

# 筋萎縮性側索硬化症の新規原因遺伝子 Optineurin 変異による モデルマウスの作成

広島大学 原爆放射線医科学研究所 分子疫学研究分野  
丸山 博文

## 1. はじめに

### 緒言

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis; ALS) は運動ニューロンが特異的に変性脱落し、筋力低下・筋萎縮をきたす。根本的な治療法は開発されておらず、人工呼吸器などのサポートがなければ発症後 3～5 年で死亡する予後不良の難病である。近年、原因遺伝子の同定から病態機序の解明をはかる方法がその他の神経変性疾患において有効であり、ALS においても新規原因遺伝子の同定が必須であると考えられている。

われわれは新たな手法を用いて ALS の原因遺伝子として Optineurin (OPTN) を同定した (Nature 465, 223-226, 2010)。OPTN は炎症や発癌との関連が精力的に研究されてきたが、これまで ALS と OPTN の関連はまったく想定されていなかった。OPTN の機能を解析することにより、ALS の発症機序解明のブレイクスルーがもたらされるものと考えられる。

機能的に OPTN は NF- $\kappa$ B の活性を抑制するが、ALS 変異により抑制効果は消失する。また変異により細胞内分布も変化することが判明している。さらに自然免疫に関係する IRF3 (interferon regulatory factor 3) の活性化を、生理的には OPTN は抑制するが、ALS の変異により抑制効果が消失することを明らかにした。

一方ヒト病理標本における検討では、OPTN 変異例において抗 OPTN 抗体陽性の細胞質内凝集体様構造物が存在し、ゴルジ装置の断片化が増加することが確認されている。遺伝歴のない孤発性の ALS 症例において、抗 OPTN 抗体陽性の細胞内封入体や細胞体および軸索の抗 OPTN 抗体による染色性の亢進が認められている。さらに *SOD1* (Superoxide dismutase 1) 変異や *FUS* (fused in sarcoma) 変異陽性の家族性 ALS の細胞内封入体も抗 OPTN 抗体が陽性であることが確認されている。これらのことは optineurin が ALS 発症のメカニズムに深く関わっている事を示唆するものである。

### 目的

ALS の発症機序に対する Optineurin の関わりを検討するため本遺伝子の変異を有するモデルマウスを作成する。

## 2. 方法

Optineurin 遺伝子のノックアウトマウスを作成し、病態 (筋力低下・筋萎縮・生存曲線) を観察する。筋力低下・筋萎縮の有無については体重・活動量 (ALSTDI の Neurological score など) で評価する。ALS の病態を反映するモデルが作成できた場合、病理所見の確認や治療候補薬の投与による効果を判定する。病理所見としては運動ニューロンの変性・脱落、封入体の評価、抗 OPTN 抗体による染色性の評価、ゴルジ装置の評価を行う。このノックアウトマウス由来の MEF (mouse embryonic fibroblast) を作成し、各種抗体の評価や生化学的実験に使用する。

### 3. 結果

現在のところノックアウトマウスはF2ホモ個体が3匹、ヘテロ個体は9匹存在する。20週経過した時点でALSの病態を示す個体は存在しない。

MEF細胞は作製済みであり、今後生化学的実験に使用する予定である。

### 4. 考察

ALSの自然経過としては中年期以降の発症であるため、マウスにおいても後期に発症するものと考えられる。従って20週ではまだ発症しないことは十分予測される。今後飼育を継続するとともに交配を重ねホモ個体数を増やし、症状の発現について観察する必要がある。

またOptineurin遺伝子のみのノックアウトではALSを発症しない可能性もあり、その場合はSOD1トランスジェニックマウスなど、その他のALS原因遺伝子の変異マウスとかけあわせて病態を観察する。さらにヒトでALSの原因となっている変異を導入したノックインマウスを作成し、病態の観察をする必要があると考えている。

最後になりましたが、アステラス病態代謝研究会より貴重な研究助成金を交付いただきましたことにお礼を申し上げます。

### 5. 発表論文

1) KW Snapinn, EB Larson, H Kawakami, H Ujike, AR Borenstein, Y Izumi, R Kaji, H Maruyama, IF Mata, H Morino, M Oda, DW Tsuang, D Yearout, KL Edwards, CP Zabetian.

The *UCHL1* S18Y polymorphism and Parkinson's disease in a Japanese population.

Parkinsonism & Related Disorders, 17, 473-475, 2011.

2) Hidefumi Ito, Kengo Fujita, Masataka Nakamura, Reika Wate, Satoshi Kaneko, Shoichi Sasaki, Kiyomi Yamane, Naoki Suzuki, Masashi Aoki, Noriyuki Shibata, Shinji Togashi, Akihiro Kawata, Yoko Mochizuki, Toshio Mizutani, Hirofumi Maruyama, Asao Hirano, Ryosuke Takahashi, Hideshi Kawakami, Hirofumi Kusaka.

Optineurin is co-localized with FUS in inclusions of basophilic inclusion body disease.

Acta Neuropathologica, 121, 555-557, 2011

3) Katsunobu Sugihara, Hirofumi Maruyama, Masaki Kamada, Hiroyuki Morino, Hideshi Kawakami. Screening for OPTN mutations in amyotrophic lateral sclerosis in mainly Caucasian.

Neurobiology of Aging, 32, 1923.e9-1923.e10, 2011

4) Hidefumi Ito, Masataka Nakamura, Osamu Komure, Takashi Ayaki, Reika Wate, Hirofumi Maruyama, Yoshimi Nakamura, Kengo Fujita, Satoshi Kaneko, Yoko Okamoto, Masafumi Ihara, Tetsuro Konishi, Kazumasa Ogasawara, Asao Hirano, Hirofumi Kusaka, Ryuji Kaji, Ryosuke Takahashi, Hideshi Kawakami.

Clinicopathologic study on an ALS family with a heterozygous E478G *optineurin* mutation.

Acta Neuropathologica, 122, 223-229, 2011

5) E Tanaka, H Maruyama, H Morino, H Kawakami.

Detection of large expansions in SCA8 using a fluorescent repeat-primed PCR assay.

Hiroshima Journal Medical Sciences 60, 63-66, 2011.

6) Takemasa Sakaguchi, Takashi Irie, Ryoko Kawabata, Asuka Yoshida, Hirofumi Maruyama, Hideshi Kawakami.

Optineurin with amyotrophic lateral sclerosis-related mutations abrogates inhibition of interferon regulatory factor-3 activation.

Neuroscience Letters, 505, 279-281, 2011

7) Hiroki Ueno, Keitaro Kobatake, Masayasu Matsumoto, Hiroyuki Morino, Hirofumi Maruyama, Hideshi Kawakami.

Severe brain atrophy after long-term survival seen in siblings with familial amyotrophic lateral sclerosis and a mutation in the optineurin gene: a case series.

Journal of Medical Case Reports, 5, 573, 2011

8) 丸山博文、川上秀史

OPTN の生理機能と ALS における病態

Clinical Neuroscience 29: 1038-1039, 2011

9) 丸山博文

筋萎縮性側索硬化症の新規原因遺伝子 optineurin の同定

臨床神経学、印刷中

10) 丸山博文、川上秀史

新たな原因遺伝子 optineurin

脳21、印刷中