



特 集 ■ ALS—研究と診療の進歩

ALS と神経栄養因子

—新規神経栄養因子・神経再生因子としての HGF

ALS and Neurotrophic Factors

—HGF as a Novel Neurotrophic and Neuroregenerative Factor

船 越 洋* 大谷若菜* 角山圭一* 中村敏一*

Hiroshi Funakoshi*, Wakana Ohya*, Keiichi Kadoyama*, Toshikazu Nakamura*

Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease characterized by progressive loss of motoneurons and their axons. Although a variety of responsive mutations in superoxide dismutase-1 (SOD1) have been identified in familial cases, more than 90% of ALS cases are sporadic. Therefore, the most beneficial approach to treatment would be to find the common pathological pathway that functions in both familial and sporadic cases during disease onset and progression. Neurotrophic factors may function to prevent the neuronal death and axonal degeneration in ALS that is thought to be the result of aberrant apoptotic cell death. Here we summarize the potential role of classical neurotrophic factors in ALS. We also describe the potential role of hepatocyte growth factor (HGF), a novel neurotrophic factor, in retarding the progression of the disease in a transgenic mouse model expressing SOD1^{G93A} (G93A). In addition to direct neurotrophic activities, HGF functions on the astrocytes of G93A mice to maintain levels of EAAT2, a glial-specific glutamate transporter that might be responsible for the reduction of glutamatergic neurotoxicity of motoneurons. Furthermore, HGF is capable of reducing astrocytosis and microgliosis accumulation, and thus supports the attention of a glial-dependent mechanism of ALS progression. Although it is a challenging issue, recent advancements in the elucidation of the role of neurotrophic factors in ALS raise the possibility of their use in the treatment of ALS and related disorders.

Key words : amyotrophic lateral sclerosis (ALS), hepatocyte growth factor (HGF), c-Met, neurotrophic, gliosis

はじめに

神経栄養因子の歴史は、神経成長因子 (nerve growth factor: NGF) の発見に始まる。NGF は増殖因子の中でも初めての因子として Rita Levi-Montalcini 女史により発見され、生化学者 S. Cohen の協力のもと液性因子 (NGF) の精製に成功する。Rita Levi-Montalcini 女史はこの発見により S. Cohen とともにノーベル医学生理学賞を受賞している。これをきっかけに現在まで多くの神経栄養因子が同定されているが、神経栄養因子の基本生

物活性は、NGF で初めに同定された神経細胞生存促進活性と神経突起伸張活性である。

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) は、運動ニューロンとその軸索の変性を主病態とする致死性神経変性疾患で、家族性 ALS (FALS) と孤発性 ALS (SALS) に分類される。前者は約 10% で、原因遺伝子として superoxide dismutase-1 (SOD1)¹⁾ および ALS2²⁾ が同定されているが、残り約 90% は SALS に分類され、原因不明である。米国では大リーガーの鉄人と呼ばれた Lou Gehrig 選手がこの疾患に罹患して、あっという間に亡くなったことから、ゲーリック病とも

* 大阪大学大学院医学系研究科生化学・分子生物学講座分子再生医学分野〔〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2, B-7〕 Division of Molecular Regenerative Medicine, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2 Yamadaoka, Suita-shi, Osaka 565-0871, Japan

呼ばれている神経変性疾患の中でも最も重篤な疾患の1つであり、この疾患を克服できたら他の神経変性疾患も順次克服できるものと考えられている。特に孤発例が大部分を占めるALSはその治療法開発に難渋しており、現時点で有効な治療法がないのが実情である。原因は依然明らかではないものの、FALSとSALSは最終的に運動神経細胞とその神経線維の変性が起こる点で共通している。そこでFALSとSALSに対する治療戦略には、両者の共通病態である神経細胞死抑制と、神経ネットワークの再建にアプローチすることが有利と考えられている。神経栄養因子が神経疾患、中でもALSで特に注目されるのは、この点に理由がある。

本稿では、FALSとSALSの共通病態改善に有望として注目されている神経栄養因子の基本活性と、最近になり明らかとなった新たな生物活性、ならびに最近top journalsに掲載され世界的に注目されている、新しい方法による神経栄養因子臨床試験 (clinical trial) の代表例について紹介する。加えて従来の神経栄養因子活性と異なる、独自の活性を持つ新しい神経栄養因子・神経再生因子としての肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor: HGF) について、ALS治療貢献への可能性について紹介する。

