1b) are shown. Compared to control, GVS is associated with more frequent switching between higher and lower levels of activity. This results in a higher wavelet power ($W(S)$) with GVS (Fig. 1c, d), particularly at smaller scales (S), or at higher frequencies, for local maxima (Fig. 1c). The power-law exponent α , given by the slope of the $\log S$ vs. $\log W(S)$ relationship and characterizing the nature of "switching" patterns between high and low values in a statistical sense, is smaller with GVS than with control stimulation, especially for the local maxima, suggestive of a quicker rest-to-active transition with GVS.

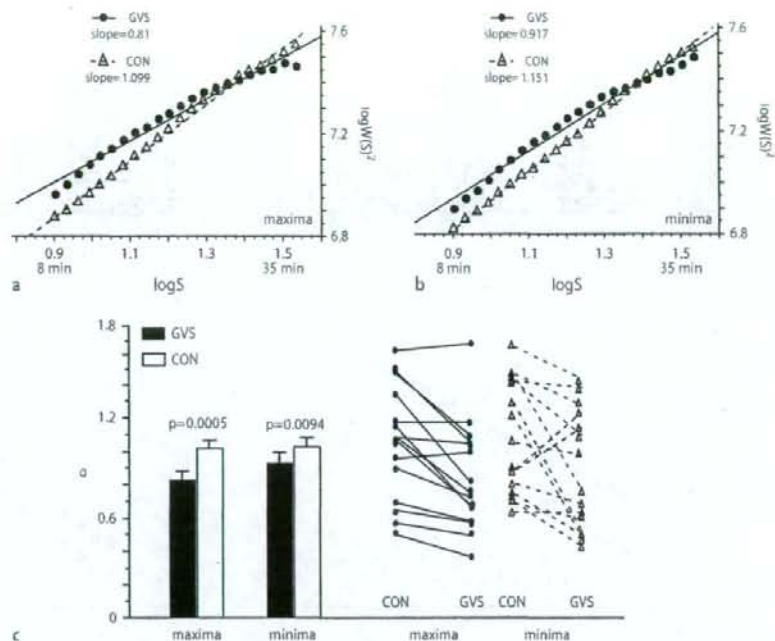
The group average wavelet coefficients exhibit linear relationships in the range of scales (S) from 8 min to 35 min both for local maxima (Fig. 2a) and minima (Fig. 2b) and for GVS and control conditions. The slope for local maxima with noisy GVS being substantially less than

that with control stimulation (Fig. 2a). For local maxima, the mean power-law exponent is significantly smaller ($p < 0.002$) for GVS than for the control, with the difference approaching 0.3 (Fig. 2c). The mean α for local minima is also significantly smaller ($p < 0.02$) for GVS than for the control, but the difference is much less than that for the local maxima. When the mean α values for the first and the second days were compared, significant differences were not observed either for local maxima or minima ($p > 0.05$), suggesting that the above differences are due to the GVS application itself, not to an "order effect".

Discussion

The cranial nerves send direct inputs to the brain, and their stimulation may lead to alterations in various central functions. Such stimulation may potentially be used in the treatment of brain disorders [7]. In fact, stimulation of the vagus nerve by an implanted pulse generator has already been used to treat intractable epilepsy [13] and depression [12], its success presumably due to the vagus' connection to the nucleus tractus solitarius and subsequent noradrenergic innervation (via the locus ce-

Fig. 2 The group average wavelet coefficients for local maxima (a) and minima (b) for GVS and control (CON) conditions. c Comparisons of the mean α for GVS and CON (left) and the within-individual differences (right). The error bars represent SEM



ruleus) of every level of the forebrain [7]. Considering its central connections [1–3, 9], the vestibular nerve can also influence limbic-to-motor functions, which is why we chose GVS in the current study. Moreover, by adding an equal number of new patients with dominant movement disorders, we confirmed the conclusion of our previous study [17], that a non-invasive and non-nociceptive application of noisy GVS, presumably through the mechanism of stochastic resonance [16], can be used to improve impaired motor functions of patients with degenerative neurological diseases.

Importantly, in this study we confirm the anti-akinesic effect of noisy GVS using a power-law temporal autocorrelation measure [10] of the patients' wrist activities, which were shown to be significantly correlated with symptom severities of PD patients [11]. Indeed, the observed decrease, approaching 0.3, in the mean power-law exponent α for local maxima by noisy GVS is comparable with, or even greater than, the decreases observed for PD patients between the severe and mild groups and of individual patients on "good condition" and "bad condition" days, as well as between days before and after anti-parkinsonism medication [11]. One non-negligible difference from the Pan et al. study [11] is the

length of time for which data is available; here, we only analyzed data for a single day, while the previous study used data for >6 days. However, we confirmed that the observed decrease in α for local maxima is still greater than those obtained by reanalyzing Pan and coworkers' data [11] for a single day (1.085 ± 0.041 for severe and 0.847 ± 0.051 for mild parkinsonism; 1.034 ± 0.042 and 0.839 ± 0.037 for good and bad conditions, respectively; 0.903 ± 0.053 before and 0.719 ± 0.046 after medication; mean \pm SEM), suggesting that the large decrease in the α values in this study is likely not affected by the limited time of data collection. Thus, we conclude that the presence of the anti-akinesic effect of noisy GVS with symptomatic correlates even in patients showing dopa-unresponsive parkinsonism, in addition to the anti-ataxic effect in patients with cerebellar ataxia, presumably through the demonstrated vestibulo-cerebellar connections [3, 9], calls for further research on the neurophysiological mechanisms and the effect of portable noisy GVS on the symptoms and quality of life in ambulatory patients with central neurodegenerative disorders.

Acknowledgements We thank Kyoko Ohashi for her help with data analyses.

References

- Albert TJ, Dempsey CW, Sorenson CA (1985) Anterior cerebellar vermal stimulation: effect on behavior and basal forebrain neurochemistry in rat. *Biol Psychiat* 20:1267-1276
- Anderson CM, Polcari A, Lowen SB, Renshaw PF, Teicher MH (2002) Effects of methylphenidate on functional magnetic resonance relaxometry of the cerebellar vermis in boys with ADHD. *Am J Psychiat* 159:1322-1328
- Barmack NH (2003) Central vestibular system: vestibular nuclei and posterior cerebellum. *Brain Res Bull* 60:511-541
- Chaudhuri A, Behan PO (2000) Fatigue and basal ganglia. *J Neurol Sci* 179:34-42
- Collins JJ, Imhoff TT, Grigg P (1996) Noise-enhanced information transmission in rat SA1 cutaneous mechanoreceptors via aperiodic stochastic resonance. *J Neurophysiol* 76:642-645
- Fitzpatrick RC, Day BL (2004) Probing the human vestibular system with galvanic stimulation. *J Appl Physiol* 96:2301-2316
- George MS, Sackeim HA, Rush AJ, Marangell LB, Nahas Z, Husain MM, Lisanby S, Burt T, Goldman J, Ballenger JC (2000) Vagus nerve stimulation: a new tool for brain research and therapy. *Biol Psychiat* 47:287-295
- Moss F, Ward LM, Sannita WG (2004) Stochastic resonance and sensory information processing: a tutorial and review of application. *Clin Neurophysiol* 115:267-281
- Newlands SD, Perachio AA (2003) Central projections of the vestibular nerve: a review and single fiber study in the Mongolian gerbil. *Brain Res Bull* 60:475-495
- Ohashi K, Nunes Amaral LA, Natelson BH, Yamamoto Y (2003) Asymmetrical singularities in real-world signals. *Phys Rev E* 68:065204
- Pan W, Ohashi K, Yamamoto Y, Kwak S (2007) Power-law temporal autocorrelation of activity reflects severity of parkinsonism. *Mov Disord* 22:1308-1313
- Rush AJ, George MS, Sackeim HA, Marangell LB, Husain MM, Giller C, Nahas Z, Haines S, Simpson RK Jr, Goodman R (2000) Vagus nerve stimulation (VNS) for treatment-resistant depressions: a multicenter study. *Biol Psychiat* 47:276-286
- Rutecki P (1990) Anatomical, physiological, and theoretical basis for the antiepileptic effect of vagus nerve stimulation. *Epilepsia* 31(Suppl 2):S1-S6
- Soma R, Nozaki D, Kwak S, Yamamoto Y (2003) 1/f noise outperforms white noise in sensitizing baroreflex function in the human brain. *Phys Rev Lett* 91:078101
- Teicher MH (1995) Actigraphy and motion analysis: new tools for psychiatry. *Harvard Rev Psychiat* 3:18-35
- Wiesenfeld K, Moss F (1995) Stochastic resonance and the benefits of noise: from ice ages to crayfish and SQUIDS. *Nature* 373:33-36
- Yamamoto Y, Struzik ZR, Soma R, Ohashi K, Kwak S (2005) Noisy vestibular stimulation improves autonomic and motor responsiveness in central neurodegenerative disorders. *Ann Neurol* 58:175-181

