

図2 単一神経細胞におけるGluR2 Q/R部位RNA編集率

私たちが2004年にNature誌の発表した論文からの改題引用です。各点 (大きな点は5細胞, 小さな点は1細胞) は, ALS群5例 (A1-A5), コントロール群5例 (C1-C5)の単一脊髄運動ニューロンにおけるGluR2 Q/R部位のRNA編集率と, ALS群2例 (A2, A5), 多系統萎縮症 (MSA)群2例 (M1, M2), Dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA)群2例 (D1, D2), コントロール群2例 (C1, C2)の単一小脳プルキンエ細胞の編集率を表しています。平均値±標準誤差と解析した細胞数 (n)も示してあります。運動ニューロンにおける正常コントロール76個の内訳は, C1; 28, C2; 12, C3; 13, C4; 12, C5; 11です。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において, 例外なく編集率は100%でしたが, ALS群では, 解析した5ケースすべてにおいて, 編集率は0%から100%まで大きくばらつき, 正常コントロール群と比較し, 有意に低下しておりました (Mann-Whitney U test,  $p < 0.001$ )。一方, 小脳プルキンエ細胞における編集率については, ALS群, MSA群, DRPLA群とコントロール群の間には有意差はありません (Mann-Whitney U test,  $p > 0.05$ )。

ルによく保たれていました。さらに孤発性ALS以外の運動ニューロン疾患で同じような分子変化が生じていないことを家族性ALS (ALS1) のモデル動物SOD1トランスジェニックラットの脊髄前角ニューロンで検討しました。その結果、発症したラットの脊髄運動ニューロンのGluR2 Q/R部位の編集率は全て正常ラットと変わらず100%に保たれており、孤発性ALSとは異なりGluR2 Q/R部位の異常が神経細胞死に関わっていないことを明らかにしました。

これは、前述したようにCa<sup>2+</sup>を通すAMPA受容体には未編集型GluR2が増加する場合と編集型GluR2が相対的に減ってしまう場合があり、前者が孤発性ALSに認められる分子変化であり、後者がSOD1トランスジェニックラットの細胞死に関わっていると考えられます。

さらにポリグルタミン病である球脊髄性筋萎縮症の脊髄前角ニューロンで同様の方法によって脊髄運動ニューロンのGluR2 Q/R部位の編集率を検討した結果、検索した運動ニューロン全てで編集率は100%に保たれていました。これは以前検討した同じポリグルタミン病の菌状核イ体淡蒼球萎縮症の小脳プルキンエ細胞における編集率も100%であったことも合わせて考えますとポリグルタミン病と言われる病気とは神経細胞死のメカニズムが違うということも分かりました。

以上の実験結果から、孤発性ALS脊髄運動ニューロンで認められたRNA編集異常は、脊髄の運動ニューロン特異的に起こる細胞選択的かつ他の疾患には見られない孤発性ALSにのみ見られる疾患特異的な分子変化であり、神経細胞死に直接関わっている可能性が高いと考えられます。

したがって、孤発性ALSの治療法としては孤発性ALSに特異的な発症メカニズムを正常化する方法の開発が必須であり、他の運動ニューロン疾患モデルを用いた治療効果判定には限界があることを示しています。このことを踏まえ、私たちは孤発性ALSの動物モデルを開発し、治療判定効果に役立てようと考えています。

#### おわりに

上記のように孤発性ALSの疾患病態と直接関わっていると考えられる分子異常が見つかり、発症メカニズムに基づいた分子標的治療法を確立できる可能性が少しずつ見えてきました。

運動ニューロン選択的に生じているGluR2 Q/R部位のRNA編集異常を回復できれば、ALSの治療へとつながるものと考えられます。検討課題はまだ多いのですが、これらが治療に結びつけられるように努力をしていきたいと考えています。

## ALS と興奮性アミノ酸

## ALS and Excitatory Amino Acid

相澤 仁志<sup>1)</sup> 郭 伸<sup>2)</sup>Hitoshi Aizawa<sup>1)</sup>, Shin Kwak<sup>2)</sup>

## Abstract

AMPA receptor, one of ionotropic glutamate receptors, has been proposed to play a critical role to initiate the neuronal death cascade in motor neuron disease by an increase of  $Ca^{2+}$  influx. There are at least two mechanisms to increase  $Ca^{2+}$  influx through  $Ca^{2+}$ -permeable AMPA receptor: a decrease of RNA editing efficacy at the GluR2 Q/R site and a decrease of GluR2 level relative to AMPA receptor subunits. Deficient RNA editing of the AMPA receptor subunit GluR2 at the Q/R site is a primary cause of neuronal death and recently has been reported to be a tightly linked etiological cause of motor neuron death in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (ALS). On the other hand, relative low GluR2 level among AMPA receptor subunits seems to increase  $Ca^{2+}$  permeability of motor neurons in familial ALS (ALS1) linked to mutated copper-zinc superoxide dismutase gene (SOD1). AMPA receptor-mediated mechanism does not seem to play any role in death of motor neurons in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA). From the molecular pathomechanism of sporadic ALS and ALS1, drugs which increase RNA editing efficacy at the GluR2 Q/R site could be a potent therapy for sporadic ALS, while AMPA receptor antagonists could prevent deterioration from ALS1.

Key words : ALS, AMPA receptor, GluR2, RNA editing, ADAR2

## はじめに

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis : 以下, ALS) は運動ニューロン疾患のなかで最も多く, 上位運動ニューロンと下位運動ニューロンが選択的に変性脱落する疾患である。多くは中年期に発症し, 進行性の筋萎縮と脱力をきたす。ALS の有病率は 10 万人あたり 0.8~7.3 人で, ほとんどは孤発性である。ALS のわずかに 5~10% が家族性で, 複数の原因遺伝子 (SOD1, ALS1, sentaxin) が知られているが<sup>1-4)</sup>, 家族性 ALS の運動ニューロン死のメカニズムは解明されていない。これに対して ALS の大多数を占める孤発性 ALS では, 剖検例での検討で, 残存脊髄運動ニューロンには, AMPA 受容体の  $Ca^{2+}$  非透過性を決定づける編集型 GluR2 が減少していることが明らかにされ,  $Ca^{2+}$  の過剰な細胞内へ

の流入が, 運動ニューロン死の引き金になるという納得のゆく説明ができるようになった<sup>5,6)</sup>。ALS では興奮性アミノ酸受容体の 1 つである AMPA 受容体の分子変化が, 中心的な役割を果たしていることが明らかとなってきたので, ここでは AMPA 受容体について述べることにする。最初に AMPA 受容体の特徴, 次に ALS をはじめとした運動ニューロン病の病態に関わる AMPA 受容体の役割, 最後に ALS の治療の展望について述べる。

## I. AMPA 受容体と遅発性運動ニューロン死

錐体路はグルタミン酸を神経伝達物質としており, 脊髄運動ニューロンにはグルタミン酸受容体が高密度に存在し, 上位運動ニューロンから興奮性入力を受けている。生理的狀態では上位運動ニューロンのシナプス終末からグルタミン酸が放出され, 脊髄運動ニューロンの受容体

1) 旭川医科大学神経内科 [〒078-8510 旭川市緑が丘東 2 条 1-1-1] Division of Neurology, Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College, 2-1-1-1 Midorigaoka-higashi, Asahikawa 078-8510, Japan

2) 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 Department of Neurology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

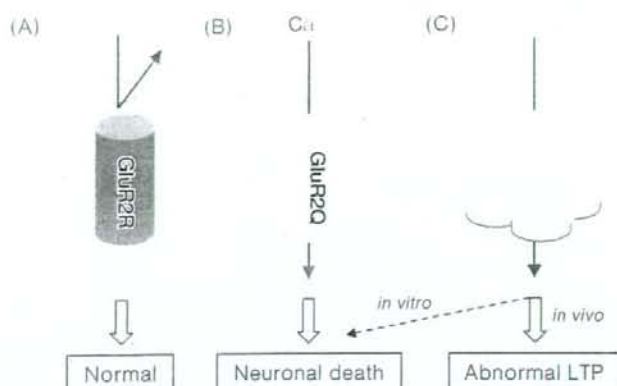


Fig. 1 AMPA 受容体の  $Ca^{2+}$  透過性と GluR2 サブユニット

AMPA 受容体はグルタミン受容体サブユニットで構成される 4 量体であり、4 種類のサブユニットである GluR1, GluR2, GluR3, GluR4 のさまざまな組み合わせがあり得る。AMPA 受容体の  $Ca^{2+}$  透過性は、構成する受容体サブユニットによって異なる。AMPA 受容体に少なくとも 1 つの GluR2 サブユニットがなければ、 $Ca^{2+}$  透過性が高く (C)、また GluR2 サブユニットがあっても Q/R 部位が未編集 (GluR2Q) であれば  $Ca^{2+}$  透過性が高い (B)。これに対して編集された GluR2 サブユニット (GluR2R) を有している AMPA 受容体は  $Ca^{2+}$  透過性が低い (A)。ALS での運動神経細胞死の病態に GluR2 サブユニットの Q/R 部位の編集率の低下が関与している。*In vitro* では GluR2R を持たない  $Ca^{2+}$  透過性 AMPA 受容体が、小脳神経細胞の細胞死に関与することが知られている。また GluR2 ノックアウトマウスでは電気生理学的な検討で、長期増強効果 (long-term potentiation: LTP) の亢進を認めている (文献 61) Kwak S & Kawahara Y, 2005 より引用改変)。

に結合し、その後、アストロサイトに存在するグルタミン酸トランスポーターによって取り込まれ、シナプス間隙のグルタミン酸は一定の濃度に保たれる。シナプス間隙のグルタミン酸濃度が過度になると、ニューロンが過興奮し、細胞内への異常な  $Ca^{2+}$  流入により、細胞内環境の変化を引き起こし、ニューロン死に陥る。これがいわゆる興奮性ニューロン死であり、虚血や低血糖、外傷、てんかん重積発作などにおける急性のニューロン死のメカニズムと考えられている<sup>7)</sup>。一方、ALS のような緩徐進行性の神経変性疾患にも、グルタミン酸を介した遅発性興奮性ニューロン死が関与していることが示されてきた<sup>8)</sup>。この遅発性のニューロン死のメカニズムにはグルタミン酸受容体の中で、特に AMPA 受容体が重要な役割をしていることが徐々に明らかにされてきた。

### 1. AMPA 受容体と $Ca^{2+}$ 透過性

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けられ、AMPA 受容体はイオンチャネル型受容体の 1 つである。AMPA 受容体は GluR1 と GluR2,