I. ALSと神経栄養因子

神経栄養因子は、強力な神経細胞生存促進活性と神経突起伸張促進活性を持つことからFALSとSALSの共通の治療薬となるものと期待され、世界中の研究者が競って神経栄養因子によるALS治療研究が行われてきた^{3,4)}。歴史的には神経栄養因子の中でも代表格にあたる脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF) の、米国におけるALS患者への臨床試験においてPhase II studyが成功したことを受けて、多数の神経栄養因子について、ALS治療へ向けた研究が精力的になされた。以後、神経変性疾患の中でもALSが神経変性疾患治療の代表疾患として、積極的に研究が続けられている。

一方で、米国で最終的にBDNFの皮下注射によるALS患者に対するPhase III studyで、有効性が証明されなかったことを受けて神経栄養因子治療に失望する声も聞かれるようになった。

それにもかかわらず、神経栄養因子の強力なポテンシャルに期待して、投与方法の変更を含めて神経変性疾患に対する神経栄養因子のhuman trialが次々と精力的に開始されており、神経栄養因子治療への期待は大きい。

最近ではALS以外の神経変性疾患患者へも、順次臨床試験の適用が拡大されつつあり、非常にホットな領域である。

ここではまず初めに、ALSを中心に神経変性疾患への適用が期待されている神経栄養因子について、その基本活性とこれまで行われてきた神経栄養因子治療例を紹介する。

1. 神経栄養因子、その受容体と基本生物活性

既知、および最近神経栄養活性が明らかになった因子をTable 1に示す。神経栄養因子にはNGFを代表とするニューロトロフィンファミリーをはじめとして、グリア細胞由来神経栄養因子 (GDNF) ファミリー、毛様体神経節栄養因子 (CNTF)、カルディオトロフィン-1 (CT-1)、インターロイキン-6 (IL-6) スーパーファミリー、インシュリン様成長因子ファミリー、TGF- β およびHGFファミリーがある。神経栄養因子と受容体の対応関係を代表例について図示し概説する (Fig. 1)。

1) ニューロトロフィン

NGFを代表とするニューロトロフィンファミリーメンバーとしてNGF, BDNF, neurotrophin-3 (NT-3) および neurotrophin-4 (NT-4) が知られている。それぞれ特異的受容体 (チロシンキナーゼ型受容体) であるTrkA, TrkBもしくはTrkCと高親和性に結合し、生存・神経突起伸張促進活性を示す (Fig. 1 A 左図)¹⁾。この際ニューロトロフィンの各メンバーは、p75NTRと低親和性に結合する (Fig. 1 A 左図)²⁾。魚類においてはNGFの一部に正電荷のアミノ酸配列が挿入されたNT-6, およびNT-7がクローニングされているが、哺乳類でこれに対応するニューロトロフィンは同定されていない³⁾。この中でもBDNFに加えてNT-4が運動ニューロン栄養因子として、ALSへの適用の可能性が期待されている⁵⁾。

一方で、当初NGFに対する低親和性受容体として同定されたp75NTRは、sortilin (SORT1) とともにNGF前駆体 (Pro-NGF)、もしくはBDNF前駆体 (Pro-BDNF) と結合すると、ニューロトロフィンの通常示す神経細胞生存促進活性とは正反対の生物活性である細胞死誘導活性を示すことが明らかとなった (Fig. 1 A 右図)⁶⁾。このことは、NGFやBDNFが前駆体からプロセシング (切断) される段階の調節が生と死のシグナルを反転させる意味で重要である。したがって神経変性疾患治療目的には、あらかじめプロセシングを終了したリコンビナント蛋白質、もしくは成熟型のニューロトロフィン遺伝子を用いた治療が有利である。また、p75NTRは