AMPA受容体サブユニット GluR 2 の RNA編集と ALS における神経細胞死

西本 祥仁 日出山 拓人 河原 行郎 郭 伸

神経細胞死とグルタミン酸興奮仮説

哺乳類における中枢神経系のほとんどのニューロンは、速い神経伝達や可塑性に関してグルタミン酸を神経伝達物質にもつ。グルタミン酸受容体は α -3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) 受容体を構成するサブユニットであり、4種のサブユニット GluR 1~GluR 4 がホモあるいはヘテロな4量体 heteromeric, homomeric tetramer を形成し、サブユニット構成の違いや、選択的スプライシング alternative splicing による flip 型/flop 型 variant をとることにより多様なチャネル特性を現す。グルタミン酸受容体はイオンチャネル型と代謝調節型に分類され、イオンチャネル型受容体はさらに AMPA 受容体、カイニン酸 (KA) 受容体、N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 受容体に分けられる。急性の神経細胞死には主として NMDA 受容体が関与するのに対し、慢性発症性の細胞死には AMPA 受容体の関与が大きいことが明らかになってきている。特に脊髄運動ニューロンは、培養細胞系で長期にわたる AMPA 受容体アゴニストへの暴露により Ca^{2+} 流入を引き金とした選択的な細胞死をもたらすことから、AMPA 受容体の関与する神経細胞死に特に脆弱であることが示唆され、加えてラットを用いた in vivo での動物実験においても、AMPA 受容体アゴニストである KA 持続髄注によって発症性発症、緩徐進行性の細胞死が認められることから¹⁾、運動ニューロンを選択的に侵す発症性発症の神経疾患、すなわち ALS との関連機序の解明が重要であると認識されるようになった。

GluR 2 Q/R 部位と RNA 編集の生物学的意義

AMPA 受容体はホモあるいはヘテロなグルタミン酸受

容体サブユニットの4量体として形成される。これらのサブユニットの中で、神経細胞死の引き金となる Ca^{2+} 流入を規定する最も重要な役割を担うのは GluR 2 である²⁾。すなわち AMPA 受容体が GluR 2 をサブユニットにもつと Ca^{2+} 透過性は低く、GluR 2 以外の GluR 1, 3, 4 のみからなると Ca^{2+} 透過性は高くなる³⁾。この GluR 2 の特性は、第2膜領域のチャネルポアに面する Q/R 部位の RNA 編集(後述)による(図1)。GluR 2 は他のサブユニット同様、遺伝子上においては (Q) ; CAG がコードされているが、pre-mRNA の段階で哺乳類のニューロンでは、ほぼ100% RNA 編集を受けて (R) ; CI(G)G として翻訳される。この Q/R 部位が編集されることが、GluR 2 の Ca^{2+} 透過性チャネル特性の決定因子として重要である。したがって、未編集の GluR 2 (Q) は他のサブユニット同様に、AMPA 受容体に組み込まれても Ca^{2+} 透過性は高い。

一般的に真核生物の細胞では、遺伝子から pre-mRNA が転写されるのと同時にプロセッシングも起こっている。その際に1塩基置換あるいは多塩基置換という形式で遺伝情報が書き換えられることがある。これを RNA 編集と呼ぶ⁴⁾。1塩基置換の RNA 編集には、シトシン (C) → ウラシル (U)、アデノシン (A) → イノシン (I) の2種類が知られており、前者は植物から哺乳類まで種を越えて保存されている。一方、後者は線虫、ショウジョウバエ、イカ、哺乳類においては中枢神経系で活発に行われていることが知られている。Exon 内の RNA 編集によって、翻訳時のアミノ酸が変わりタンパク質の構造あるいは機能変化を引き起こしたり(例: GluR 2)、コドンが終止コドンに変わることによって翻訳時のタンパク質が短くなり活性の変化を引き起こすことがある。そして後述のように特に GluR 2 Q/R 部位で RNA 編集が行われないと、その細胞の生死に直接的に影響を与えることから考えても、RNA 編集は生物学的に非常に重要な調節機構であるといえる。

GluR 2 Q/R 部位の RNA 編集が神経細胞の生存にとって重大な意味をもつことは、GluR 2 が Q/R 部位で RNA 編集されない変異マウスが、ホモ接合体・ヘテロ接合体い

にしもと よしのり 東京大学/大学院医学系研究科神経内科学
慶應義塾大学/神経内科
ひでやま たくと 東京大学/大学院医学系研究科神経内科学
かわはら ゆきお 同
The Wistar Institute, Philadelphia, PA
かくしん 東京大学助教授/大学院医学系研究科神経内科学

ずれにおいてもいれん重積に伴う神経細胞死により生後20日以内に死亡すること⁷⁾, およびQ/R部位をQと同様の意義をもつアスパラギン(N)に置換した人工的 mini-gene を遺伝子導入し, 編集型 GluR2(R)が約76%に減少したモデルでは, 海馬CA1領域の錐体細胞のCa²⁺透過性の増加を認めるが, 初期には目立った異常所見を呈さず, 生後12ヵ月に遅発性の運動ニューロン死を引き起こすこと⁸⁾より示されている。GluR2の欠損と神経細胞死との関連は, in vivo では GluR2 ノックアウトマウスが長期増強 long-term potentiation(LTP)亢進, 探索行動異常, 協調運動障害および海馬神経細胞の著明なCa²⁺透過性の増加などを認めるが, 神経細胞死を引き起こさないもの⁹⁾, in vitro では GluR2(R)を含まないAMPA受容体のみを発現する培養小脳Purkinje細胞が, Ca²⁺透過性の亢進とともに神経細胞死を引き起こすので一定ではない。その他, alternative splicing variants である flip 型, flop 型は異なる脱感作時間を持ち開口チャネル数を変えることで, また細胞表面のAMPA受容体密度は個々の受容体からのCa²⁺流入は変えないが, 全体としての細胞内Ca²⁺流入に影響を及ぼすことで, 細胞全体としてのCa²⁺流入を変える。しかし, これらは細胞死の直接原因とはならない。以上の知見から, GluR2の発現量の低下およびGluR2の編集率低下が in vivo における神経細胞死の直接原因であることが推測されたが, 後者の及ぼす影響の方がはるかに大きい。

孤発性 ALS における GluR2 RNA 編集

筋萎縮性側索硬化症 amyotrophic lateral sclerosis (ALS) は, 人口10万あたり発症率0.5~3人/年, 有病率2~8人程度の頻度でみられ, 90%以上は孤発性に発症する運動ニューロン疾患である。発症後の病状は一切をもって不可逆的, 進行性に上位, 下位の運動ニューロンが障害を受け, 数年のうちに呼吸不全におちいる。高齢発症, 球麻痺型においてはとりわけ予後が不良である。終末期まで意識, 感覚を始めとする運動ニューロン以外の機能は保持されるために患者の苦痛は筆し難きものであり, 最も早急に治療開発が望まれている疾患の一つである。しかしながら, その独立概念の確立から140年間, 様々な原因仮説が謳われてきたが, いずれもその特徴的な病態を説明しうるものではなかった。そのような停滞した流れの中で, AMPA受容体を介しての興奮性神経細胞死をモデルとした遅発性運動ニューロン死についての重要な知見が得られてきた。

Kwakらは, AMPA受容体を介した神経細胞死のメカニズムがALS脊髄運動ニューロンで働いているかどうか

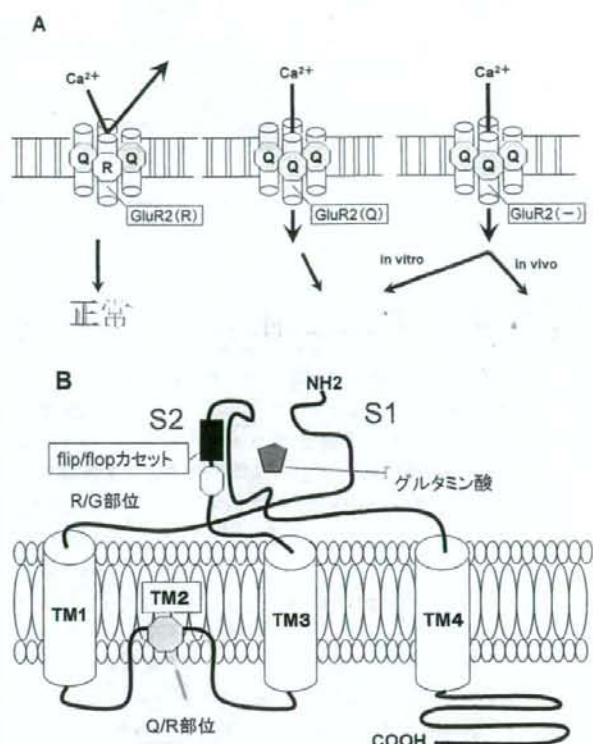


図1 AMPA受容体, グルタミン酸受容体サブユニットの構造 (西本ら⁹⁾, 日出山ら⁸⁾より改変)

A) AMPA受容体のCa²⁺透過性と細胞に与える影響。AMPA受容体はホモあるいはヘテロなグルタミン酸受容体サブユニットの4量体として形成される。AMPA受容体のCa²⁺透過性はQ/R部位がQのみであるかRに編集されているかによって決定する。編集型GluR2(R)を1つ以上含めば, Ca²⁺透過性は低くなり, 未編集型GluR2(Q)あるいはGluR2を含まないものでは, 高いCa²⁺透過性を示し様々な細胞機能の異常をきたす。ちなみに哺乳類の神経細胞では, ほぼ100%GluR2は編集されGluR2(R)として存在する。

B) GluRサブユニットの構造。Q/R部位は膜ドメインM2内に存在する。M3/M4間の細胞膜外にはやはりRNA編集を受けるR/G部位が存在する。S1, S2はグルタミン酸の結合部位。

TM; transmembrane domain, LTP; long-term potentiation.