GluR3, GluR4 の 4 種類のサブユニットのさまざまな組み合わせで構成される 4 量体である。グルタミン酸受容体、AMPA 受容体の全般については、他の総説を参照されたい<sup>9-12)</sup>。AMPA 受容体を構成するサブユニットに GluR2 が含まれているかどうかで、AMPA 受容体の  $Ca^{2+}$  透過性は非常に異なる。AMPA 受容体サブユニットに少なくとも 1 つの GluR2 があれば、 $Ca^{2+}$  透過性が低く、GluR2 がなければ  $Ca^{2+}$  透過性が高くなる<sup>13-16)</sup> (Fig. 1)。GluR2 の発現のない GluR2-null マウスの海馬培養細胞では AMPA 受容体を介した細胞死が引き起こされるが<sup>17)</sup>、GluR2 のノックアウトマウスでは長期増強効果 (long-term potentiation: LTP) 亢進を起こすものの、細胞死を引き起こさない<sup>18)</sup> (Fig. 1)。

この GluR2 の  $Ca^{2+}$  非透過性は、膜ドメイン M2 に存在する Q/R 部位が、転写後にグルタミン (Q) からアルギニン (R) に RNA 編集されることによって獲得される<sup>14,19,20)</sup>。マウスやラット、ヒト脳の GluR2 mRNA は、ほとんどが Q/R 部位ではアルギニン (R) であるのに対して、GluR1, GluR3, GluR4 では同部位でグルタミン

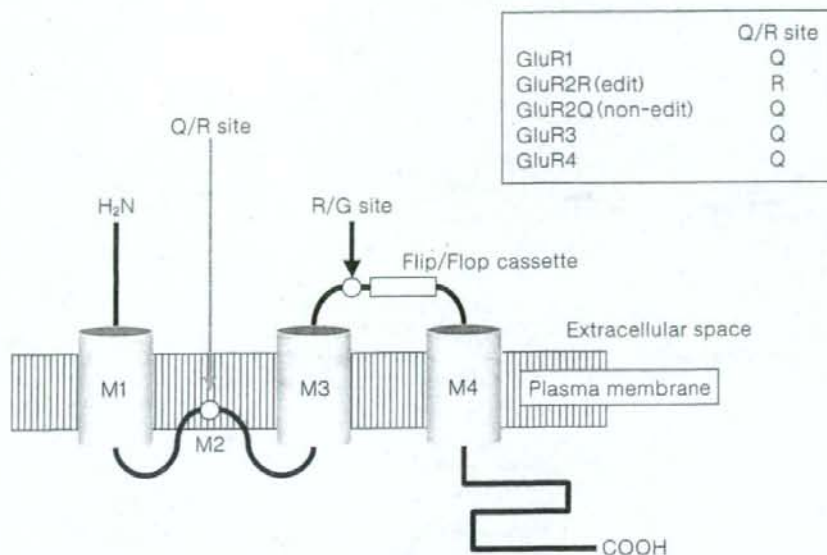


Fig. 2 AMPA 受容体サブユニットの構造

AMPA 受容体サブユニットには M1, M3, M4 の膜貫通部分があり、各サブユニットには選択的スプライシングにより、Flip 型あるいは Flop 型のアミノ酸配列を細胞外に持つ。GluR2, GluR3, GluR4 には RNA 編集を受ける R/G 部位があり、アルギニン (R) からグリシン (G) へ置換する。R/G 部位は受容体脱感作を修飾すると考えられている。M1 と M3 の間には膜内に M2 があり、このなかには Q/R 部位が存在する。GluR2 サブユニットの Q/R 部位では、翻訳過程でグルタミン (Q) がアルギニン (R) に編集される (文献 61) Kwak S & Kawahara Y, 2005 より引用改変)。

(Q) のままである (Fig. 2)。AMPA 受容体は編集型 GluR2 (GluR2R) を持てば  $Ca^{2+}$  非透過性なのに対して、未編集型 GluR2 (GluR2Q) であれば  $Ca^{2+}$  透過性である<sup>21,22)</sup> (Fig. 1)。GluR2 Q/R 部位の RNA 編集が細胞死に影響することが、変異マウスにより証明されている。すなわち GluR2 Q/R 部位で RNA 編集されない変異マウスは、痙攣重積に伴い神経細胞死をきたして、生後 20 日以内に死亡する<sup>23)</sup>。また、遺伝子導入により GluR2R を減少させ、 $Ca^{2+}$  透過性を上昇させたマウスで、近発性運動ニューロン死をきたすことも知られている<sup>24)</sup>。さらに GluR2R を含まない AMPA 受容体のみを発現する培養小脳 Purkinje 細胞では、 $Ca^{2+}$  透過性ととも細胞死をきたすことが示されている。

AMPA 受容体の  $Ca^{2+}$  influx は、GluR2 サブユニットとその GluR2 Q/R 部位の編集率が重要であるが、そのほかにも開口したチャネル数や flip/flop splicing variant, AMPA 受容体の細胞表面密度などが関与すると考えられる。

## 2. GluR2 Q/R 部位の RNA 編集

RNA 編集は転写後に mRNA が塩基の修飾を受ける仕組みの 1 つで、遺伝子特異的コドンを変化することにより、蛋白の構造や機能を変化させ得るものである<sup>25,26)</sup>。哺乳類では、RNA 編集は主にアデノシン (A) からイノシン (I) への変換 (A-to-I editing)、シチジン (C) からウラシル (U) への変換 (C-to-U editing) が起こるとされている (Fig. 3)。中枢神経系では A-to-I editing が主に行われ、グルタミン酸受容体サブユニット<sup>27-29)</sup>、セロトニン受容体 5HT<sub>2c</sub>R<sup>30)</sup>、電位依存性 K チャネル Kv1.1<sup>31)</sup>、RNA 編集酵素 ADAR2 などが知られている<sup>32)</sup>。この中で、特に ADAR2 によってなされる GluR2 Q/R 部位のアミノ酸の変化は、AMPA 受容体の  $Ca^{2+}$  透過性を変化させ<sup>13-15,21,22,29,33-35)</sup>、チャネルの開口に関係している<sup>29)</sup>。

GluR2 Q/R 部位の RNA 編集は主に、adenosine deaminase acting on RNA (ADAR) 2 と呼ばれる編集酵素によって行われる。RNA 編集酵素は哺乳類ではこれに加え ADAR1, ADAR3 の 3 種類が知られており<sup>36-41)</sup>、ADAR1 と ADAR2 はほとんどの組織で発現し

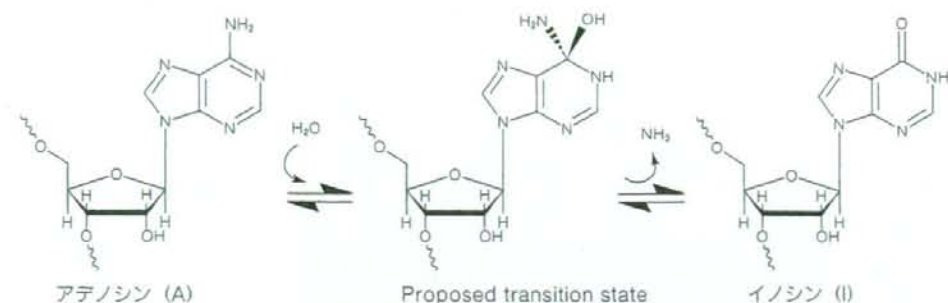


Fig. 3 GluR2 Q/R部位のRNA編集

アデノシン (A) がイノシン (I) に編集される。イノシンは翻訳過程でグアノシン (G) として翻訳され、アミノ酸レベルではグルタミン (CAG) からアルギニン (CGG) と変換される。

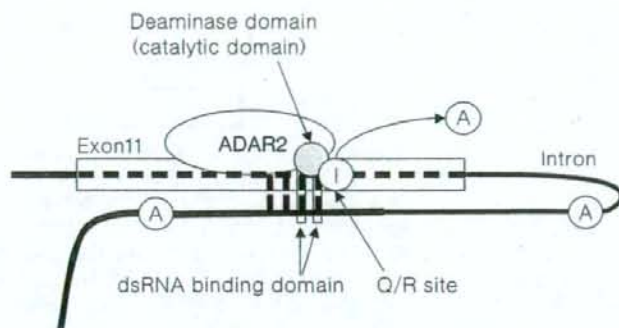


Fig. 4 Adenosine deaminases acting on RNA (ADAR) 2 と RNA 編集  
 GluR2 Q/R部位のRNA編集は、編集酵素である ADAR2 によって行われる。ADAR2 は2つの double strand RNA-binding domain と catalytic domain を持ち、GluR2 mRNA exon11 の Q/R 部位のアデノシン残基 (A) を認識し、アデノシン (A) をイノシン (I) へ編集する。

ている<sup>36,38,42,43</sup>。ADAR2 は編集酵素活性を持つ catalytic domain と、編集される部位にある2本鎖 RNA 結合部位 (double strand RNA binding domain) を有する (Fig. 4)。ADAR2 は主要な GluR2 Q/R部位の RNA 編集酵素である。また ADAR1 と ADAR2 のいずれもカイン酸受容体のサブユニットである GluR5 と GluR6 の Q/R部位の編集にも関わる<sup>44,45</sup>。GluR2 はげっ歯類の neonate の白質や adult の脳ではほとんど完全に編集されている<sup>15,46-48</sup>。ヒト脳 mRNA では、白質も含め必ずしも完全には Q/R部位は編集されていない<sup>5,49-55</sup>。脳の各部位の単一ニューロンレベルでは100%編集されているが、成人の白質では編集率が低下している<sup>52,53</sup>。したがって、ヒト脳のグリア細胞では生理的狀態で Ca<sup>2+</sup> 透過性の AMPA 受容体を発現しているようである。実際、オリゴデンドロサイトは GluR2Q を発現しており、アストロサイトと小脳の Bergmann グリア細胞では、

GluR2R の発現がみられない<sup>19,56,57</sup>。このように、ヒト脳では部位特異的、細胞特異的に GluR2 Q/R部位の編集が制御されている可能性がある。