Table 1 神経栄養因子の種類

ニューロトロフィンファミリー
NGF (nerve growth factor, 神経成長因子) * +
BDNF (brain-derived neurotrophic factor, 脳由来神経栄養因子) * +
NT-3 (neurotrophin-3, ニューロトロフィン-3/HDNF/NGF2) * +
NT-4 (neurotrophin-4, ニューロトロフィン-4/NT-5) * +
NT-6 (neurotrophin-6, ニューロトロフィン-6) (魚類のみ) *
NT-7 (neurotrophin-7, ニューロトロフィン-7) (魚類のみ) *
CNTF, CT-1, IL-6 スーパーファミリー
CNTF (ciliary neurotrophic factor, 毛様体神経節栄養因子) * +
LIF (cholinergic differentiation factor, コリン作動性因子/CDF) * +
CT-1 (cardiotrophin-1, カルディオトロフィン-1) * +
IL-6 (interleukin-6, インターロイキン-6) * +
インシュリン様成長因子
IGF-I (insulin-like growth factor-I, インシュリン様成長因子-I) * +
IGF-II (insulin-like growth factor-II, インシュリン様成長因子-II) * +
GDNF ファミリー
GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor, グリア細胞由来神経栄養因子) * +
NTN (neurturin, ナーチュリン) * +
ARTN (artemin, アルテミン) * +
PSPN (persephin, パーセフィン) * +
HGF ファミリー
HGF (hepatocyte growth factor, 肝細胞増殖因子) * +
HLP (HGF-like protein/MSP) * +
Livertine (リバーチン) (カエルのみ)
TGF- β
TGF- β 1 (transforming growth factor- β 1) * +
TGF- β 2 (transforming growth factor- β 2) * +
TGF- β 3 (transforming growth factor- β 3) *
FGF ファミリー
FGF-2 (basic fibroblast growth factor, 塩基性線維芽細胞成長因子/bFGF) * +
FGF-5 (fibroblast growth factor 5, 線維芽細胞成長因子-5) * +
Serpin ファミリー
PEDF (pigment epithelium -derived factor, 色素上皮由来因子)
その他
VEGF (vascular endothelial growth factor, 血管内皮細胞増殖因子)
Midkine (ミドカイン) * +
Plasminogen (プラスミノゲン) * +
ADNF (activity-dependent neurotrophic factor) * +

* : *in vitro* で神経生存促進活性の報告があるもの。

+ : *in vivo* で神経生存促進活性の報告があるもの。

Nogo 受容体 (NogoR1) および Lingo-1 と結合することで、ニューロトロフィンと正反対の神経突起伸長抑制作用を持つことが明らかにされている^{6,7)}。

人工神経栄養因子 (pan-neurotrophin-1)

ニューロトロフィンの各メンバー-NGF, BDNF と NT-3 の部分配列を組み合わせることで、遺伝子工学的に人工合成した人工神経栄養因子 (pan-neurotrophin-1; キメラニューロトロフィン) は, TrkA, TrkB, TrkC

のいずれの受容体とも結合可能で, 1つの分子で NGF, NT-3 および BDNF のすべての活性を示し, そのことで複数のニューロトロフィンに依存する末梢神経の神経再生を, *in vivo* で促進することを筆者らは明らかにした^{3,8)}。ニューロトロフィン以外の神経栄養因子を含め, 人工神経栄養因子の研究が進めば, 将来 ALS に最適な活性を有した, より理想的な人工神経栄養因子を ALS に適用できる日が来るかもしれない。