を確定するために, GluR2発現量の低下およびGluR2のRNA編集率低下の有無を明らかにする目的で, laser beamを用いたmicro-dissection法により切り出した単一ニューロン組織での, AMPA受容体各サブユニットのmRNA定量およびGluR2 Q/R部位RNA編集率の測定法を確立した。その結果, ALS脊髄運動ニューロンにお

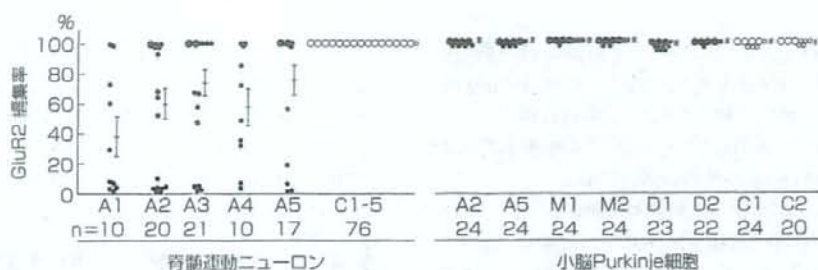


図2 孤発性ALSにおけるRNA編集率低下の疾患特異性・細胞選択性(Kawaharaら¹²⁾より改変)
 各点(大点:5細胞, 小点:1細胞)は, ALS(A1-A5)群, 正常コントロール(C1-C5)群, 多系統萎縮症(M1, M2)群, 歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症(D1, D2)群における単一神経細胞(左:脊髄運動ニューロン, 右:小脳Purkinje細胞)のGluR2 Q/R部位の編集率を表す。各群における平均値±標準偏差および1検体あたり解析した細胞数(n)も示す。脊髄運動ニューロンでは正常コントロール群のすべての細胞でほぼ100%編集されているのに対し, ALS群の細胞では明らかに正常コントロール群に対して有意に低下しており(Mann-Whitney *U*-test, $P < 0.001$)。1検体内でも細胞ごとに大きなばらつきを示していた。小脳Purkinje細胞ではALS群, 多系統萎縮症群, 歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症群と正常コントロール群との間で編集率に有意差はなかった(Mann-Whitney *U*-test, $P > 0.05$)。

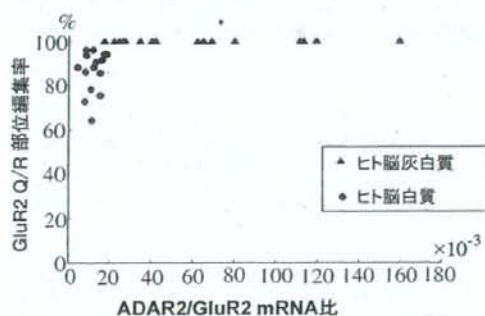


図3 GluR2 Q/R部位編集率とADAR2 mRNA発現量の関連性(Kawaharaら¹²⁾より改変)

GluR2 mRNAに対するADAR2 mRNAの発現比が 20×10^{-3} 以下の時は, GluR2 Q/R部位の編集率は100%に至らない。 20×10^{-3} 以上になる時は, GluR2 Q/R部位は100%編集される。正常白質組織においてはGluR2 Q/R部位のRNA編集率は64~99%であり, 白質のグリア細胞を発生母地とする悪性膠芽腫においても69~88%に留まることが知られている。

るGluR2 mRNAの発現量自体は低下していないこと¹⁰⁾, しかし脊髄前角組織レベルで疾患特異的・部位選択的にGluR2 Q/R部位RNA編集率が低下しており¹¹⁾, その変化が前角組織内の運動ニューロン単位での特異的变化に起因するものであることを報告した¹²⁾。すなわち, 正常対照群の脊髄運動ニューロン, ALS群および脊髄小脳変性症

の小脳Purkinje細胞では, GluR2 Q/R部位RNA編集率がほぼ100%に保たれているのに対し, ALS群脊髄運動ニューロンでは0~100%(平均値38~75%)と, その多くが100%に達していなかった(図2)。さらに運動ニューロンが変性するSOD1遺伝子変異による家族性ALS(ALS1), 球脊髄型筋萎縮症spinal and bulbar muscular atrophy(SBMA)の変性した運動ニューロンにおいてもGluR2 Q/R部位のRNA編集は100%に保たれていることを明らかにした¹³⁾。この疾患特異性・細胞選択性の高い分子変化から, GluR2 Q/R部位のRNA編集異常が孤発性ALSの遅発性神経細胞死の病因解明の大きな手がかりの一つとなりうると考えた¹⁴⁾。

ADAR2—その作用と発現制御

哺乳類におけるRNA編集を司る酵素としては, adenosine deaminase acting on RNA(ADAR)1~ADAR3の3種類が知られているが, ADAR3の基質に関しては現在まだ見つかっていない。いずれのtypeも, 2~3カ所のRNA結合部位と1カ所の触媒活性をもつ編集酵素部位を有している。GluR2 Q/R部位におけるRNA編集は, このうちADAR2によって行われている。ADAR2は核小体あるいは核内に存在しており, 編集部位を含むexonと下流のintron内にある不完全な相同配列exon complementary sequence(ECS)とによる, あるいはexon内のhairpin構造により形成される2本鎖RNAに対して編集作用をもつ。ADAR2のノックアウトマウスは, GluR2 ECS削除

により RNA 編集を阻害したマウスと同様の表現型を示し、さらに、この ADAR2 ノックアウトマウスに編集型 GluR2 を発現する遺伝子導入を行うと表現型は正常化するため¹⁵⁾、ADAR2 の活性低下は GluR2 の編集異常を通じて神経細胞死を引き起こすと考えられる。

ADAR2 と GluR2 の RNA 編集との関連は、ヒト脳白質では GluR2 Q/R 部位の編集率は 100% ではなく低下しており、灰白質では 100% に保たれることに対応して、前者では ADAR2 mRNA (酵素)/GluR2 mRNA (基質) 比が後者より低いことから予想される¹⁶⁾(図 3)。即ち GluR2 Q/R 部位の編集率は ADAR2 mRNA 発現量に依存し、ある閾値以上であれば、100% に編集率が飽和していると考えられる。したがって GluR2 の RNA 編集はもっぱら in vivo ADAR2 活性に依存し、ADAR2 mRNA 発現レベルが ADAR2 活性を規定する因子の一つとなっている可能性があげられる。

また ADAR2 は、alternative splicing から計算すると 48 通りの mRNA variants が存在する可能性があるが、実際の各 variant の存在比は均等ではなく大きな偏りがある。

る¹⁷⁾。Variants の存在比の変化が in vivo ADAR2 酵素活性を大きく左右している可能性があり、この酵素の調節制御機構の複雑さを予想させる。以上により、ALS 脊髄運動ニューロンにおける GluR2 Q/R 部位の RNA 編集低下の原因は、ADAR2 活性が何らかの理由で低下したためと考えられる。

孤発性 ALS の治療への応用と今後の課題

疾患特異的・細胞選択的な遅発性神経細胞死が GluR2 Q/R 部位の RNA 編集低下に関与しているという切り口をつかみ、ようやく孤発性 ALS の原因解明への入り口が開かれた。上述したように ADAR2 の活性を規定する要因の一つに、基質に対する ADAR2 の mRNA 発現レベルの関与があると推測される。ただし ADAR2 活性の調節には、複雑な ADAR2 mRNA プロセッシング機構をはじめ解明すべき課題は山積している。将来の展望としては、ADAR2 の活性修飾による治療法へと応用される日がくるかもしれない。医学は孤発性 ALS の特異的治療法の開発実現にむけて、今確かな足どりをもって進んでいる。

文 献

- 1) Kwak S, et al. An ALS rat model by AMPA receptor-mediated excitotoxicity. *Neurosci Res.* 2004; 50: S145.
- 2) Hollmann M, Hartley M, Heinemann S. Ca²⁺ permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science.* 1991; 252: 851-3.
- 3) 西本祥仁, 日出山拓人, 河原行郎, 他. ALS における分子生物学的変化. *医学のあゆみ.* 2005; 215: 3514-8.
- 4) 日出山拓人, 河原行郎, 郭 伸. ALS と AMPA 受容体. *脳と神経.* 2005; 57: 585-98.
- 5) Burnashev N, Monyer H, Seeburg P, et al. Divalent ion permeability of AMPA receptor channels is dominated by the edited form of a single subunit. *Neuron.* 1992; 8: 189-98.
- 6) 河原行郎, 郭 伸. 脳科学における RNA 編集の重要性. *Clin Neurosci.* 2004; 22: 250-1.
- 7) Brusa R, Zimmermann F, Koh D, et al. Early-onset epilepsy and postnatal lethality associated with an editing-deficient GluR-B allele in mice. *Science.* 1995; 270: 1677-80.
- 8) Kuner R, Groom AJ, Bresink I, et al. Late-onset motoneuron disease caused by a functionally modified AMPA receptor subunit. *PNAS.* 2005; 102: 5826-31.
- 9) Jia Z, Agopyan N, Miu P, et al. Enhanced LTP in mice deficient in the AMPA receptor GluR2. *Neuron.* 1996; 17: 945-56.
- 10) Kawahara Y, Kwak S, Sun H, et al. Human spinal motoneurons express low relative abundance of GluR2 mRNA: an implication for excitotoxicity in ALS. *J Neurochem.* 2003; 85: 680-9.
- 11) Takuma H, Kwak S, Yoshizawa T, et al. 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. *Ann Neurol.* 1999; 46: 806-15.
- 12) Kawahara Y, Ito K, Sun H, et al. Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons. *Nature.* 2004; 427: 801.
- 13) Kawahara Y, Sun H, Ito K, et al. Underediting of GluR2 mRNA, a neuronal death inducing molecular change in sporadic ALS, does not occur in motor neurons in ALS1 or SBMA. *NSR.* 2006; 54: 11-4.
- 14) Kwak S, Kawahara Y. Deficient RNA editing of GluR2 and neuronal death in amyotrophic lateral sclerosis. *J Mol Med.* 2005; 83: 110-20.
- 15) Higuchi M, Maas S, Single F, et al. Point mutation in an AMPA receptor gene rescues lethality in mice deficient in the RNA-editing enzyme ADAR2. *Nature.* 2000; 406: 78-81.
- 16) Kawahara Y, Ito K, Sun H, et al. Low editing efficiency of GluR2 mRNA is associated with a low relative abundance of ADAR2 mRNA in white matter of normal human brain. *Eur J Neurosci.* 2003; 18: 23-33.
- 17) Kawahara Y, Ito K, Ito M, et al. Novel splice variants of human ADAR2 mRNA: skipping of the exon encoding the dsRNA-binding domains, and multiple C-terminal splice sites. *Gene.* 2005; 363: 193-201.