### 3. AMPA 受容体サブユニットの膜への輸送機構

AMPA 受容体サブユニットは細胞内小胞体にプールされ、さまざまな組み合わせで2量体同士の会合によって4量体を形成し、細胞膜へ輸送され機能的な AMPA 受容体を構成する<sup>58</sup>。GluR2 を含む AMPA 受容体は、含まない受容体と比べ、膜表面に輸送されにくい。さらに未編集型の GluR2Q と編集型の GluR2R が同時に存在すると、GluR2Q が他のサブユニットと複合体を形成して、効率よく膜表面に輸送される。これに対して、GluR2Q が存在すると、GluR2R は小胞体にとどまり、膜へ輸送されにくくなる<sup>58</sup>。すなわち、GluR2Q が比較的少なくても、より膜表面へ輸送されやすく、AMPA 受容体

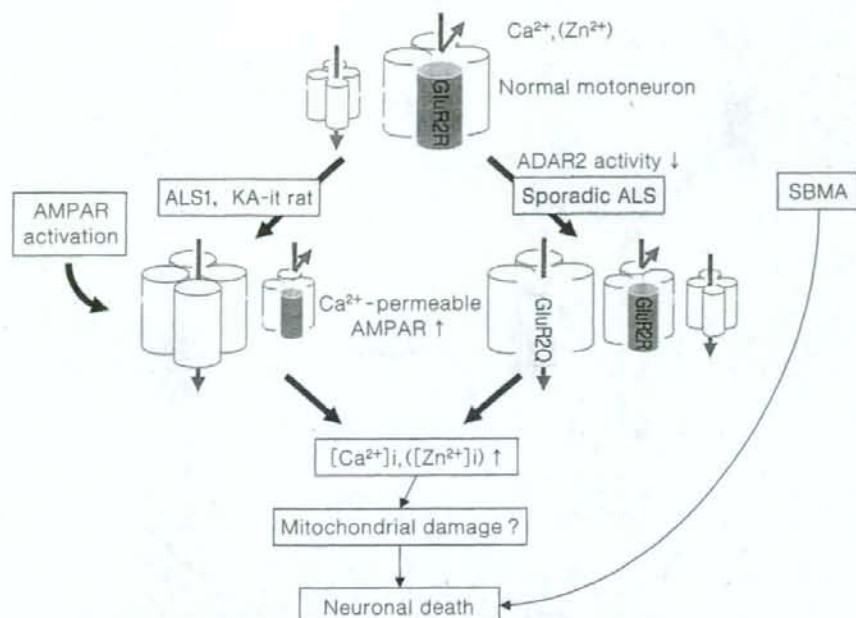


Fig. 5 AMPA 受容体を介する運動神経細胞死の分子機構

正常の脊髄運動神経細胞の AMPA 受容体は、ほとんどが編集型 GluR2 (GluR2R) を含み、Ca<sup>2+</sup> 非透過性である。孤発性 ALS と変異 SOD1 関連家族性 ALS (ALS1) のいずれも、AMPA 受容体を介した Ca<sup>2+</sup> 透過性亢進により、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度が上昇して神経細胞死をきたすと考えられるが、その機序は異なっている。孤発性 ALS では、脊髄運動神経細胞において未編集型 GluR2 (GluR2Q) を含む AMPA 受容体が増え、細胞死に至ると考えられる。ALS1 では GluR2 を含む AMPA 受容体の割合が増えることに加え、変異 SOD1 の細胞毒性などの因子が加わり、細胞死に陥ると考えられる。球脊髄性筋萎縮症 (spinal and bulbar muscular atrophy: SBMA) の運動神経細胞死には、AMPA 受容体を介する機序は関与していない (文献 70) 郭 伸, 2006, 文献 77) Kwak S & Weiss JH, 2006 より引用改変)。

の Ca<sup>2+</sup> 透過性が亢進し、ニューロン死を引き起こし得ると考えられる<sup>9,11)</sup>。今のところ、ALS における GluR2 の輸送機構異常の有無に関する報告はみられていない。

## II. 運動ニューロン疾患における神経細胞死のメカニズム

### 1. 孤発性 ALS

ALS の大部分を占める孤発性 ALS では、まず凍結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 mRNA 編集率低下が明らかにされた<sup>5)</sup>。さらに単一脊髄運動ニューロンレベルで、GluR2 mRNA 発現量に有意な減少がないにもかかわらず<sup>2,59)</sup>、GluR2 Q/R 部位の未編集型が増加していることが明らかにされた<sup>6)</sup>。正常対照群の運動ニューロンでは、全例で GluR2 Q/R 部位の RNA は 100% 編集されていたが、ALS 群では 100% のものから 0%、その中間のものとなら

り、平均すると 38.75% であった。これに対して ALS 群の小脳プルキンエ細胞の GluR2 Q/R 部位 RNA 編集率は、正常対照群と同様にほぼ 100% であった。また多系統萎縮症や歯状核赤核淡蒼球レイ体萎縮症の小脳プルキンエ細胞でもほぼ 100% であった。孤発性 ALS 脊髄運動ニューロンで明らかにされた RNA 編集率の低下は、疾患特異的、細胞選択的変化であり、孤発性 ALS の運動ニューロン死に直接関わっていると考えられる<sup>9-11,12,60-62)</sup>。脊髄運動ニューロンには GluR2 サブユニットの割合が少なく、Ca<sup>2+</sup> 透過性 AMPA 受容体の割合が多いことが<sup>53)</sup>、脊髄運動ニューロンの RNA 編集率低下に対する脆弱性と関連しているとも考えられる (Fig. 5)。

### 2. 変異 SOD1 関連家族性 ALS (ALS1)

ALS1 では、今のところヒトでの検討はなされていないが、AMPA 受容体を介する神経細胞死が関与して

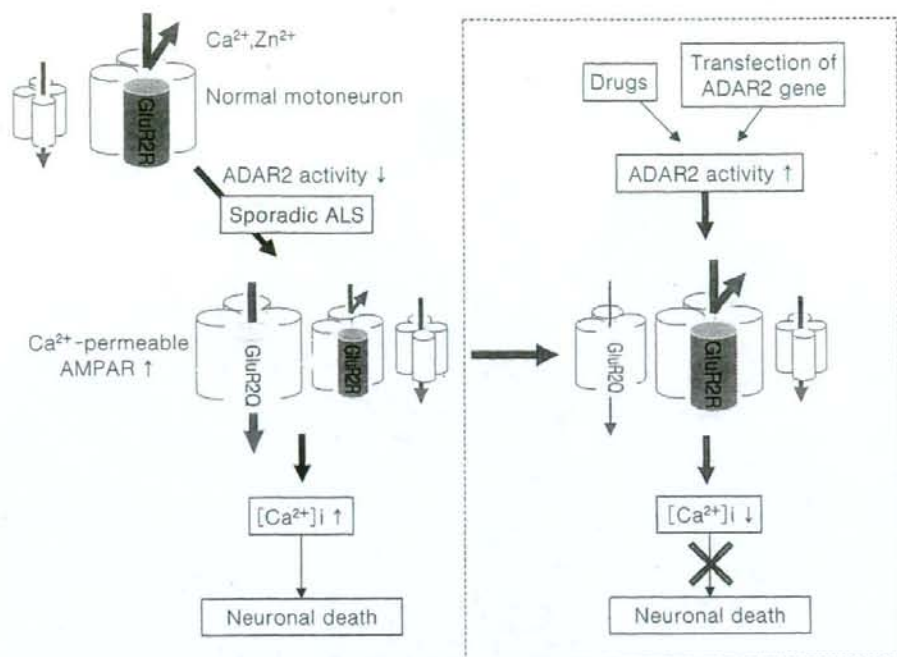


Fig. 6 孤発性 ALS の ADAR2 を標的とした治療戦略

孤発性 ALS では ADAR2 活性の低下により、脊髄運動神経細胞の未編集型 GluR2 (GluR2Q) を含む AMPA 受容体が増え、Ca<sup>2+</sup> 透過性が増加して、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度上昇を契機に細胞死へのカスケードが進むと考えられる。したがって、ADAR2 活性を回復することが孤発性 ALS の治療となり得ると考えられる。方法としては ADAR2 活性を上昇させる薬剤の発見、開発である。その他に活性型の ADAR2 の遺伝子導入も治療法としての可能性がある (文献 70) 郭 伸, 2006 より引用改変)。

いる可能性を示唆する知見が、モデル動物を用いて得られている。In vitro では、GluR2 欠損マウスの胎児から得られた運動ニューロンの培養細胞は、AMPA 受容体を介した Ca<sup>2+</sup> 透過性が亢進し、カイニン酸に対する毒性が増加する。変異 SOD1 トランスジェニックマウスに、この GluR2 欠損マウスを掛け合わせると、in vivo では早期に運動ニューロンが脱落変性する<sup>63)</sup>。また GluR2 の過剰発現では、変異 SOD1 トランスジェニックマウスの延命効果を認めている<sup>64)</sup>。さらに、GluR2 Q/R 部位をアスパラギンに置換し、GluR2R を約 76% に減少したモデルでは、遅発性運動ニューロン死をきたすが、このモデルを変異 SOD1 トランスジェニックマウスに掛け合わせると、運動ニューロン死が促進される<sup>24)</sup>。変異 SOD1 による運動ニューロン死には GluR2 Q/R 部位の RNA 編集はみられないことから<sup>65)</sup>、ALS1 では GluR2 の発現の増減が運動ニューロン死の修飾因子となり得ると考えられる。

変異 SOD1 トランスジェニックマウスの運動ニューロンでは、カイニン酸毒性に対してより脆弱で、かつ

GluR3 と GluR4 mRNA の増加がみられるとの報告や<sup>66)</sup>、別の報告では GluR2 サブユニットの減少と GluR3 mRNA の発現上昇が報告されている<sup>67)</sup>。さらに、変異 SOD1 トランスジェニックマウスに GluR3 に対するアンチセンス mRNA を髄腔内に投与すると、腰髄 GluR3 を蛋白レベルでは検出できないものの、延命効果を認めている<sup>68)</sup>。興味深いことに、カイニン酸髄注 ALS モデルラットでも GluR3 mRNA の上昇がみられている<sup>69)</sup>。この ALS モデルラットでは、低容量のカイニン酸を慢性持続投与することにより、運動ニューロンのみが選択的に遅発性の変性脱落をきたすが、運動ニューロンのみで GluR3 mRNA の発現上昇がみられる。GluR2 を含め、他の AMPA 受容体サブユニットの発現量には変化がみられない。この変化は AMPA 受容体アンタゴニストで阻止される。また GluR2 Q/R 部位の RNA 編集異常もみられない。したがって、このモデルの運動ニューロン死には AMPA 受容体の Ca<sup>2+</sup> 透過性亢進が関わっているものの、GluR2 の減少や GluR2 Q/R 部位の RNA 編集異常では説明がつかない。GluR3 サブユニットが増

