

パーキンソン病治療研究



医療と技術

望月秀樹*

Therapeutic research of Parkinson's disease

Key Words : Parkinson's disease α synuclein Gene Therapy

大阪大学神経内科は、1991年より神経内科と脳卒中科が一緒になり、臨床、研究が大変充実しております。具体的には、脳卒中、免疫疾患、筋疾患、神経病理のグループが活躍しておりますが、パーキンソン病を中心とした神経変性グループも立ち上げ、大変大きな規模の教室となりました。特に臨床面では、急性期治療として救急の脳卒中診療を脳外科とタイアップし、tPA やメルシーを使った intervention まで積極的に取り組んでいます。一方、パーキンソン病を中心とした変性疾患、多発性硬化症などの免疫疾患、筋疾患、末梢神経疾患などの非常に多様な疾患も、それぞれの専門医が中心となり、35床のベッドで対応しております。12人のスタッフと医局員で総勢約30人の教室で指導体制も確立し、神経臨床を学ぶためには最高の環境であると思えます。

研究面では、パーキンソン病など変性疾患の基礎及び臨床研究に加え、多発性硬化症・筋緊張性ジストロフィー症などの基礎研究や、血管障害のグループによる臨床、基礎研究など、多くの分野で活躍しております。これらの研究グループがより一層飛躍できるようにサポートしたいと考えております。私自身は、今まで一貫してパーキンソン病の臨床と基礎研究を推進してきました。主にウイルスベクターを用いた遺伝子改変動物の作成や、遺伝子導入によ

る治療研究などを行って参りました。基礎研究としては、NIHのRoscoe O Brady博士のもとで、代謝性疾患における遺伝子治療の現状を学び、第二世代のレンチウイルスベクターの開発に携わりました (Mochizuki H et al. J Virol 1996)。現在のレンチウイルスベクターの進歩をみると感慨深いものがあります。

パーキンソン病遺伝子治療、再生医療研究

具体的に、私が進めてきたパーキンソン病の治療研究について紹介します。パーキンソン病の細胞死にミトコンドリア呼吸鎖の障害が知られていましたが、その細胞死の過程でカスパーゼが関与していることが当時報告されました。ミトコンドリア呼吸障害からミトコンドリア膜ポテンシャルの低下をきたし、それによりミトコンドリアからチトクロームCの漏出を引き起こし、Apaf-1、カスパーゼ9を介し、下流のカスパーゼ3を活性化することにより導かれるアポトーシスを引き起こす系がパーキンソン病の細胞死に関与していることを疑い、それを制御するApaf-dominant negativeのCARD遺伝子をコードするAAV vectorをマウス黒質に投与した後にMPTPを全身投与しました。遺伝子導入した側のみに細胞死を抑えることに成功し、この結果からパーキンソン病の細胞死にはミトコンドリアを介したカスパーゼの系が重要であることを示しました (Mochizuki H et al. PNAS 2001)。次に常染色体劣性遺伝若年発症型家族性パーキンソニズム (Autosomal recessive juvenile Parkinsonism: ARJP) のひとつPARK2の原因遺伝子産物であるParkinに注目しました。Parkinは、ユビキチン・プロテアソームシステムを構成するE3ユビキチンリガーゼの一種であることが知られています。PARK2はParkinの機能損失により引き起こされるとされており、その基質蛋白質の



* Hideki MOCHIZUKI

1960年8月生
順天堂大学 医学部卒業 (1985年)
現在、大阪大学大学院医学系研究科 医学 神経内科学 教授 医学博士
臨床神経学 遺伝子治療 再生医療
TEL : 06-6879-3571
FAX : 06-6879-3579
E-mail : hmochizuki@neuro.med.

osaka-u.ac.jp

蓄積がドパミンニューロン変性の原因と考えられています。Parkin 遺伝子を用いた Parkin 変異による家族性パーキンソン病に対する治療法は、変異遺伝子にかわる正常遺伝子を導入するという遺伝子治療です。しかも病変は、黒質に限局しているため遺伝子導入による治療効果は充分期待できます。一方で、Parkin の遺伝子治療は動物実験ではあるが MPTP モデルや 6-OHDA モデルでも治療効果が海外から報告されていました。我々も、AAV ベクターでコードされた α シヌクレイン遺伝子を黒質ドパミン神経細胞に過剰発現することにより片側のパーキンソン病モデルに、Parkin 遺伝子を AAV ベクターで黒質同時投与する事により病理所見の改善、運動効果の改善を確認しました (Yamada M et al. Hum Gene Ther. 2005)。家族性パーキンソン病患者さんのみならず孤発型パーキンソン病患者さんにも有用な治療法と期待されました。我々のグループでは霊長類を用い、parkin 遺伝子導入の治療効果や安全性を検討中であり、将来的に臨床応用すべく研究を続けています。しかし神経細胞の著明脱落のみられる進行例では遺伝子導入だけでは症状の改善が難しく、Parkin 遺伝子を導入した細胞移植を iPS 細胞を用いて検討しています。Parkin 欠損の患者 iPS 細胞は慶応大学との共同研究ですでに作製し報告されています (Imaizumi et al. Mol Brain 2012) が、ミトコンドリア異常など病的な変化を備えているのが特徴です。今後は、これらを遺伝子導入する事で正常化し、治療用の細胞に改変し導入する予定です。