多かつたが、最近では高齢者
する移植も積極的にに行われ、
ドナーや非血縁の骨髄バンク
の前処置で臍帯血移植を行う。し
かし、生着率の低さと移植関連合
併症の多さが大きな課題とされて
いる。

さらに、骨髄バンクドナーでは
調整に時間(数カ月〜半年)がか
かるが、臍帯血はすぐ入手できる
ため、病状の安定が得られ難い症
例で施行される傾向が強い。しか
し、先述の通り移植片対腫瘍効果
はあっても弱いため、再発を阻止
することは困難であることが多い。
現実的には他に方法がない場
合、骨髄非破壊的前処置で臍帯血
移植をやむを得ず選択することに
なる。

臍帯血移植は基本的に他の造血
幹細胞移植と遜色のない成績が期
待でき、その入手の容易さから今
後も増え続けることは間違いない
が、長所と欠点をわきまえて選択
することが肝要である。

◆◆◆ 回 答 ◆◆◆

北海道大学大学院医学研究科
血液内科学教授

今村雅寛

家族性ALSの特徴



家族性ALSの特徴
(散発例との比較)に
ついて。また、研究の
現状と今後の将来展望、文献など
も併せて。

(兵庫県 N)



筋萎縮性側索硬化症
(ALS)は、上位・下
位運動ニューロンが選
択的に変性脱落する神経変性疾患
であり、病因が未解明のため、こ
の病名は病因の異なる複数の疾患
を包括している。孤発性のものが
90%以上を占めており、中年以降
の発症(平均56歳)で、男性にや
や多く(2倍以下)、有病率は低い
(3〜8/10万人)が、罹病期間
は短い(平均2〜3年)ので、発
症率は意外と高く(パーキンソン
病の5分の1〜3分の1)、世間
で考えられているほど稀な病気
ではない。

上位運動ニューロン微候(病的
反射、痙縮、腱反射亢進)および
下位運動ニューロン微候(線維束
性痙縮、筋萎縮、筋力低下)が、
身体部位2カ所以上に共存するこ
とで診断するが、特異的マーカー
がないので除外診断による。
運動ニューロンを侵す病態が家
族性に発症する(ALS全体の10
%以下)ことがあり、総称して家
族性ALSと呼び、責任遺伝子と
して5遺伝子以上、責任遺伝子座
として10座以上がこれまでに同定
されている。ただし、家族性ALS
という病名はついているものの、
孤発性ALSの臨床像とは類似性
の低いものも含まれる。
このうち本邦では、頻度から、
Cu/Zn superoxide dismutase
(SOD1)遺伝子の点変異により常
染色体優性遺伝をするALS1(1)
と、紀伊半島に多い紀伊ALS2)
が注目に値する。
SOD1は脱酸化ストレス反応
に関与する酵素であり、ALS1
に関連する点変異部位は100カ
所以上が知られているものの、変
異SOD1の酵素活性は保たれて
いるので、ALS1の発症機構は
SOD1分子の脱酸化ストレス作
用以外の機構(未解明、dominant
negative function?)によると考
えられている。点変異の部位によ
っては、発症年齢(20歳未満の若
年発症がある)、経過の速さ(1年

以内のもの)と10年以上のものがあ
る)、臨床像の特徴(下位運動ニュー
ロン障害のみのもの、球麻痺症
状で発症するもの、他覚的感覚障
害が明らかなもの)に影響するこ
となどが知られている。点変異部
位は欧米と本邦では頻度に相違が
あり、例えば、欧米で多く急速な
経過をとるAla4 Val変異は本邦
では稀で、地域による変異部位の
ばらつきが大きい。孤発例と区別
し難い臨床像を持つものも少なく
ない。

紀伊半島の家族性ALSは、パ
ーキンソンニズムや痴呆を合併する
こと、同一家系にALSのみ、パ
ーキンソンニズムのみ、これらと痴
呆の合併と、多彩な臨床像がみら
れること、グアム島にも同様の疾
患が集積することより、西太平洋
ALS/Parkinson/痴呆complex
と呼ばれている。環境因子説と遺
伝説があり、研究の進展により、
SOD1遺伝子には異常がないこ
とが確かめられている。約半数に
家系内発症が認められ、発症年齢
は48〜68歳、平均罹病期間4年、
上位下位運動ニューロン症状を呈
することなど、孤発性ALSの臨
床像に似る。

孤発性ALSでは、家族性ALSの責任遺伝子に変異は見出されておらず、家族性ALSで従来明らかにならなれずの病因遺伝子も、孤発性ALSの病因に関与していないことが明らかにされている。

さらに、孤発性ALSでは、運動ニューロンに発現するAMPA受容体(グルタミン酸受容体サブタイプ)のサブユニットであるGluR2に、本来生ずべきRNA editingが起らないこと、この分子変化が神経細胞死の直接原因であることが明らかにされた³⁾。GluR2のRNA editingが起らないとAMPA受容体のCa²⁺透過性が亢進し、細胞内Ca²⁺濃度の上昇を通じて神経細胞死を引き起こす。この分子変化は、家族性ALS(ALS1)の運動ニューロンには生じておらず⁴⁾、また孤発性ALSの運動ニューロンに疾患特異的・部位選択的に起きているので、ALSの病因である可能性が高い⁵⁾。ただし、ALS1の運動ニューロンにおいてもAMPA受容体のCa²⁺透過性が亢進しているが、その分子メカニズムは、AMPA受容体のCa²⁺透過性を規定する

GluR2をサブユニットに含まないAMPA受容体の割合が増加することによることが明らかにされ、AMPA受容体を介した神経細胞死には複数のカスケードが存在する⁶⁾。したがって、運動ニューロン死を特徴とする疾患においても、その分子メカニズムは異なることが明らかになりつつある。

孤発性ALSの神経細胞死に直接関連する活性分子が突き止められたことで、治療開発の標的が絞られた。さらに、孤発性ALSの特異的治療薬の開発を進めるためには、現在頻用されている変異SOD1トランスジェニック動物ではなく、神経細胞死の分子機構がより近い動物モデルの開発が望まれる。

参考文献

- 1) Rosen DR, et al: Nature 362: 59, 1993.
- 2) Kuzuhara S, et al: Ann Neurol 49: 501, 2001.
- 3) Kawahara Y, et al: Nature 427: 801, 2004
- 4) Kawahara Y, et al: Neurosci Res 54: 11, 2006.
- 5) Kwak S, et al: J Mol Med 83: 110, 2005.
- 6) Kwak S, et al: Curr Opin Neurobiol 16: 281, 2006.

◆◆◆ 回 答 ◆◆◆
東京大学大学院医学系研究科
神経内科学助教授

郭 伸

父親がHBキャリアの 出生児への対応

Q

HBVキャリアの配偶者を持つ女性の出生後その他の予防措置の必要はあるか。

(1) キャリアの夫の妻がHBs抗原陰性の場合。

(2) キャリアの夫の肝機能は正常範囲(時々GPT 60〜80に上昇)であるが、HBV-DNA/TMA 8・4 LGE/mlとウイルス量が多い。妻はHBs抗原陰性で、8月に出生予定。

また、予防措置の必要があるとするれば、ワクチンその他の出生児に対する副作用などについて。

(東京都 J)

%以上に一過性感染が成立すると報告されている。最近、問題となつてくる欧米型B型肝炎を除き、成人例でのHBV水平感染の場合に持続感染が成立することはきわめて稀である。

キャリアの夫の妻がHBs抗原陰性であることは容易に想像できるも、本例で確認すべき点は、キャリアの妻がHBs抗体ないしHBs抗体陽性か否かという点である。

キャリアの夫の妻がHBs抗体およびHBs抗体ともに陰性の場合には一過性感染が成立してないと判断され、今後、感染が成立する可能性がある。妊娠中の母体に対するHBVワクチンの投与は、児に対する安全性が確立していないことから、出産後に行うべきである。

一方、キャリアの夫の妻がHBs抗体およびHBs抗体いずれか陽性の場合には、すでに一過性感染が成立したと判断され、今後B型肝炎に再感染することはなく無処置で経過をみてよい。