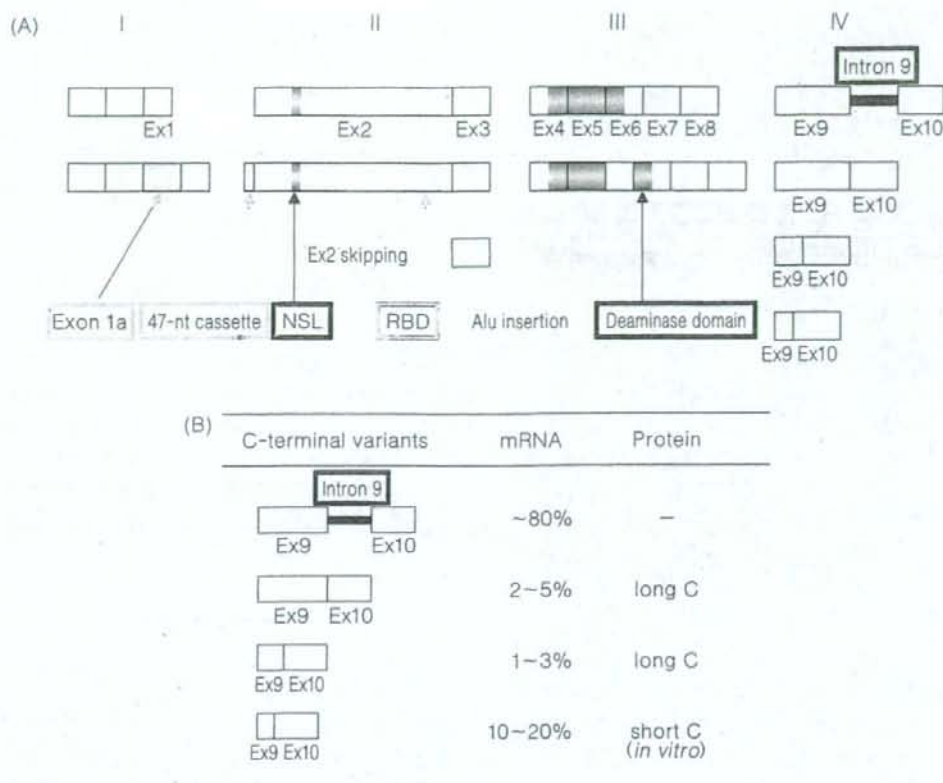


Fig. 7 A ヒト脳の ADAR2 (A: ADAR2 mRNA variant, B: C-terminal variant)

A: ヒト脳の ADAR2 mRNA には 4 ドメインがあり、それぞれのドメインに variant が存在する。第 I ドメインには exon 1a を含むものと含まないものの 2 種類がある。第 II ドメインには 47 ヌクレオチドカセットを含むものと、含まないもの、さらに exon 2 を欠くものの 3 種類がある。第 III ドメインには Alu 配列を含むものと含まないものの 2 種類が存在する。第 IV ドメインには 4 種類 (intron 9 retention のあるもの、全長 exon 9、短縮型 exon 9 の 2 種類) の variant が存在する。これらのドメインはそれぞれスプライシングを受けるので、 $2 \times 3 \times 2 \times 4 = 48$  種類の mRNA variant が存在する可能性がある。B: 第 IV ドメインの variant の mRNA 量は intron 9 retention type が最も多いが、蛋白に翻訳されず、その機能も明らかでない。また短縮型 exon 9 をもつ mRNA も蛋白に翻訳されない。したがって、翻訳される第 IV ドメインを持つ mRNA は全体のわずか 3~8% にすぎない (文献 65) Kawahara et al, 2005, 文献 70) 郭 伸, 2006 より引用改変)。

加することにより、相対的に GluR2 サブユニットの AMPA 受容体に占める割合が減少し、GluR2 を含まない  $Ca^{2+}$  透過性の AMPA 受容体が増加することが、このモデルでの運動ニューロン変性メカニズムと考えられる<sup>68,70)</sup>。この GluR3 の変化は前述した変異 SOD1 トランスジェニックマウスでみられるものと同様で、ALS1 では AMPA 受容体が持続的に刺激され、GluR3 mRNA の発現が上昇している可能性があると考えられる (Fig. 5)。

### 3. 球脊髄性筋萎縮症 (spinal and bulbar muscular atrophy: SBMA)

SBMA はアンドロゲン受容体遺伝子エクソン 1 の CAG リピートが、正常の約 2 倍に異常伸長するポリグルタミン病で、下位運動ニューロンの変性をきたす疾患である。臨床的には、ALS に比べて臨床経過が非常に長い。剖検 SBMA3 症例の残存脊髄運動ニューロン 44 個の検討では、GluR2 Q/R 部位の RNA 編集は 100% であり<sup>65)</sup>、SBMA では RNA 編集異常が神経細胞死に関与している可能性は低いようである。また、歯状核ルイ体淡蒼球萎縮症ブルキンエ細胞でも、GluR2 Q/R 部位の



RNA 編集に異常がなく<sup>9</sup>, ハンチントン病疾患モデルでは AMPA 受容体感受性は不変<sup>71-74</sup>, あるいは低下していることから, 今のところポリグルタミン病における神経細胞死には, AMPA 受容体が関与しているという証拠は得られていない (Fig. 5)。

### III. 孤発性 ALS, 変異 SOD1 関連 ALS (ALS1) の病態を標的とした特異的治療法

#### 1. 孤発性 ALS (Fig. 6)

現在まで孤発性 ALS の治療薬としては, グルタミン酸拮抗薬であるリルゾールが唯一使用可能であるが, 効果に乏しく, 満足のいく治療法とは言いがたい。新たな治療法として, 今まで明らかにされた孤発性 ALS の分子病態をターゲットとして, 運動ニューロンの ADAR2 活性を回復することが, 有力な治療法となり得ると考えられる。その方法の 1 つは, ADAR2 活性を上昇させる薬剤を見出すことである。筆者らは培養細胞を用い, 各種薬剤をスクリーニングし, 複数の薬剤が ADAR2 活性を上昇させることを見出した<sup>75</sup>。ADAR2 活性の回復は, GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率を正常化することを意味しており, AMPA 受容体を介する過剰な  $Ca^{2+}$  透過性を正常化し, 最終的には ALS の運動ニューロン死を阻止しようと考えられる。

また, ADAR2 活性を有する遺伝子導入も, 可能性のある治療法と考えられる。一過性の脳虚血では海馬 CA1 錐体細胞で ADAR2 mRNA の発現が低下し, GluR2 Q/R 部位の編集低下が起こり, 遅発性の細胞死が起こるが, ADAR2 の遺伝子導入により細胞死を回避できると報告されている<sup>76</sup>。一般的に, 一過性脳虚血後の海馬 CA1 の遅発性選択的神経細胞死では, GluR2 mRNA の発現低下のためとされていたが<sup>77</sup>, ALS と同様な GluR2 Q/R 部位の RNA 編集異常がそのメカニズムであることが明らかになった。遺伝子導入は魅力的な治療法であるが, 孤発性 ALS の ADAR2 活性低下の原因を明らかにするために, ADAR2 活性調節機構を解明することが本質的な治療につながると思われる。

ADAR2 mRNA には splicing variant が 48 種類あるが<sup>78</sup> (Fig. 7 A), ヒト小脳組織での検討では, ADAR2 蛋白として同定できるのは 2 種類の翻訳型 variant で<sup>78</sup>, いずれも ADAR2 活性を持つ。しかし, 生理的状態では ADAR2 の翻訳型 variant (蛋白レベルで long C を持つ: Fig. 7 B) の割合は極めて少なく, せいぜい 2.8% である。イントロン 9 retention タイプの variant は, ADAR2 mRNA 発現量の 80% にも及ぶが, 非翻訳型で

ありその生物学的意味付けは, 細胞環境の変化に伴い翻訳型 variant 非翻訳型を産生するためとする考えがある<sup>79</sup>。この考えが正しいとすると, 大量に存在するイントロン 9 retention タイプの ADAR2 mRNA splicing variant が, ADAR2 活性を有する翻訳型に変換するようなメカニズムが解明されれば, 孤発性 ALS の新たな特異的治療法につながる可能性がある。

#### 2. 変異 SOD1 関連 ALS (ALS1)

ALS1 では, AMPA 受容体を介した  $Ca^{2+}$  透過性亢進が運動ニューロン死を促進していると考えられるので, 慢性的な AMPA 受容体刺激をブロックする拮抗薬がその候補となり, カイニン酸髄注ラットでもこれを支持する所見が得られている。また,  $Ca^{2+}$  透過性を低下させるために AMPA 受容体を構成する編集型 GluR2 を増加させることが, 運動ニューロン死を遅延させる治療となりうる。

### おわりに

ALS は長い間, 原因不明で治療法に乏しく, ケアが中心の神経変性疾患であった。患者は末期に至るまで, 意識は清明で, 知能・感覚は保たれ, 運動機能障害により日常生活全面に介護を要し, 本人のみならず家族の負担は心身ともに多大である。ALS の病因が明らかにされ, 一日でも早く特異的治療法が確立され, 患者および家族への福音となることが望まれる。

### 謝辞

この研究は, 文部科学省科学研究費, 厚生科学研究費などの援助を受けて行った。

### 文 献

- 1) Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, et al: Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 362: 59-62, 1993
- 2) Hadano S, Hand CK, Osuga H, Yanagisawa Y, Otomo A, et al: A gene encoding a putative GTPase regulator is mutated in familial amyotrophic lateral sclerosis 2. *Nat Genet* 29: 166-173, 2001
- 3) Yang Y, Hentati A, Deng HX, Dabbagh O, Sasaki T, et al: The gene encoding alsin, a protein with three guanine-nucleotide exchange factor domains, is mutated in a form of recessive amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet* 29: 160-165, 2001
- 4) Chen YZ, Bennett CL, Huynh HM, Blair IP, Puls I, et