パーキンソン病と神経炎症

また、黒質の細胞死の機序に関しても neuroinflammation が関与することを inflammasome の制御 (Furuya et al. J Neurosci 2004) から証明してきました。現在さらに、免疫系を制御することで、治療面からのアプローチを検討しています。PD の病態には α シヌクレインの凝集及びミトコンドリア機能異常が重要な役割を果たすことが知られていますが、興味深い事に、損傷したミトコンドリア由来の活性酸素種やアミロイド A β などの凝集蛋白がインフラマゾーム活性化に関与することが示されています。したがって PD の炎症機転にミクログリアのインフラマゾームが関与している可能性が示唆されるため、我々は、まだ明らかになっていない PD の炎症病態

におけるインフラマゾームの関与を解明し、neuroinflammation の制御による新たな神経保護療法の実現を目指しています。すでに、神経免疫グループが免疫系の研究室と多数共同研究を行なっています。これは、大阪大学生体統御ネットワーク医学教育プログラムのひとつのテーマとしても取り扱います。

α シヌクレイン凝集機構に関する研究

基礎研究では、孤発性パーキンソン病の発症機序の解明が、大きなテーマです。最近では、パーキンソン病の初期の症状として嗅覚障害や、便秘などが考えられています。それに相応して、パーキンソン病の発症早期より外界と接している嗅球や腸管の神経叢に α シヌクレインが蓄積していることも確認されています。そのために、パーキンソン病の発症機序として、環境因子説が再燃しています。我々は、動物モデルや剖検例などから嗅球の α シヌクレインに蓄積する機序や細胞死などの検討を行なっています。近年、これらを含む神経変性疾患の初期病変として、シナプスレベルでの障害が報告されています。 α シヌクレインは神経終末に豊富に存在し、一部はシナプス小胞膜に結合しています。 α シヌクレインの機能については不明な点が多いのですが、シナプスレベルでは神経終末 buttons におけるシナプス小胞プールのサイズ、神経伝達物質放出に関与する SNARE 複合体形成、シナプス小胞移動に必要なアクチンフィラメントの動態といった制御にかかわっており、神経伝達物質放出や神経可塑性に重要な役割を担うと考えられています。Burréらは、 α シヌクレインを過剰発現させた PD モデルマウスにおいて、線条体での α シヌクレインの蓄積に伴い、神経伝達物質放出に必要とされる SNAP-25, syntaxin-1, synaptobrevin-2/VAMP-2 といった SNARE 複合体構成蛋白質の局在が変化し、ドパミンの放出が低下すること、さらに剖検 PD 脳でもこれら蛋白の凝集が観察されたことが知られており、 α シヌクレインによる SNARE 複合体形成の制御異常が、 α -synucleinopathy に分類される PD の病態発現に深く関与していることが示唆されています。共同研究者である北里大学医学部の高橋正身教授らは、PKC を介した神経伝達物質の開口放出促進に SNAP-25 の Ser¹⁸⁷ のリン酸化が重要であり、Ser¹⁸⁷

をAlaに置換しPKCによるリン酸化を受けないSNAP-25変異マウスを作成し、神経伝達物質の放出が低下することを報告されました。我々は、SNAP-25変異マウスにおいて線条体での α シヌクレイン局在様式の変化を確認しました(図1)。この凝集は、何とドーパミン神経細胞には確認できずグルタメート作動性神経細胞のシナプスのみに確認されました(Nakata et al. J Neurosci 2012)。現在その細胞間での凝集機序の違いについて検討しています。また、CREST(山下班)のサポートを受けて神経変性における神経回路修復に関する検討を、神経変性疾患のモデル動物を用いて研究を進めているところです。具体的には、いくつかの神経回路修復を促進・抑制する分子を用いて変性疾患の治療法の開発に取り組みます。

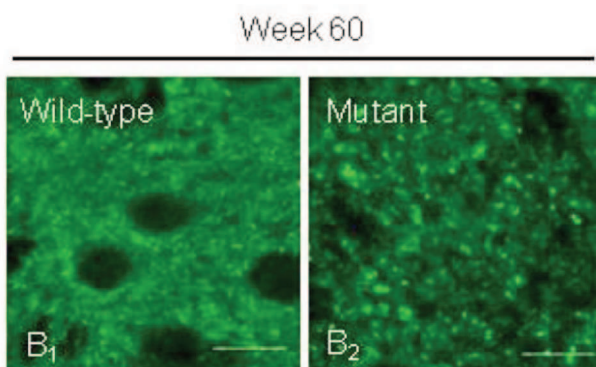


図1

α -シヌクレインがパーキンソン病の発症に深く

関わるとする論文は多いが、その構造や機能、凝集のメカニズムについてはよくわかっていません。これまで α -シヌクレインはunfoldedなモノマーと考えられていましたが、最近になって、細胞内では4量体として安定に存在すると報告されたことが注目されており、我々も今後は α -シヌクレインの構造解析にも共同研究にて推進したいと考えております。

パーキンソン病の臨床研究

臨床研究では、動作解析をパーキンソン病で行い、その機序を解明するためfMRI, NIRSなどを用いて研究を開始し、脳神経制御外科学との共同研究で脳磁気刺激の治療効果も検討しています。

まとめ

これまで述べたように、今後は当教室において、パーキンソン病の発症機序や治療に関する研究にも力を入れて行く所存です。具体的にはグリアと神経細胞死の関連や、症状進展に関するグリア系の関与について解明し、それらを制御する方法を検討し、パーキンソン病の進行抑制の治療法開発も含め、研究を推進したいと考えております。パーキンソン病は治療薬が多数開発されていますが、基本的には補充療法が主体で、進行を抑制するような治療法はありません。海外でやっと進行を抑制する遺伝子治療が開始された段階ですので、それらの結果を慎重に吟味して、患者さんに貢献できるような治療研究を進めていきたいと思っております。