出生する児に対するHBV感染リスク、予防処置に関しては、キャリアの夫の妻のHBs抗体の状態、考え方と対応が異なる。キャリアの夫の妻がHBs抗体陽性の場合には、

A

一般的に、HBs抗原陽性のキャリアの配偶者は、結婚5年以内に90

経皮的前庭電気ノイズ刺激は有効か？

—パーキンソン病、多系統萎縮症に対する検討例の報告—

東京大学大学院教育学研究科
東京大学大学院医学系研究科

相馬 りか
山本 義春
郭 伸

パーキンソン病（以下PD）や多系統萎縮症（以下MSA）の疾患部位は脳の表面ではなく奥深くに分布しているため、表面電極から刺激するのは困難である。本稿で紹介する「経皮的前庭電気ノイズ刺激法」は、頭部に貼付した電極からごく弱い、ランダム強度の電流を通電するもので、直接PDやMSAの疾患部位を刺激するのではなく、疾患部位への接続があり表面電極から刺激可能な「前庭神経」を刺激することによって、間接的に疾患部位を刺激しようというものである。

実際にこの手法をMSAおよびPD患者に適用した結果、わずかではあるが有意な症状の改善がみられた。表面電極から前庭神経を刺激する手法自体は、平衡感覚機能の研究や検査に用いられる一般的な手法であるが、これを神経疾患の症状改善を目的として使用し、効果が得られたという報告は我々の研究が世界初である。しかし、まだ症例数が16と非常に少なく、この手法を治療法として普及させるのは現時点では時期尚早といえるが、本稿では我々の臨床研究例を紹介したのち、動作原理について解説し、最後に臨床研究に至るきっかけとなった基礎的な研究を紹介する。

経皮的前庭電気ノイズ刺激法の実際

1) 方法

前庭器は内耳にあって姿勢の変化や全身の加速をモニターする平衡感覚器官である。そこから発する前庭神経は耳介後部の乳様突起に貼付した電極に電流を通じると刺激される。通常、脳内の神経を表面電極から刺激するのは非常に困難だが、この部位から



の通電は例外的に可能で、個人差もあるが1mA以内の電流で前庭感覚すなわち身体動揺感が得られる。そこで、この手法による電気刺激の効果を明らかにするため、当大学附属病院に入院中のMSAおよびPD患者の協力を得て連続する2日のうち1日を24時間連続電気刺激、もう1日を刺激なしとして心拍数と体幹の加速度および認知能力を比較した。

入院中の通常の活動（食事、リハビリなど）には支障をきたさないよう、手のひら程度の大きさの刺激装置と心拍数/体動計測・記録器を使用し、腰に巻いたポケット付のベルトに収納して常時携帯してもらった。電流の波形は、強度と方向（+/-）が1秒間に数回ランダムに入れ替わるノイズ状とし、最大強度でも本人にはわからない強度とした。

通電感覚がないために偽薬効果を考慮する必要がないほか、通電強度が大きい場合に生じるめまいの心配もない。したがって、通電しない日にも通電する日と同様に通電用の電極を貼付した上で刺激装置一式を携帯してもらい、さらに患者本人には本当の刺激開始時刻は知らせないこととした。検査の2日間はなるべく同じ活動パターンになるよう心がけてもらい、服薬内容も一定とした。認知能力テストにはコンピュータを内蔵した腕時計型の装置を用い、2秒ごとに次々と液晶画面に表示される図形の形に応じた操作（ボタンをできるだけ速く押す/ボタンを押さない）を90秒間繰り返すという課題を一日数

回行った。測定にあたっては、倫理委員会の承諾を得たのち、患者に十分な説明の上、書面による同意を得た。

2) 結果

得られたデータのうち、自律神経系への効果は心拍数の変動性から評価した。ただし心拍数は、記録中さまざまな理由により増減する。睡眠中は低くリハビリや散歩などの活動中は高い。検査中の2日間の行動は完全には一致するわけではないので、前庭電気ノイズ刺激の影響を比較するために、DFA法と呼ばれる手法を用いて、行動状態に依存しない心拍数のゆらぎの大きさを、変動のスピードごとに評価した。その結果、前庭電気ノイズ刺激によって、心拍数の「速やかな」変化の大きさが増加した(図1)(Yamamoto, 2005)。

効果のあった変化スピードでの心拍数の増減は主に迷走神経系の活動に依存することが知られており、

前庭電気ノイズ刺激による迷走神経活動の亢進が示唆された。

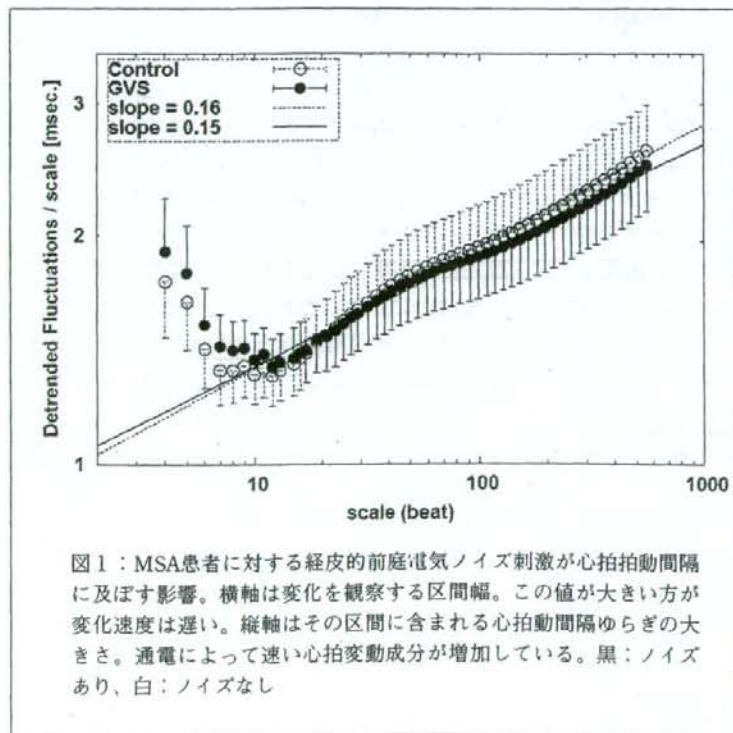


図1：MSA患者に対する経皮的な前庭電気ノイズ刺激が心拍動間隔に及ぼす影響。横軸は変化を観察する区間幅。この値が大きい方が変化速度は遅い。縦軸はその区間に含まれる心拍動間隔ゆらぎの大きさ。通電によって速い心拍変動成分が増加している。黒：ノイズあり、白：ノイズなし

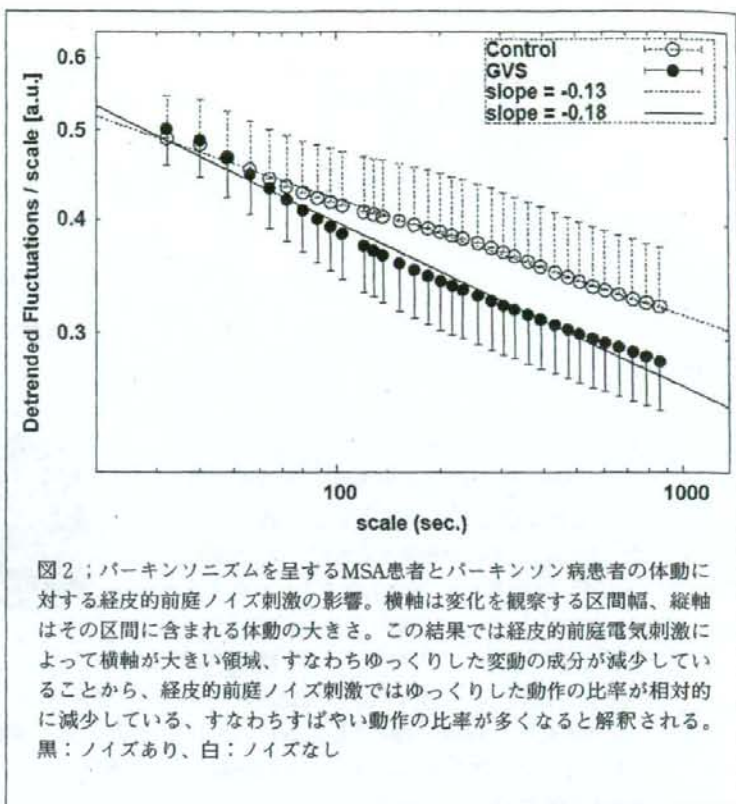


図2：パーキンソニズムを呈するMSA患者とパーキンソン病患者の体動に対する経皮的な前庭電気ノイズ刺激の影響。横軸は変化を観察する区間幅、縦軸はその区間に含まれる体動の大きさ。この結果では経皮的な前庭電気ノイズ刺激によって横軸が大きい領域、すなわちゆっくりした変動の成分が減少していることから、経皮的な前庭電気ノイズ刺激ではゆっくりした動作の比率が相対的に減少している、すなわちすばやい動作の比率が多くなると解釈される。黒：ノイズあり、白：ノイズなし

一方、PD患者およびパーキンソニズムを呈するMSA患者の動作については、前庭電気ノイズ刺激によって動作の休止・活動の切り替えが全体的にすばやくなることが示され(図2)、アキネジアが改善される可能性が示唆された(Yamamoto, 2005)。認知能力テストでは、図形が表示されてからボタンを押すまでにかかる時間が有意に短縮した。