- al: DNA/RNA Helicase Gene Mutations in a Form of Juvenile Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS4). *Am J Hum Genet* 74: 1128-1135, 2004
- 5) Takuma H, Kwak S, Yoshizawa T, Kanazawa I: 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* 46: 806-815, 1999
  - 6) Kawahara Y, Ito K, Sun H, Aizawa H, Kanazawa I, Kwak S: Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons. *Nature* 427: 801, 2004
  - 7) Rothman SM, Olney JW: Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol* 19: 105-111, 1986
  - 8) 相澤仁志, 中村良司, 郭 伸: 実験的遅発性興奮性運動ニューロン死. *Clin Neurosci* 16: 896-900, 1998
  - 9) 日出山拓人, 河原行郎, 郭 伸: ALS と AMPA 受容体. *No To Shinkei* 57: 585-598, 2005
  - 10) 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* 6: 131-144, 2005
  - 11) 日出山拓人, 河原行郎, 郭 伸: 筋萎縮性側索硬化症の分子病理—病態と治療—. *最新医学* 60: 1072-1080, 2005
  - 12) 日出山拓人, 河原行郎, 郭 伸: 筋萎縮性側索硬化症の研究の進歩. *医学のあゆみ* 212: 2613-2620, 2005
  - 13) Hollmann M, Hartley M, Heinemann S: Ca<sup>2+</sup> permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science* 252: 851-853, 1991
  - 14) Verdoorn T, Burnashev N, Monyer H, Seeburg P, Sakmann B: Structural determinants of ion flow through recombinant glutamate receptor channels. *Science* 252: 1715-1718, 1991
  - 15) Burnashev N, Khodorova A, Jonas P, Helm P, Wisden W, et al: Calcium-permeable AMPA-kainate receptors in fusiform cerebellar glial cells. *Science* 256: 1566-1570, 1992
  - 16) Koh DS, Burnashev N, Jonas P: Block of native Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA receptors in rat brain by intracellular polyamines generates double rectification. *J Physiol* 486: 305-312, 1995
  - 17) Iihara K, Joo DT, Henderson J, Sattler R, Taverna FA, et al: The influence of glutamate receptor 2 expression on excitotoxicity in GluR2 null mutant mice. *J Neurosci* 21: 2224-39, 2001
  - 18) Jia Z, Agopyan N, Miu P, Xiong Z, Henderson J, et al: Enhanced LTP in mice deficient in the AMPA receptor GluR2. *Neuron* 17: 945-956, 1996
  - 19) Burnashev N, Monyer H, Seeburg P, Sakmann B: Divalent ion permeability of AMPA receptor channels is dominated by the edited form of a single subunit. *Neuron* 8: 189-198, 1992
  - 20) Hume RI, Dingledine R, Heinemann SF: Identification of a site in glutamate receptor subunits that controls calcium permeability. *Science* 253: 1028-1031, 1991
  - 21) Burnashev N, Zhou Z, Neher E, Sakmann B: Fractional calcium currents through recombinant GluR channels of the NMDA, AMPA and kainate receptor subtypes. *J Physiol* 485: 403-418, 1995
  - 22) Swanson G, Kamboj S, Cull-Candy S: Single-channel properties of recombinant AMPA receptors depend on RNA editing, splice variation, and subunit composition. *J Neurosci* 17: 58-69, 1997
  - 23) Brusa R, Zimmermann F, Koh D, Feldmeyer D, Gass P, et al: Early-onset epilepsy and postnatal lethality associated with an editing-deficient GluR-B allele in mice. *Science* 270: 1677-1680, 1995
  - 24) Kuner R, Groom AJ, Bresink I, Kornau HC, Stefovskaya V, et al: Late-onset motoneuron disease caused by a functionally modified AMPA receptor subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 5826-5831, 2005
  - 25) Gerber AP, Keller W: RNA editing by base deamination: more enzymes, more targets, new mysteries. *Trends Biochem Sci* 26: 376-384, 2001
  - 26) Keegan LP, Gallo A, O'Connell MA: The many roles of an RNA editor. *Nat Rev Genet* 2: 869-878, 2001
  - 27) Sommer B, Köhler M, Sprengel R, Seeburg P: RNA editing in brain controls a determinant of ion flow in glutamate-gated channels. *Cell* 67: 11-19, 1991
  - 28) Köhler M, Burnashev N, Sakmann B, Seeburg P: Determinants of Ca<sup>2+</sup> permeability in both TM1 and TM2 of high affinity kainate receptor channels: diversity by RNA editing. *Neuron* 10: 491-500, 1993
  - 29) Lomeli H, Mosbacher J, Melcher T, Hoyer T, Geiger JR, et al: Control of kinetic properties of AMPA receptor channels by nuclear RNA editing. *Science* 266: 1709-1713, 1994
  - 30) Burns CM, Chu H, Rueter SM, Hutchinson LK, Canton H, et al: Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature* 387: 303-308, 1997
  - 31) Hoopengardner B, Bhalla T, Staber C, Reenan R: Nervous system targets of RNA editing identified by comparative genomics. *Science* 301: 832-836, 2003
  - 32) Rueter SM, Dawson TR, Emeson RB: Regulation of alternative splicing by RNA editing. *Nature* 399: 75-80, 1999
  - 33) Jonas P, Burnashev N: Molecular mechanisms controlling calcium entry through AMPA-type glutamate receptor channels. *Neuron* 15: 987-990, 1995
  - 34) Puchalski R, Louis J, Brose N, Traynelis S, Egebjerg J, et al: Selective RNA editing and subunit assembly of native glutamate receptors. *Neuron* 13: 131-147, 1994

- 35) Swanson GT, Feldmeyer D, Kaneda M, Cull-Candy SG: Effect of RNA editing and subunit co-assembly single-channel properties of recombinant kainate receptors. *J Physiol (Lond)* **492**: 129-142, 1996
- 36) Kim U, Wang Y, Sanford T, Zeng Y, Nishikura K: Molecular cloning of cDNA for double-stranded RNA adenosine deaminase, a candidate enzyme for nuclear RNA editing. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**: 11457-11461, 1994
- 37) O'Connell MA, Krause S, Higuchi M, Hsuan JJ, Totty NF, et al: Cloning of cDNAs encoding mammalian double-stranded RNA-specific adenosine deaminase. *Mol Cell Biol* **15**: 1389-1397, 1995
- 38) Melcher T, Maas S, Herb A, Sprengel R, Seeburg P, Higuchi M: A mammalian RNA editing enzyme. *Nature* **379**: 460-464, 1996
- 39) Melcher T, Maas S, Herb A, Sprengel R, Higuchi M, Seeburg PH: RED2, a brain-specific member of the RNA-specific adenosine deaminase family. *J Biol Chem* **271**: 31795-31798, 1996
- 40) O'Connell MA, Gerber A, Keller W: Purification of human double-stranded RNA-specific editase 1 (hRED1) involved in editing of brain glutamate receptor B pre-mRNA. *J Biol Chem* **272**: 473-478, 1997
- 41) Chen CX, Cho DS, Wang Q, Lai F, Carter KC, Nishikura K: A third member of the RNA-specific adenosine deaminase gene family, ADAR3, contains both single- and double-stranded RNA binding domains. *RNA* **6**: 755-767, 2000
- 42) Lai F, Chen C, Carter K, Nishikura K: Editing of glutamate receptor B subunit ion channel RNAs by four alternatively spliced DRADA2 double-stranded RNA adenosine deaminases. *Mol Cell Biol* **17**: 2413-2424, 1997
- 43) Gerber A, O'Connell M, Keller W: Two forms of human double-stranded RNA-specific editase 1 (hRED1) generated by the insertion of an Alu cassette. *RNA* **3**: 453-463, 1997
- 44) Wang Q, Khillan J, Gadue P, Nishikura K: Requirement of the RNA editing deaminase ADAR1 gene for embryonic erythropoiesis. *Science* **290**: 1765-1768, 2000
- 45) Higuchi M, Maas S, Single FN, Hartner J, Rozov A, et al: Point mutation in an AMPA receptor gene rescues lethality in mice deficient in the RNA-editing enzyme ADAR2. *Nature* **406**: 78-81, 2000
- 46) Paschen W, Djuricic B: Regional differences in the extent of RNA editing of the glutamate receptor subunits GluR2 and GluR6 in rat brain. *J Neurosci Methods* **56**: 21-29, 1995
- 47) Carlson NG, Howard J, Gahring LC, Rogers SW: RNA editing (Q/R site) and flop/flip splicing of AMPA receptor transcripts in young and old brains. *Neurobiol Aging* **21**: 599-606, 2000
- 48) Seeburg PH: A-to-I editing: new and old sites, functions and speculations. *Neuron* **35**: 17-20, 2002
- 49) Akbarian S, Smith M, Jones E: Editing for an AMPA receptor subunit RNA in prefrontal cortex and striatum in Alzheimers disease, Huntingtons disease and schizophrenia. *Brain Res* **699**: 297-304, 1995
- 50) Paschen W, Hedreen J, Ross C: RNA editing of the glutamate receptor subunits GluR2 and GluR6 in human brain tissue. *J Neurochem* **63**: 1596-1602, 1994
- 51) Kamphuis W, Lopes da Silva F: Editing status at the Q/R site of glutamate receptor-A, -B, -5 and -6 subunit mRNA in the hippocampal kindling model of epilepsy. *Mol Brain Res* **29**: 35-42, 1995
- 52) Kawahara Y, Ito K, Sun H, Kanazawa I, Kwak S: 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* **18**: 23-33, 2003
- 53) Kawahara Y, Ito K, Sun H, Ito M, Kanazawa I, Kwak S: Regulation of glutamate receptor RNA editing and ADAR mRNA expression in developing human normal and Down's syndrome brains. *Brain Res Dev Brain Res* **148**: 151-5, 2004
- 54) Maas S, Patt S, Schrey M, Rich A: Underediting of glutamate receptor GluR-B mRNA in malignant gliomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**: 14687-14692, 2001
- 55) Kortenbruck G, Berger E, Speckmann EJ, Musshoff 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* **8**: 459-468, 2001
- 56) Seifert G, Steinhauser C: Glial cells in the mouse hippocampus express AMPA receptors with an intermediate Ca<sup>2+</sup> permeability. *Eur J Neurosci* **7**: 1872-1881, 1995
- 57) Geiger JR, Melcher T, Koh DS, Sakmann B, Seeburg PH, et al: Relative abundance of subunit mRNAs determines gating and Ca<sup>2+</sup> permeability of AMPA receptors in principal neurons and interneurons in rat CNS. *Neuron* **15**: 193-204, 1995
- 58) Greger IH, Khatri L, Kong X, Ziff EB: AMPA receptor tetramerization is mediated by Q/R editing. *Neuron* **40**: 763-774, 2003
- 59) Kawahara Y, Kwak S, Sun H, Ito K, Hashida H, et al: Human spinal motoneurons express low relative abundance of GluR2 mRNA: An implication for excitotoxicity in ALS. *J Neurochem* **85**: 680-689, 2003
- 60) 郭 伸: ALS のグルタミン酸受容体異常と病因との関連について. *運動障害* **14**: 33-41, 2004
- 61) Kwak S, Kawahara Y: Deficient RNA editing of