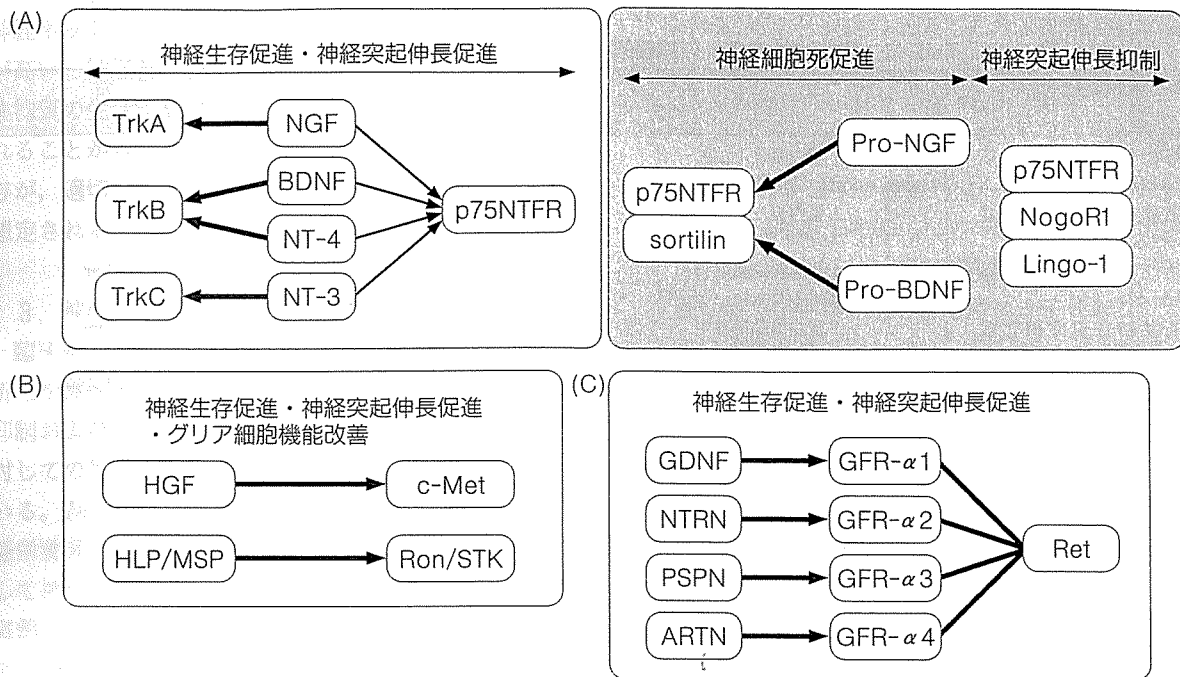


Fig. 1 神経栄養因子, その受容体と生物活性 (船越他, The Frontiers in Medical Science, in press より改変)

2) HGF ファミリー

HGF は、はじめ初代培養肝細胞に対する増殖活性をもとに、精製・クローニングされた増殖因子である^{9,10,11}。1995年、本田らにより海馬ニューロンに対する生存促進活性が明らかになって以来、種々の神経細胞に対する強力な神経栄養因子であることが明らかとなっている¹²⁻¹⁵。HGFはチロシンキナーゼ型受容体であるc-Metに結合して、またファミリー因子であるHGF-like protein/macropage stimulating protein (HLP/MSP)はRonに結合し、各々細胞内にシグナルを伝達する (Fig. 1 B)^{9,11,16}。HGFは強力な運動神経栄養活性を基盤として、神経引き抜き損傷¹⁷、ALS¹⁸や脊髄損傷¹⁹に著効することが動物実験で明らかとなっている。発生過程においても、運動ニューロンおよび正常筋肉形成にHGF/c-Metシグナルが必須である²⁰ことから、HGFは生理的な運動ニューロン栄養・再生因子と期待されている。

3) GDNF ファミリー

グリア細胞由来神経栄養因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor: GDNF) はパーキンソン病の夢の治療薬として、中脳ドーパミン作動性神経細胞に対する *in vitro* 神経細胞生存促進活性をもとに精製・クローニングされた分子であるが、そのファミリーには neurturin (NTRN), artemin (ARTN), persephin (PSPN) が同定されている。各メンバーはいずれも、チロシンキ

ナーゼ型受容体である Ret を介して細胞内シグナルを伝達するが、直接 Ret に結合せずそれぞれの特異的受容体コンポーネントである GFR-α1, GFR-α2, GFR-α3, もしくは GFR-α4 を介して Ret と結合し、シグナル伝達する (Fig. 1 C)。

2. 神経栄養因子の *in vitro* および *in vivo* における生物活性

神経栄養因子の *in vitro* の活性は、NGF 発見後初期から明らかとされてきた。これについては神経細胞生存促進活性、神経突起伸張活性、神経伝達物質の生合成促進活性等、さまざまな報告があるが、実際 *in vivo* で神経細胞生存に必須であることの初めての証明は、NGF を投与すると交感神経節が大きくなり、交感神経細胞数が増加するのに対して、NGF の低親和性受容体 p75NTR の抗血清を投与すると、交感神経節細胞が大幅に減少・死滅することが示された報告である。さらにヒトへの投与に関しては、NGF がスウェーデンにおいてアルツハイマー病患者の 1 例に投与されたのが最初である²¹ (Table 2)。以後、神経細胞生存促進活性、神経突起伸張活性や sprouting 促進活性、さらには神経伝達物質生合成酵素の産生促進活性についても、*in vivo* でニューロトロフィンをはじめとして、さまざまな神経栄養因子で明らかとなっている⁵。