経皮的な前庭電気ノイズ刺激法の動作原理

このように、経皮的な前庭電気ノイズ刺激法はMSAおよびPDの症状軽減に有効であることが示された。しかも、この研究では通電されていること自体を本人が意識できないため、研究結果の解釈上偽薬効果を全

く考慮する必要がないだけでなく、臨床的にも電気刺激の不快感なく効果が得られるということになる。

通常、神経に対して電気刺激を行い、なんらかの効果をしようとする場合、電流・電圧が高い方が神経を強く刺激し効果も大きいと考えがちであるが、本研究の動作原理では電流が大きいからといって必ずしも効果が增大するというわけではない。そこで、次にこの手法の動作原理について解説し、臨床研究を開始するに至った健康者を対象とした基礎研究について紹介する。

1) 確率共振

この手法は電気刺激の波形にその特徴がある。通常、電気刺激による治療法では規則的な波形や連続するパルス波で刺激するのが一般的である。しかし本研究では図3に図示するような、強度・方向がともにランダムに変化するノイズ電流を使用した。それはこの手法が「確率共振」という物理現象を応用したものである。

この現象はさまざまな生物の感覚器官で観察されている現象で、一例として視界の利かない濁った川に棲息するヘラチョウザメで観察される例を紹介する。この魚(図4)は餌となるミジンコを目で見探すのではなく、ミジンコから発生するごく微弱な電気信号を感知することによって探す。つまりこの魚は周囲の電場をモニタすることができる。したがって、この魚を水槽に入れ、図4のように2枚の電極を魚の前後に配置して電場を加えると、ミジンコが発生する電気信号と同様、加えられた電場の強弱を認識することができる。水槽内の電場の強さや方向をでたために変え、周囲の電場を攪乱させると、仮に水槽内にミジンコが入っていても、この魚はミジンコからの電気信号を認識できなくなってしまうであろう、と常識的には考えられる。ところが実際にやってみるとそうではない。加える電場の強さによっては、ある程度周囲の電場が攪乱されていたほうがミジンコは見つかりやすいのである(Russell, 1999)。もちろん、電場の強さが強すぎる場合には、でたためなノイズに信号が埋もれた状態となりミジンコを見つけれなくなってしまうが、ある程度の強さのノイズが存在していた方がこの魚はミジンコをみつけやすいのである。

これはヘラチョウザメ特有の性質というわけでは

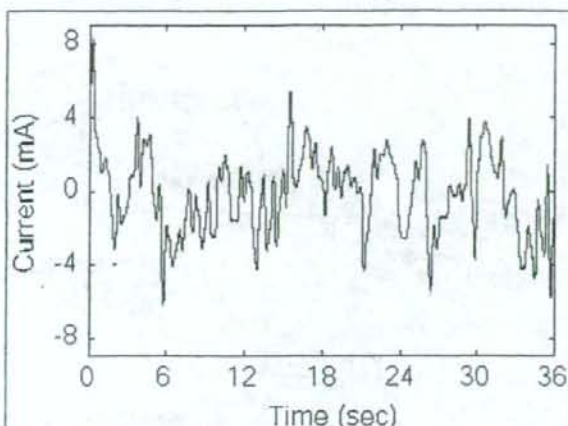


図3: 通電した電流の波形の例。通電方向、強度がランダムに変化するノイズ状の電流で刺激した。

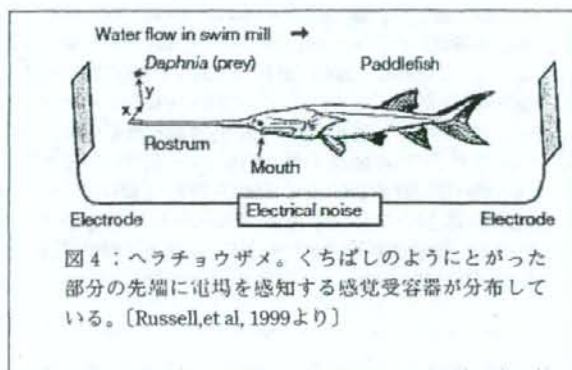


図4: ヘラチョウザメ。くちばしのようにとがった部分の先端に電場を感知する感覚受容器が分布している。[Russell, et al, 1999より]

ない。この適度な強度のノイズの存在が微弱な信号の検出に役立つという現象が「確率共振(確率共鳴)」と呼ばれている非線形システム特有の物理現象で、20年以上前から理論的考察や電気回路での検討が行われている。非線形システムとは、入力信号に対する応答、すなわち出力が入力信号の大きさに比例しないシステムのことである。ヘラチョウザメの受容器に限らず、動物の神経自体の入力と出力の関係が非線形であるため、さまざまな動物種の脳や感覚受容器で確率共振を実際に起こせることが近年次々と実験的に示されてきた。

本研究ではMSAの心拍変動に効果がみられたが、心拍数の調節システムも非線形の要素を含む。そこで次にヒトの起立時に生じる循環系の応答について簡単に紹介する。

2) 起立時循環応答

脳は常時酸素を必要とするため、いかなる場合で

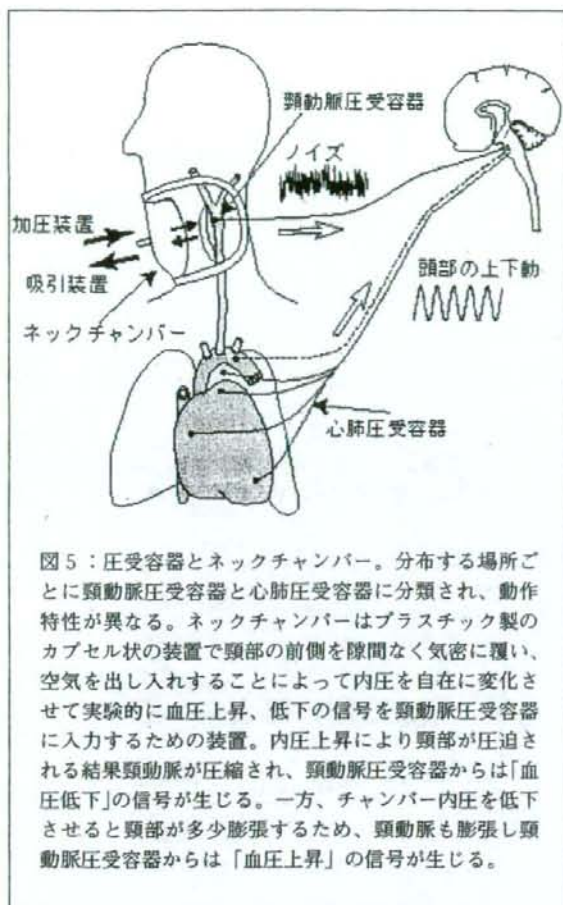


図5：圧受容器とネックチャンパー。分布する場所ごとに頸動脈圧受容器と心肺圧受容器に分類され、動作特性が異なる。ネックチャンパーはプラスチック製のカプセル状の装置で頸部の前側を隙間なく気密に覆い、空気を出し入れすることによって内圧を自在に変化させて実験的に血圧上昇、低下の信号を頸動脈圧受容器に入力するための装置。内圧上昇により頸部が圧迫される結果頸動脈が圧縮され、頸動脈圧受容器からは「血圧低下」の信号が生じる。一方、チャンパー内圧を低下させると頸部が多少膨張するため、頸動脈も膨張し頸動脈圧受容器からは「血圧上昇」の信号が生じる。

も血流は維持されなければならない。しかし起立時には重力の影響で血液が身体下方へ集まる結果、脳への血流配分が不足しがちである。本当に不足してしまうと立ちくらみや失神が起こる。これを防ぐため、ヒトでは頸動脈や大動脈などに圧受容器と呼ばれる感覚受容器が分布しており、血圧を常時モニタしている（図5）。

血液が身体下方に集まり圧受容器が分布している部位での血圧が低下すると、その情報は脳へ伝達され、その結果、脚など末梢に分布する血管を収縮させて血液を上半身へ押し戻し、心拍数を増加させてより多くの血液を送れとの指令が出される。この一連の反応は「圧反射」と呼ばれ、脳血流の維持にかかわる重要な自律神経系反応である。また、詳しく言うと圧受容器にも動作特性の異なるものがあり、心臓や肺に分布し主として静脈の血圧をモニタする心肺圧受容器と、（頸）動脈に分布する（頸）動脈圧受容器があり、このうち心肺圧受容器の血圧変化に対する応答は非線形である。そこでわれわれはま

ず、この心肺圧受容器による圧反射の感受性がノイズによって高められるかを検討した。

3) 健常者に対する頸動脈圧受容器の加・減圧ノイズ刺激が心肺圧反射に及ぼす影響

コンピュータ制御でシーソーのように動く台を用意し、その上で仰向けに寝た被験者に対し、水平から約10度程度頭部が上がるまでの範囲で、台を約40秒周期で40分間繰り返し上下させた。この状態では頭部が上下するたびに血液が下半身から上半身へ移動する。すると心肺圧受容器が繰り返し刺激される結果、心肺圧受容器による圧反射が繰り返し生じ、頭部の上下動の周期で心拍数が増減すると考えられる。ただし通常は、10度程度の上下動では、健常者でもこの反射はほとんど観察されない。そこで、確率共振が生じるとすれば、通常は観察できない上下動周期での心拍数の変動が、ノイズ印加によって明確に観察されるようになるであろうと考えた。