- GluR2 and neuronal death in amyotrophic lateral sclerosis. *J Mol Med* 83: 110-120, 2005
- 62) 西本祥仁, 日出山拓人, 河原行郎, 郭 伸: AMPA 受容体サブユニット GluR2 の RNA 編集と ALS における神経細胞死. *Clin Neurosci* 24: 222-225, 2006
  - 63) Van Damme P, Braeken D, Callewaert G, Robberecht W, et al: GluR2 deficiency accelerates motor neuron degeneration in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 64: 605-612, 2005
  - 64) Tateno M, Sadakata H, Tanaka M, Itohara S, Shin RM, 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* 13: 2183-2196, 2004
  - 65) Kawahara Y, Sun H, Ito K, Hideyama T, Aoki M, 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* 54: 11-14, 2006
  - 66) Spalloni A, Albo F, Ferrari F, Mercuri N, Bernardi G, et al: Cu/Zn-superoxide dismutase (GLY93->ALA) mutation alters AMPA receptor subunit expression and function and potentiates kainate-mediated toxicity in motor neurons in culture. *Neurobiol Dis* 15: 340-50, 2004
  - 67) Tortarolo M, Grignaschi G, Calvaresi N, Zennaro E, Spaltro G, et al: Glutamate AMPA receptors change in motor neurons of SOD1G93A transgenic mice and their inhibition by a noncompetitive antagonist ameliorates the progression of amyotrophic lateral sclerosis-like disease. *J Neurosci Res* 83: 134-46, 2006
  - 68) Rembach A, Turner BJ, Bruce S, Cheah IK, Scott RL, et al: Antisense peptide nucleic acid targeting GluR3 delays disease onset and progression in the SOD1 G93A mouse model of familial ALS. *J Neurosci Res* 77: 573-82, 2004
  - 69) Sun H, Kawahara Y, Ito K, Kanazawa I, Kwak S: Slow and selective death of spinal motor neurons in vivo by intrathecal infusion of kainic acid: implications for AMPA receptor-mediated excitotoxicity in ALS. *J Neurochem* 98: 782-91, 2006
  - 70) 郭 伸: ALS の運動ニューロン死とグルタミン酸受容体の分子変化. *神経進歩* 50: 902-211, 2006
  - 71) Levine MS, Klapstein GJ, Koppel A, Gruen E, Cepeda C, et al: Enhanced sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor activation in transgenic and knockin mouse models of Huntington's disease. *J Neurosci Res* 58: 515-32, 1999
  - 72) Zeron MM, Hansson O, Chen N, Wellington CL, Leavitt BR, et al: Increased sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity in a mouse model of Huntington's disease. *Neuron* 33: 849-60, 2002
  - 73) Snider BJ, Moss JL, Revilla FJ, Lee CS, Wheeler VC, et al: Neocortical neurons cultured from mice with expanded CAG repeats in the huntingtin gene: unaltered vulnerability to excitotoxins and other insults. *Neuroscience* 120: 617-625, 2003
  - 74) Zeron MM, Fernandes HB, Krebs C, Shehadeh J, Wellington CL, et al: Potentiation of NMDA receptor-mediated excitotoxicity linked with intrinsic apoptotic pathway in YAC transgenic mouse model of Huntington's disease. *Mol Cell Neurosci* 25: 469-479, 2004
  - 75) 澤田 潤, 相澤仁志, 油川陽子, 郭 伸: AMPA 受容体サブユニット GluR2 の Q/R サイト RNA 編集率に及ぼす各種薬剤の効果. 第 48 回日本神経学会総会, 名古屋, 2007, p209
  - 76) Peng PL, Zhong X, Tu W, Soundarapandian MM, Molner P, et al: ADAR2-dependent RNA editing of AMPA receptor subunit GluR2 determines vulnerability of neurons in forebrain ischemia. *Neuron* 49: 719-733, 2006
  - 77) Kwak S, Weiss JH: Calcium-permeable AMPA channels in neurodegenerative disease and ischemia. *Curr Opin Neurobiol* 16: 281-287, 2006
  - 78) Kawahara Y, Ito K, Ito M, Tsuji S, Kwak S: Novel splice variants of human ADAR2 mRNA: Skipping of the exon encoding the dsRNA-binding domains, and multiple C-terminal splice sites. *Gene* 363: 193-201, 2005

シンポジウム2 「神経疾患の電磁気刺激による診断と治療」

前庭神経の経皮的微弱ランダム電流刺激による神経疾患の治療の試み

郭 伸<sup>1)</sup>・Struzik, Zbigniew R<sup>2)</sup>・相馬 りか<sup>2)</sup>  
大橋 恭子<sup>2)</sup>・潘 衛東<sup>1)</sup>・山本 義春<sup>2)</sup>

Amelioration of symptoms in neurological disorders  
by noisy vestibular stimulation

Shin Kwak<sup>1)</sup>, Zbigniew R Struzik<sup>2)</sup>, Rika Soma<sup>2)</sup>  
Kyoko Ohashi<sup>2)</sup>, Weidong Pan<sup>1)</sup>, Yoshiharu Yamamoto<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Neurology, Graduate School of Medicine, University of Tokyo

<sup>2)</sup> Educational Physiology Laboratory, Graduate School of Education, University of Tokyo

By means of noisy galvanic vestibular stimulation (GVS), it might be possible to ameliorate the blunted responsiveness of degenerated neuronal circuits in patients with degenerative neurological diseases. We evaluated the effects of 24-hour noisy GVS on the long-term heart rate dynamics in patients with multiple system atrophy and on the daytime trunk activity dynamics in patients with either levodopa-responsive Parkinson's disease or levodopa-unresponsive parkinsonism patients. Patients were also examined for cognitive performance by means of a continuous performance test. Short-range or high-frequency fluctuations of the heart rate were significantly increased by the noisy GVS as compared with that by sham stimulation, suggestive of improved autonomic, especially parasympathetic, responsiveness. The long-range anti-persistence of trunk activity patterns probed by an autocorrelation measure was significantly increased by the noisy GVS, suggestive of quickening of bradykinetic rest-to-active transitions. The mean reaction time in the continuous performance test was also significantly decreased by the noisy GVS, without significant changes in either the omission or commission error ratios, which is suggestive of improved motor execution during the cognitive task. Thus, noisy GVS improved the motor and autonomic responsiveness and is effective for ameliorating the symptoms in patients with multiple system atrophy or Parkinson's disease.

**Key words:** stochastic resonance, galvanic vestibular stimulation, parkinsonism, heart rate

緒 言

神経変性疾患では、特定の神経回路網を形成するニューロンが選択的に変性脱落し、しかも再生力の極めて乏しいニューロンを再生させる有効な

<sup>1)</sup> 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

<sup>2)</sup> 同 教育学研究科 総合教育科学専攻 身体教育学

方法がない現状では、残存するシナプス伝達の強化が治療戦略の中心になる。神経伝達物質の補充、分解阻止、アゴニストの投与などの薬物療法はこれを目指したものである。これに対して、神経伝達が電気活動に由来していることから、物理的に神経伝達を強化しようという方法が試みられてきている。末梢神経の直接的な電気刺激や、中枢神経の電気・磁気刺激などはこの範疇にはいる。しかし、これらの試みが非生理的な強い刺激を非選択的に与えることにより、低下した神経伝達の強化をねらっているのに対し、生理的な神経伝達を選択的に賦活できないかという試みがある。此处で述べる方法は、表面電極を通じて、ランダムな微弱電流により前庭神経を非観血的に刺激して、神経変性疾患で神経脱落により低下したシナプス伝達を強化することにより、障害された機能を改善させようとするものである。その根拠となる理論は、確率共振理論であり、非線形システムにおける応答が、適当な強さのノイズを与えることにより促進する、というものである<sup>1)</sup>。非線形システムである神経系のシナプス伝達は、こ

の理論が働く場である。

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<sup>2)~5)</sup>。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。神経伝達は神経細胞の脱分極（発火）により行われるので、閾値を境にした入力信号の強さにより非線形の挙動を示す点では、確率共振の働きうる場である。すなわち、閾値以下の微小な入力信号は神経細胞の発火にはつながらないが、ランダムな広帯域ノイズを同時印加した場合、膜電位が閾値を超える瞬時確率は入力信号の強弱に依存する。しかし、出力信号の信号雑音比（S/N比）は、ノイズ強度が膜電位に届かないほど小さすぎたり、入力信号の強弱に影響されないほど大きすぎたりした場合には低下するので、「出力 S/N 比 vs ノイズ強度」曲線は釣り鐘型になる（図1）。近年、さまざまな生物の感覚器官でこの現象が観察され

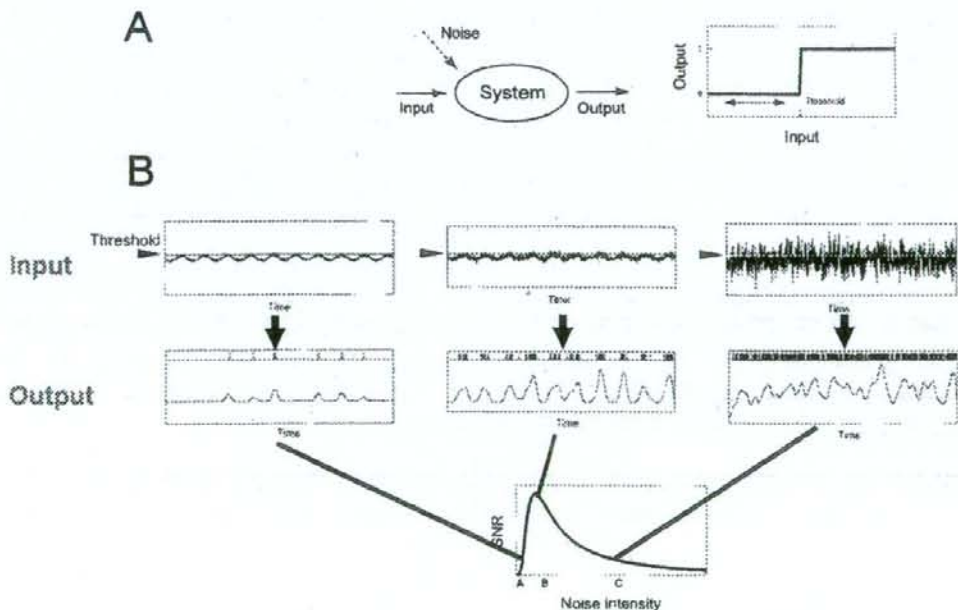


図1 確率共振の概念図。A：非線形システム。B：Aの右図に示した両矢印の範囲のノイズを印加した場合のノイズ強度とSN比。ノイズの強度と共に釣り鐘型のSN比を示す。