ノイズは、もう一つの圧受容器である頸動脈圧受容器から加えた。血圧が高いときには血管壁が伸展し、逆に血圧が低いときには血管壁が収縮するため、圧受容器が実際にモニタしているのは血圧（圧力）ではなく血管の伸展と収縮である。そこで、頸動脈を外側から伸展・収縮させることのできるネックチャンパーという装置を用いた。この装置では、図5のように頸動脈付近をプラスチックのカプセルで隙間なく覆い、加圧装置と減圧装置でカプセル内の圧力を自在に調節できる。そこでこのチャンパー内圧をでたらめに増減し加・減圧ノイズとした。当初はどの程度の強度の加・減圧ノイズが適切であるかは不明であったので、上下動が繰り返される40分間に、加・減圧ノイズの強度を徐々に高めた。

その結果、加・減圧ノイズの標準偏差が±5mmHg～±10mmHg程度を境に、圧反射の感受性が増大したのち低下した（Hidaka, 2000）。つまり、頸動脈圧受容器から適度な強度の加・減圧ノイズを加えることによって、心肺圧受容器による圧反射の感受性が向上したのである。この例では、微小な重力負荷による健常成人の心肺圧反射の感受性が、頸動脈圧受容器に加えた適度な強度のノイズによって向上した。

MSAなどの神経変性疾患では神経回路の反応性自体が低下しているため、通常の負荷に対する神経

応答性をノイズによって向上させることができるかも知れないと我々は考えた。しかしながらネックチャンパー装置は、圧力調節のための加圧・減圧装置を小型化できないので携帯可能でなく、臨床的な応用性が大きく制限される。そこで頸動脈圧受容器以外の部位から圧反射の回路内にノイズを加える方法を検討し、経皮的前庭電気刺激法をまず健常者に対して試みた。

4) 経皮的な前庭電気ノイズ刺激が圧反射に及ぼす影響の検討

頸動脈圧受容器からの信号は、脳幹の孤束核という神経核へ伝達されることが知られている。孤束核は圧受容器だけでなくさまざまな臓器からの信号を受け取る部位として知られており、内耳の前庭からも神経接続があることが知られている。そこで我々は経皮的に前庭を電気刺激すれば孤束核にノイズが入り、その結果圧反射の感受性が向上する可能性があると考え、まず健常者を対象として前節で紹介した上下動を負荷する検査中に頸動脈圧受容器の代わりに前庭神経から電氣的ノイズを加え、その効果を検討した。

その結果、図6に示すとおり、ノイズ強度の増加に伴い圧反射応答はいったん向上したのち低下した(Soma, 2003)。つまり前庭神経から電氣的にノイズを加えても、頸動脈圧受容器への加・減圧ノイズと同様、確率共振によって圧反射の応答を向上させることができた。この結果から、経皮的な前庭電気ノイズ刺激は神経変性疾患の症状に対しても、なんらかの影響を及ぼすのではないかとわれわれは考え、臨床的な検討にいたったのである。

おわりに

このように経皮的な前庭電気ノイズ刺激法は健常者を対象とした起立時循環系応答に関する基礎研究からスタートし、のちに起立時低血圧のみられるMSA患者を対象とした検討を経て、対象をPD患者へも広げた。これは、前庭からはPD疾患部位である大脳基底核へも接続があると考えられているからである。その結果、この手法はPD、MSAともに有効であるという結果を得た。しかし「有効」といってもそれはデータを詳細に解析した上の結果であって、実際研究に協力してくれた患者本人には通電の効果

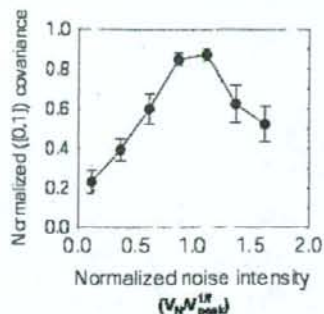


図6：前庭電気ノイズ刺激による圧反射の向上。40分間繰り返し頭部挙上を行い、その間前庭電気ノイズ刺激の強度を漸増させた。横軸は規格化したノイズ電流強度、縦軸は心拍拍動間隔と傾斜角度との共分散で評価した圧反射の応答を被験者ごとに規格化し平均した。

はほとんど意識されなかった。

とはいえこの効果は通常通りの服薬条件、すなわちあらかじめ薬によって症状が軽減された状態で得られたものであることから、今後、薬理的治療との関連についても検討する必要があると思う。文頭でも述べたとおりこの手法が確たる治療法となり得るまでには、より多くの症例についての検討が不可欠であるだけでなく、長時間連続刺激の影響や刺激停止後の残存効果など検討しなければならない課題は多い。したがって今後、より多彩な症状、治療歴の患者を対象として検討を続け、治療法としての妥当性をひきつづき検討する必要があると思われる。

文献

- 1) Yamamoto, Y., Z. R. Struzik, R. Soma, K. Ohashi, and S. Kwak. Noisy vestibular stimulation improves autonomic and motor responsiveness in central neuro-degenerative disorders. *Annals of Neurology* 58: 175-181, 2005.
- 2) Russell, D. F., L. A. Wilkens, and F. Moss. Use of behavioural stochastic resonance by paddle fish for feeding. *Nature* 402: 291-294, 1999.
- 3) Hidaka, I., D. Nozaki, Y. Yamamoto. Functional stochastic resonance in the human brain: Noise induced sensitization of baroreflex system. *Phys. Rev. Lett.* 85: 3740-3743, 2000.
- 4) Soma, R., D. Nozaki, S. Kwak, and Y. Yamamoto. 1/f noise outperforms white noise in sensitizing baroreflex function in the human brain. *Physical Review Letters* 91: 078101-1-4, 2003.



孤発性ALS

皆様ご存じのように筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: 以下、ALS) は原因不明で治療方法に乏しい難病ですが、その治療に一日でも早く近づけるように私たちのグループは日々努力をしております。現時点での成果を2006年7月28日に行われたALS班会議ワークショップ「ALSの克服に向けて」において「孤発性ALSの病因」として疾患概念として発表した内容からご紹介致します。

ALSは1870年代にJean-Martin Charcotという当時一流の神経学者により病気が世間に紹介されてから約130年となりますが、今なお原因不明で治療方法の乏しい難病で多くは中年以降に、手足に力が入らないといった四肢の症状、飲み込みにくい、喋りづらいう球症状で気づかれます。手足の運動をつかさどる脊髄の運動ニューロンだけがある時期から何故突然死ぬのか、という原因は依然として分かっていません。ALSの発症率は人口10万人に当たり年間0.5～3人程度、有病率は2～8人程度で90%以上が遺伝性を持たない孤発性と言われるものです。患者さんは手足が動かせず、自力での呼吸が難しくなっても意識、知能は正常で、日常生活動作に介助が必須となるため、患者本人のみならず介助者の物心面での負担は大きく、治療法の早期開発が切望される疾患のひとつです。

私たちのグループは近年、孤発性ALSの原因としてこの病気の脊髄運動ニューロンだけに起こっている変化を分子レベルで明らかにしました。専門的な話になるのですが、ニューロンは電気的な活動によりニューロンからニューロンへと情報を伝達します。ニューロンの電気的活動を調節しているものが神経細胞の表面にあるチャネルです。その1つにグルタミン酸受容体であるAMPA (α -3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) 受容体というチャネルがあり、細胞内外のナトリウムイオンの濃

孤発性ALSの病因

東京大学大学院医学系研究科
脳神経医学専攻 神経内科学

ひでやまたくと
日出山拓人
かく
郭 しん
伸



度を調整することで細胞膜の興奮性の調節をしています。ナトリウムイオン以外にイオンチャネルを通じて細胞内外を行き来しているイオンにはカルシウムイオン (以下 Ca^{2+}) があります。通常、 Ca^{2+} は細胞内に比べて細胞外にはるかに多く存在します。 Ca^{2+} は適切な量以上細胞内に入るとその細胞は死んでしまいます。AMPA受容体は通常の哺乳類のニューロンでは Ca^{2+} を通しません、孤発性ALSの脊髄では Ca^{2+} を通してしまふ分子変化が起こっていました。この発見は、ALSへの治療の道を切り拓く可能性を大いに期待させるものと考えています。

ALSにおける興奮性神経細胞死とAMPA受容体

孤発性ALSの原因の仮説としては、グルタミン酸受容体サブタイプであるAMPA受容体を介した興奮性神経細胞死仮説が最有力で、支持する知見が積み重ねられてきました。脳から手足を動かすという指令を伝える錐体路はグルタミン酸を神経伝達物質として用いていて、脊髄運動ニューロンもこの興奮性入力を豊富に受けています。グルタミン酸を受け取るのはグルタミン酸受容体であり、運動ニューロンはグルタミン酸受容体を沢山持っており、運動ニューロンの興奮を伝達します。ところが、グルタミン酸による指令過剰により興奮が多くなりすぎると細胞内環境の変化を補償する機能の限界を越えてしまい、元に戻す機構が破綻し、細胞死へと進む、というのが興奮性神経細胞死のメカニズムです。興奮性神経細胞死は主に脳梗塞のときの虚血や低血糖、外傷、てんかん重積などの急性の神経細胞死に働くと考えられていました。一方で近年、変性疾患と言われる年単位でゆっくり進む、原因未解明の病気の神経細胞死にも関わっていることが注目されるようになってきました。動物実験レベルでも急性には神経細胞死を引き起こさない濃度でも受容体が長期

間持続的に興奮することで遅発性のゆっくりとした神経細胞死が起こることが次々と明らかにされ、慢性に進行する神経変性疾患の中でも特にALSでグルタミン酸受容体を介した経路が関与している可能性が注目されるようになりました。

グルタミン酸受容体

グルタミン酸受容体の仲間にはいろいろあり、大きくはその特性から種々のイオンの透過に関わるイオンチャンネル型と細胞内シグナル伝達に関わる代謝調節型に分けられます。そしてイオンチャンネル型は更にNMDA受容体、カニン酸受容体、AMPA受容体に分けられます。

NMDA受容体が急性の神経細胞死に関与するのに対して、特に速いシナプス伝達に関わるAMPA受容体は、ニューロンの遅発性の細胞死に関わっており、運動ニューロンは、特に後者が関与する興奮性細胞死に弱いことが知られています。その分子メカニズムとして細胞死に先立つ過剰なCa²⁺流入による細胞内Ca²⁺濃度の持続的上昇が培養ニューロンで明らかにされ、それに引き続いて細胞の生命維持に必要な機構の障害（例えばミトコンドリア障害）が段階的に起こることにより細胞死を引き起こすことが様々な実験系により明らかにされました。

AMPA受容体について

それでは、AMPA受容体がどのような構造をしているか説明します。AMPA受容体は、4種のサブユニット（GluR1-GluR4）の単独または様々な組み合わせからなる四量体（4つのサブユニット構成の分子）です（図1a）。各サブユニットは共通構造を持っており、相互に約70%のアミノ酸配列の相同性といって同じような配列を持ち、細胞外のN端（ニトロ基 [N₂] 側の末端）、4つの膜ドメイン（M1～M4）とそれらをつなぐリンカー、細胞内のC端（カルボキシ基側の末端）からなります。

AMPA受容体のCa²⁺透過性を決める因子には、いろいろなものがあります。分かっていることとしてAMPA受容体の4つのサブユニットにGluR2サブユニットが含まれるかどうか、GluR2サブユニットがRNA編集（特にQ/R部位）を受けているかどうか、などが挙げられます。

まず、サブユニットの中で、チャンネルがCa²⁺を通すかどうかを決めているのはGluR2です。AMPA受容体を構成する4つのサブユニットのうちGluR2を含む受容体は、Ca²⁺透過性が低いのですが、GluR1, 3, 4のサブユニットだけで構成された受容体は、高いCa²⁺透過性を示します（図1b）。つまりAMPA受容体がCa²⁺を通すかどうかを決めているのは、GluR2があるかどうかによって決定されています。実際、ラット小脳プルキニエ細胞や海馬錐体細胞などでは、他のサブユニットに比べGluR2が多く発現しており、その結果、AMPA型受容体はCa²⁺を通しにくく、海馬のバスケット細胞、新皮質の非錐体細胞、小脳のBergmannグリア細胞のようにGluR2サブユニットがほとんど発現していないような細胞では、Ca²⁺が通りやすいことが分かっています。

第二にAMPA受容体の各サブユニットの第2膜ドメイン（M2）にはQ/R部位と呼ばれる部位があり、同部位はGluR2以外ではグルタミン（アミノ酸は略語で示されますが、グルタミンはQというアルファベットで表します）であるのに対して、GluR2だけはアルギニン（R）です（図1a）。しかしGluR2の遺伝子を調べてみるとこの部位はQをコードしています。すなわち遺伝子に書かれた情報が書き換えられたタンパクが発現しているのです。

その理由はDNAからRNAへ転写される際にmRNAの1個のアデノシン（A）がイノシン（I）へ置換されることにより、そのmRNAがコードしているアミノ酸が置換（CAG→CIG）されるためです。この機構は、RNA編集と呼ばれ、adenosine deaminase acting on RNA type 2（以下ADAR2）と呼ばれる編集酵素により、アデノシン（A）はイノシン（I）へと置換され、リボソームでIはグアノシン（G）と同等であると見なされるため、CIGはCGGと見なされRとして翻訳されます。

通常、タンパク質が出来るときは、DNAからmRNAに転写され、そのmRNAの配列をリボソームが読み、3塩基ずつに対応したアミノ酸が作られ、いくつか集まりタンパク質になります。つまり、DNAの配列が決まっていれば出来上がるアミノ酸は決まっています、DNAの配列が分かれば出来上がるアミノ酸が予測出来ます。このように遺伝情報は正確に転写されなければ生死に関わるような重大な障害を来す可能性があります。遺伝子からmRNAが形成される過程で、遺伝情報が書き換え

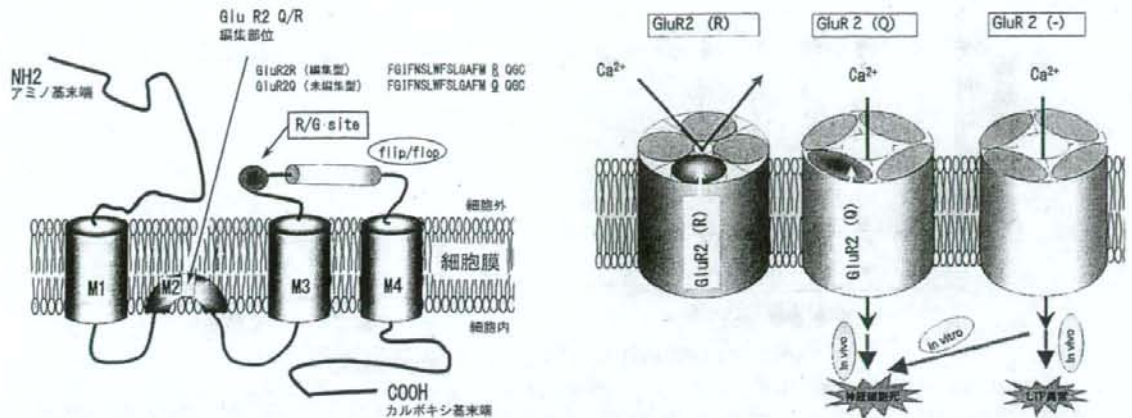


図1a AMPA受容体の構造

AMPA受容体は4種類のサブユニットGluR1～GluR4による4量体からなります。M1, M3, M4は膜貫通部分で各サブユニットにはそれぞれ選択的スプライシングにより異なるアミノ酸配列をもったflip型とflop型という2つの変異種があり、受容体はこれらのサブユニットの組み合わせからなる4量体であると考えられています。GluR2～4にはR/G部位があり、RNA編集によりアルギニン(R)からグリシン(G)へ置換します。この部位は受容体脱感作を修飾すると考えられています。更にGluR2の多様性が生じるメカニズムとしてQ/R編集部位があり、翻訳過程でCAGまたはCAA(グルタミン(Q))がCGGまたはCGA(アルギニン(R))になります。そのため、サブユニットの組み合わせからは機能的にも多様性がもたらされると推測されています。

図1b Ca²⁺に対する透過性とサブユニットGluR2の関係

GluR2によりCa²⁺透過性が変化します。GluR2(R)がサブユニットに入っているとCa²⁺を通さないのですが、入っていないAMPA受容体はCa²⁺を通します。未編集型GluR2(Q)が入っていてもやはりCa²⁺透過性になります。

られることがあります。これをRNA editing (RNA編集)と呼びます。RNA編集は、GluR2 Q/R部位以外にもカイン酸受容体サブユニットであるGluR5, GluR6のQ/R部位やGluR2, GluR3, GluR4サブユニットのR/G(グリシン/アルギニン)部位(図1a)など様々なRNAのそれも複数の部位で生じており、その効率は様々です。中でも、GluR2のQ/R部位は、胎生期から成熟期に至るまでほぼ100%編集されているという点で他の編集部位と異なり、これほど高い編集率を示す部位は、今のところ他には見付かっていません。Q/R部位がCa²⁺を通すかどうか重要なのは、この部位がチャネル孔に面しており、陽電化のRがCa²⁺を弾くのに対して電気的に中性のQではこの作用が弱いためであると考えられています。

AMPA受容体サブユニット発現とALSの運動ニューロン死

いよいよ本題に入りますが、これらの結果を踏まえ、神経細胞死に関連する分子変化であるGluR2の減少(Ca²⁺を通すAMPA受容体の割合の増加)ない

しGluR2 Q/R部位の編集率低下(Ca²⁺を通すAMPA受容体の実質的増加)が生じているのかどうかをALSの運動ニューロンで検討することにしました。

郭らはlaser microdissectorを用いて薄くスライスした凍結剖検組織からレーザービームによりニューロン1つのみを切り出しました。この1つのニューロンからRNAを取り出し、RT-PCR法によりGluR2 mRNA由来のcDNAを増幅し、AMPA受容体各サブユニットmRNAを定量する方法及びGluR2 Q/R部位RNA編集率を定量する方法を確立しました。

そして、孤発性ALS脊髄運動ニューロンの単一神経細胞レベルで、GluR2 mRNA発現量に有意な減少が無いこと、及びALS脊髄前角組織レベルで、部位選択的・疾患特異的にGluR2 Q/R部位の編集率が低下していることを発見しました。図2に示すように、正常対照群の運動ニューロンでは、全例GluR2 Q/R部位は100%RNA編集されていましたが、ALS群では0～100%とばらつき、平均値は38～75%と低下していました。ALS群における小脳プルキンエ細胞の編集率は、正常対照群と同様にほぼ100%に保たれていました。また、他の神経変性疾患の同細胞を検索しましたが、編集率は正常対照と同様のレベ