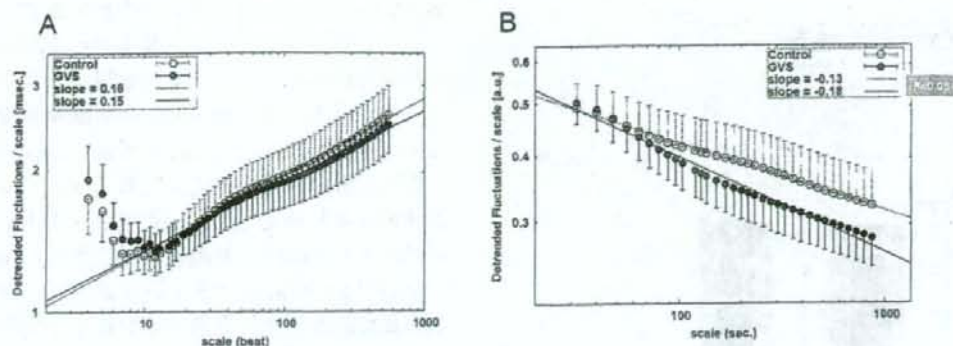


図2 A: MSA患者に対する経皮的前庭電気ノイズ刺激が心拍拍動間隔に及ぼす影響。横軸は変化を観察する区間幅。この値が大きい方が変化速度は遅い。縦軸はその区間に含まれる心拍動間隔ゆらぎの大きさ。通電によって速い心拍変動成分が増加している。黒:ノイズあり, 白:ノイズなし。B:パーキンソン病を呈するMSA患者とパーキンソン病患者の体動に対する経皮的な前庭ノイズ刺激の影響。横軸は変化を観察する区間幅, 縦軸はその区間に含まれる体動の大きさ。この結果では経皮的な前庭電気刺激によって横軸が大きい領域, すなわちゆっくりした変動の成分が減少していることから, 経皮的な前庭ノイズ刺激ではゆっくりした動作の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。(文献17より)

ており, 外部から生体に印加したノイズが個体としての感受性を高めることを示す研究結果が, サリガニの尾の有毛細胞<sup>9)</sup>, コオロギの尾の気流感知細胞<sup>4)</sup>, ヘラチョウザメの捕食行動<sup>17)</sup> やラットの皮膚感覚受容器<sup>8)</sup>などで報告されている。ヒトにおいても, 指先に与えた微細な触覚刺激の弁別課題では, 閾値下のノイズを加えることにより, ノイズレベルに従い, 正答率が一旦上昇し, 過大なノイズで再び低下するという, 確率共振に特有の応答曲線が得られる<sup>9)</sup>。さらに, ヒトの頸動脈圧受容体へのノイズ刺激により心拍応答が高まること, およびそれが確率共振によることを示す証拠が得られている<sup>10)11)</sup>。我々は, 同様の方法が, 重篤な起立性低血圧を主徴とする Shy-Drager 症候群の患者における血圧変動を抑える効果があることも明らかにし<sup>12)</sup>, 神経疾患の治療に応用できる可能性を確認したことが, 今回の研究の先行研究となっている。この他, ヒトの疾患への確率共振の臨床応用研究としては, 聴力の改善<sup>6)13)</sup>, 体性感覚の改善<sup>14)</sup>, 弱視者における視力の改善<sup>15)</sup>などの例がある。

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, 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。個

人差もあるが 1 mA 前後の電流で前庭感覚すなわち身体動揺感を引き起こす。さらに, 前庭神経は, 自律神経中枢や, 小脳との線維連絡をもつ解剖学的位置からして, 体外からの刺激を中枢神経に伝達するには最も適当である。循環系との関連は生理学的にも解剖学的にもよく知られてきた知見であり, 前庭神経核は小脳片葉, 虫部を通じて大脳基底核との線維連絡があるので, 前庭神経核におけるシナプス伝達強化されることにより, 運動機能への影響もあり得る。したがって, シナプス伝達の低下している神経変性疾患の脳で, 前庭神経を通じた神経回路を賦活することにより, 自律神経中枢や運動中枢を間接的に賦活し, 低下した自律機能・運動機能を高めることができる可能性がある。我々は, 健常人を用いた検討をふまえ<sup>16)</sup>, 自律神経や運動機能障害のある神経疾患患者に適用することにより神経症状の改善に役立つのではないかと考え, 多系統萎縮症 (MSA) およびパーキンソン病 (PD) について検討を加えた結果を報告する<sup>17)</sup>。

#### 方法

東京大学医学部附属病院神経内科に入院中の MSA および PD 患者の協力を得て, 耳介後部の乳様突起両側に表面電極を貼付し, 手掌大の刺激

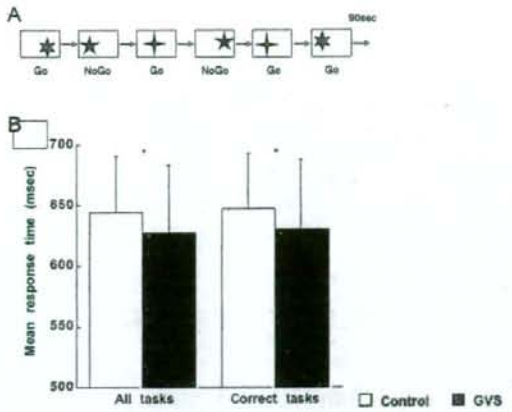


図3：高次脳検査の内容。A：三種類のシンボルの何れか1個が、2秒ごと100ミリ秒間ディスプレイに表示される。シンボルは、それぞれ、Go（ボタンを押す）、NoGo（ボタンを押さない）のいずれかを指示しており、被検者はその指示に従う。B：この検査に対する反応時間がGVSにより、有意に短くなった。正答率には有意差はない。（文献17より）

装置（サイズ112×67×28 mm；プラスチックカバーを含む重量200 gm，デンソー社製）により刺激を行った。電流の波形は、平均0 mVの振幅をもち、強度と方向（+/-）が0.01-2.0 Hzの間で入れ替わる1/fノイズとし、最大強度でも本人にはわからない強度（0.33 mA±0.20 mA）とした。この電流強度は健常者を対象とした先行研究で最大効果の得られた痛覚閾値の60%に対応するものである<sup>10)</sup>。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。通電感覚の有無を試験終了後に全ての被検者に尋ねたが、この刺激強度では、通電、非通電を区別できなかった。また、刺激装置内部に取り付けたスイッチのみによって通電の有無を確認できるようになっており、担当医にも通電の有無を伝えず、完全な二重盲検を実施した。

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、刺激装置と心拍数/体動計測・記録器（AMZ-720，日本光電ウェルネス社製）を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。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。検査の二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（Rupure-Pro; Seiko Instruments）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。

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、運動量の違いによる影響を除外する必要がある。したがって、detrended fluctuation analysis DFA法と呼ばれる手法<sup>18)</sup>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。日中の体幹の動きもDFA法により解析した。

### 結果

前庭電気ノイズ刺激により、心拍数の「速やかな」変化の大きさが増加した（図2A）<sup>17)</sup>。10拍以下のスケールでの解析では、心拍の揺らぎが増加しており、特に4拍前後では呼吸性不整脈を反映していると思われる。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。より大きなスケールでの解析では、図に示す様に10拍から1000拍の広い範囲で、直線的に揺らぎの幅が大きくなっているが、傾きは前庭電気ノイズ刺激により小さくなっている。この傾きは循環調節系の動作不全に起因する揺らぎがもつ傾向特徴を表すので、傾きが小さいことは、揺らぎがよりランダムである白色雑音に近いこと、すなわち微細調節がより正常に近く行われていることを意味する。MSA患者では、自律神経障害により、心拍変動が減少する。したがって、この結果は、前庭電気



ノイズ刺激により自律神経機能が改善したことを示唆する。

一方、PD 患者およびパーキンソン症を呈する MSA 患者の動作について同様の解析を行った結果、前庭電気ノイズ刺激によって傾きが $-0.13$ から $-0.18$ へと小さくなった(図 2 B)。このことは、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を意味し、パーキンソン症に見られるアキネジアが改善した可能性が示唆された<sup>17)</sup>。

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、正答した問題、全ての問題とも有意に短縮した(図 3)。

### 考 察

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。この方法は、電気刺激の不快感なく効果が得られる上に、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。例えば循環応答への効果は、起立性低血圧にはよい効果を及ぼすが、平常血圧の場合には何らの影響も及ぼさない。特に、Shy-Drager 症候群における起立性低血圧に対しては昇圧剤によるコントロールが通常採られる治療法だが、臥位高血圧という副作用がある。GVS では、落ちてしまった循環応答は改善するが、正常な循環応答は修飾しないので、このような副作用は理論的にはおこさないと考えられる。長期的な適用例はないが、これまでの適用例には自覚的副作用は生じなかった。ただし、現在行っている通電強度での改善度は臨床的な快癒が得られるほどのものではなく、薬物療法の補完的治療法としての位置づけであるが、至適強度ではより大きな効果が出る可能性があり、今後の検討課題である。

通常、神経に対して電気刺激を行い、なんらかの効果を得ようとする場合、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増大するというわけではない。実際、定常電流を流すと強い浮動感、眩暈が生ずるのみで、むしろ循環系、運動機能には不利な影響を及ぼす。すなわち、印加した電流は前庭神経の活動を非生理的に上げて臨床像の変化を引

き起こしたのではなく、電流の印加により、生理的な神経伝達効率に変化が生じ、それが神経変性により低下していたシナプス伝達を強化することにより臨床的に好ましい結果を生んだという、確率共振理論に則った作用によると考えられる。これは、直接に神経を過剰興奮させることにより、神経の可塑性変化を引き起こさせることで神経症状を改善させることが目的の電気刺激・磁気刺激法とは異なった作用である。

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、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。このノイズ電流は、「確率共振」という物理現象を理論的根拠としたものだからである。緒言にも述べたように、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させ得ることが近年次々と実験的に示されてきている。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。圧反射の感受性変化は、頸動脈圧受容器へのノイズ印加によって高められることが山本らにより確かめられている<sup>10)11)</sup>。更に、この方法で Shy-Drager 症候群患者の圧反射を高めることができ、起立性低血圧の程度を軽減することができた。

前庭電気ノイズ刺激が圧反射を改善するメカニズムは、前庭器からは頸動脈圧受容器からの信号とともに脳幹の孤束核に神経入力があることが知られている。したがって、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。実際に健康者を対象として前庭神経から電氣的ノイズを加え、圧反射応答が改善すること、しかも釣鐘型の反応曲線を描くことが示されている<sup>10)</sup>。これは定常的な刺激を加えても得られない効果であり、確率共振によって圧反射の応答を向上させたと考えられる。

パーキンソン症に対する効果は、DFA による解析により判定した。この方法は、運動パターンの持続性を解析するもので、値が大きいほど変動の切り替わりが少ないことを表す。GVS により DFA 値が長い時間幅の解析で低下したことは

動作の切り替わりが頻繁であること、動きが活発であることを意味する。臨床的には、パーキンソニズムのアキネジアの評価につながると考えられる。実際、パーキンソン病の患者さんの動きを加速度記録計で長期間記録し、DFAの変法で解析すると、治療前より治療後の方が低い値になることが明らかになった。パーキンソニズムには症状の変動があるが、個々の患者で重症、軽症の時間帯ごとに解析した値も同様の結果であり、運動量の多寡にかかわらず、アキネジアの重症度に相関した値の変化が見られることが分かった<sup>10)</sup>。パーキンソン病患者の日常生活動作を左右する因子の最大のもはアキネジアの重症度であり、GVSによりアキネジアが軽減したことは、患者の自覚にはつながらなくても、転倒予防などの効果があると考えられる。GVSの効果がどのような経路で生じているのかは、圧反射への影響ほど単純ではない。もし、神経回路網を通じての効果であるとすれば、緒言で述べたように、小脳片葉・虫部と大脳基底核に線維連絡があることが示唆される。このことを確かめるには、機能画像などによる検索が必要となる。現在の知見からは直接的な神経回路網の賦活以外の要因も否定することは難しい。

循環応答、パーキンソニズムに対する治療効果の作用機序の解明と同時に、GVSが効果を及ぼす症状、改善の程度、等をより詳細に検討し、治療法としての妥当性を明らかにする必要がある。特にパーキンソニズムにおける転倒予防や、起立性低血圧による失神予防などでは、フィードバック機構に関わる神経回路網のわずかな改善が臨床的改善をもたらすので、GVSのよい適用と考えられる。特に長期的な適用によるこれらの破局的症状に対する予防効果の有無は重要な検討事項である。

## 文 献

- 1) Wiesenfeld, K. & Moss, F: Stochastic resonance and the benefits of noise: from ice ages to crayfish and SQUIDS. *Nature* 373, 33-36, 1995
- 2) Collins, J.J., Chow, C.C. & Imhoff, T.T: Stochastic resonance without tuning. *Nature* 376, 236-238, 1995
- 3) Douglass, J.K., Wilkens, L., Pantazelou, E. et al: Noise enhancement of information transfer in crayfish mechanoreceptors by stochastic resonance. *Nature* 365, 337-340, 1993
- 4) Levin, J.E. & Miller, J.P: Broadband neural encoding in the cricket cercal sensory system enhanced by stochastic resonance. *Nature* 380, 165-168, 1996
- 5) Morse, R.P. & Evans, E.F: Enhancement of vowel coding for cochlear implants by addition of noise. *Nat Med* 2, 928-932, 1996
- 6) Greenwood, P.E., Ward, L.M., Russell, D.F., et al: Stochastic resonance enhances the electrosensory information available to paddlefish for prey capture. *Phys Rev Lett* 84, 4773-4776, 2000
- 7) Russell, E.V. & Israeloff, N.E: Direct observation of molecular cooperativity near the glass transition. *Nature* 408, 695-698, 2000
- 8) Collins, J.J., Imhoff, T.T. & Grigg, P: Noise-enhanced tactile sensation. *Nature* 383, 770, 1996
- 9) Richardson, K.A., Imhoff, T.T., Grigg, P., et al: Using electrical noise to enhance the ability of humans to detect subthreshold mechanical cutaneous stimuli. *Chaos (Woodbury, N.Y)* 8, 599-603, 1998
- 10) Hidaka, I., Ando, S., Shigematsu, H., et al: Noise-enhanced heart rate and sympathetic nerve responses to oscillatory lower body negative pressure in humans. *J Neurophysiol* 86, 559-564, 2001
- 11) Hidaka, I., Nozaki, D. & Yamamoto, Y: Functional stochastic resonance in the human brain: noise induced sensitization of baroreflex system. *Phys Rev Lett* 85, 3740-3743, 2000
- 12) Yamamoto, Y., Hidaka, I., Iso-o, N., et al: Noise-induced compensation for postural hypotension in primary autonomic failure. *Brain Res* 945, 71-78, 2002
- 13) Zeng, F.G., Fu, Q.J. & Morse, R: Human hearing enhanced by noise. *Brain Res* 869, 251-255, 2000
- 14) Liu, W., Lipsitz, L.A., Montero-Odasso, M., et

- al: Noise-enhanced vibrotactile sensitivity in older adults, patients with stroke, and patients with diabetic neuropathy. *Arch Phys Med Rehabil* 83, 171-176, 2002
- 15) Levi, D.M. & Klein, S.A: Noise provides some new signals about the spatial vision of amblyopes. *J Neurosci* 23, 2522-2526, 2003
- 16) Soma, R., Nozaki, D., Kwak, S. et al: 1/f noise outperforms white noise in sensitizing baroreflex function in the human brain. *Phys Rev Lett* 91, 078101, 2003
- 17) Yamamoto, Y., Struzik, Z.R., Soma, R., et al: Noisy vestibular stimulation improves autonomic and motor responsiveness in central neurodegenerative disorders. *Ann Neurol* 58, 175-181, 2005
- 18) Peng, C.K., Havlin, S., Stanley, H.E. et al: Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. *Chaos (Woodbury, N.Y)* 5, 82-87, 1995
- 19) Pan, W., Ohashi, k., Yamamoto, Y. et al: Power-law temporal autocorrelation of activity reflects severity of parkinsonism. *Mov Disord* 22, 1308-1313, 2007

---

原稿到着：平成19年3月2日

別刷請求先：郭 伸

〒113-8655 文京区本郷7-3-1

東京大学医学部附属病院神経内科

E-mail: kwak-tky@umin.net

## 孤発性 ALS と興奮性アミノ酸

日下山 拓人 郭 伸

## はじめに

孤発性 ALS の原因は未解明であるが、現在最有力の仮説がグルタミン酸による興奮性神経細胞死仮説である。長年にわたり AMPA ( $\alpha$ -3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) 受容体を介する神経細胞死が ALS に関与することを示唆する知見が蓄積しており、AMPA 受容体の分子異常が ALS の病因と関連する可能性が論じられてきた。なかでも、われわれのグループによって AMPA 受容体サブユニットである GluR2 Q/R 部位に RNA 編集がおこらない未編集型の GluR2 増加による RNA 編集異常が孤発性 ALS 運動ニューロンに疾患特異的、細胞選択的に生じていることが発見された<sup>1)</sup>。この分子変化がチャネルの  $Ca^{2+}$  透過性亢進により神経細胞死を引き起こす直接原因になり、しかも変異 SOD1 関連家族性 ALS を含めた他の神経変性疾患には生じない<sup>2)</sup>ことから孤発性 ALS の病因であると考えられる。

## 興奮性神経細胞死と孤発性 ALS

運動ニューロンにはグルタミン酸受容体が高密度で発現し<sup>3)</sup>、グルタミン酸による興奮が過剰になると  $Ca^{2+}$  などのイオン透過性亢進を引き起こされ、細胞内環境の変化を補償する機能を越えてしまい、結果として細胞死のカスケードが働く、というのが興奮性神経細胞死のメカニズムである。これは、主に虚血や低血糖、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た<sup>4)</sup>。一方で近年、培養細胞系、*in vivo* 動物実験系で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神経細胞死がおこることが次々と明らかにされ、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った<sup>5,6)</sup>。

グルタミン酸受容体は大きくイオンチャネル型と代謝調節型に分類され、イオンチャネル型は更に NMDA 受容体、カニン酸受容体、AMPA 受容体に分けられる。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与し、運動ニューロンは後者の興奮性細胞死に特に脆弱である。AMPA 受容体を介する神経細胞死は、この受容体チャネルからの過剰な  $Ca^{2+}$  流入に引き続いておこることが培養細胞で明らかにされ<sup>7)</sup>、AMPA 受容体を介する神経細胞死が ALS の神経細胞死に働いていることを示唆するものである。

AMPA 受容体は GluR1-GluR4 の 4 種のサブユニット単独または様々な組み合わせからなる 4 量体で  $Ca^{2+}$  透過性は GluR2 サブユニットが含まれるかどうかにより決まる。GluR2 を 1 個以上含む AMPA 受容体は  $Ca^{2+}$  非透過性で、含まない場合は  $Ca^{2+}$  透過性である。ただし、GluR2 は転写後に Q/R 部位の RNA 編集を受けて初めて  $Ca^{2+}$  非透過性を獲得するので未編集型 GluR2 を含む AMPA 受容体も  $Ca^{2+}$  透過性である。

これらの結果を踏まえ、われわれのグループは神経細胞死に関連する分子変化である GluR2 の減少 ( $Ca^{2+}$  透過性 AMPA 受容体の割合の増加) ないし GluR2 Q/R 部位の編集率低下 ( $Ca^{2+}$  透過性 AMPA 受容体の実質的増加) の有無を ALS の運動ニューロンで検討した。Kwak らは、孤発性 ALS 脊髄前角組織レベルで GluR2 mRNA 発現量に有意な減少がないこと<sup>8)</sup>、そして部位選択的・疾患特異的な GluR2 Q/R 部位の編集率が低下していること<sup>9)</sup>を報告しており、さらに laser microdissector を用いて凍結剖検組織から単一神経細胞を切り出し、孤発性 ALS 脊髄運動ニューロンの単一神経細胞レベルの検討において、GluR2 Q/R 部位の編集率低下が部位特異的、疾患特異的に生じていることを確認した<sup>1)</sup>。図 1 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% と低下していた。ALS 群における小脳 Purkinje 細胞の編集率は、正常対照群と同様にほぼ 100% に保たれていた。また、他の変性疾患である歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症の小脳 Purkinje 細胞を検索したが、編集率は正常対照と同様のレベルによく保たれていた。

ひでやま たくと 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

かくしん 同 准教授