一方で、神経栄養因子はその機能改善と神経ネット

Table 2 神経変性疾患への神経栄養因子適用例とそのプラン例

神経栄養因子	ヒト神経変性疾患名	患者数と投与方法	実施国名	文献
BDNF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質皮下注射 (Phase I and II/282 例)	米国	Bradley et al, Ann Neurol, 1995
BDNF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質皮下注射 (Phase III/748 例+Placebo 387 例)	米国	The BDNF study group, 1999
BDNF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質脳髄液中 injection (Phase I/II trial/25 例)	ドイツ	Ochs et al, Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord, 2000
BDNF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質脳髄液中 injection (Phase II/III study/10 例)	ドイツ	Beck et al, Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord, 2005
CNTF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質皮下注射 (Phase I)	米国	No authors listed, Clin Neuropharmacol, 1995
CNTF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質皮下注射 (Phase II-III randomized/total 730 例)	米国	No authors listed, Neurology, 1996
CNTF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質皮下注射 (447 例+Placebo 123 例)	米国	Miller et al, Ann Neurol, 1996
CNTF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	カプセル化した CNTF 発現細胞の眼球内移植 (Phase I/6 例)	スイス	Aebischer et al, Nat Med, 1996
CNTF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質脳脊髄液中 injection (Phase I/4 例)	米国	Penn et al, Neurosurgery, 1997
GDNF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質脳室内投与 (Phase I study)	米国	Mitsumoto et al, Muscle Nerve, 1999 (review)
IGF-1	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質皮下注射 (Double blind/total 266 例)	米国	Lai et al, Neurology, 1997
IGF-1	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質皮下注射 (124 例+placebo 59 例)	米国	Borasio et al, Neurology, 1998
IGF-1	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質髄腔内注射 (9 例)	日本	Nagano et al, J Neurol Sci, 2005
IGF-1	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質髄腔内注射 (現在米国で Phase III)	米国	Traynor et al, Neurology, 2006
HGF	筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	リコンビナント蛋白質 injection (日本でプランされることが期待)	日本	Sun, Funakoshi et al, J Neurosci, 2002
NGF	アルツハイマー病	リコンビナント蛋白質脳室内投与 (1 例)	スウェーデン	Seiger et al, Behav Brain Res, 1993
NGF	アルツハイマー病	NGF 発現細胞の脳内移植 (Phase I/8 例)	米国	Tuszynski et al Nat Med, 2005
GDNF	パーキンソン病	リコンビナント蛋白質脳内 injection (Phase I/5 例)	イギリス	Love et al, Nat Med, 2006
GDNF	パーキンソン病	リコンビナント蛋白質脳内 injection (Phase I/5 例)	イギリス	Gill et al, Nat Med, 2003
CNTF	ハンチントン病	カプセル化した CNTF 発現細胞の脳室内移植 (Phase I/6 例)	フランス/スイス	Bloch et al, Hum Gene Ther, 2004
CNTF	色素性網膜炎	カプセル化した CNTF 発現細胞の眼球内移植 (Phase I/10 例)	米国	Sieving et al, PNAS, 2006

ワークを再建するのに貢献するものの、神経細胞数自体の改善には直接的には貢献できないと考えられてきた。神経細胞は分裂・増殖しないため、いったん神経細胞数が減少した際には神経細胞数を回復させられない点で、神経栄養因子治療には限界がある可能性が示唆されてきた。しかし最近になり、神経栄養因子の一部が神経細胞生存・神経突起伸張促進活性に加えて、神経新生を促進できることが明らかとされ注目されている。霊長類においては長い間 *in vitro* における神経新生は可能だが *in vivo* では難しいとされてきたため、もし *in vivo* で神経新生を促進できたら、いったん減少した神経細胞数を増

加させることができる可能性があるため、画期的である。神経新生に関連して、増殖因子である EGF や FGF2 が神経幹細胞の増殖 (early neurogenesis) を促進する活性を持つことが報告されているが、FGF2 はその後の神経細胞への分化 (late neurogenesis) を抑制することが報告されている。神経栄養因子、例えば CNTF, GDNF, IGF-1 および IGF-2 は、まさに FGF-2 による late neurogenesis 抑制を解除し、神経新生を *in vivo* で促進する活性を持つことが報告され注目されている²²⁾。今後、この活性をさらに高め、適切なタイプの神経細胞に最終分化させ、さらに本来神経栄養因子の持つ活性を生かして、

神経ネットワークを再建できるようになれば臨床的価値が高い。神経新生後においては、神経栄養因子が神経伝達物質の生合成や神経突起伸長を促進することが期待されることから、神経栄養因子の連続的 (sequential) な投与が、適切な神経新生とその後の神経系再構築に重要と想定される。

3. 神経栄養因子の神経変性疾患への臨床適用の実例
臨床適用に関して、現時点では神経栄養因子は、神経新生を促進するよりむしろ神経細胞生存、神経線維変性抑制および sprouting を介した神経ネットワーク再建に対しての神経疾患治療のポテンシャルに期待が持たれている。In vivo で種々の神経疾患モデル動物に対する神経栄養因子の治療効果を基盤として、神経変性疾患に対して神経栄養因子の臨床試験が行われている。初めての事例はスウェーデンで施行された NGF のアルツハイマー病への投与例で、1 例ながら [¹¹C] ニコチンの取り込みおよび、結合能や学習能 (episodic memory) の改善効果があることが報告された。また、Positron Emission Tomography (PET) 解析も施行され、有効性が報告されている²¹⁾。その後は BDNF をはじめとして、さまざまな神経栄養因子について、主として ALS 患者を対象とした臨床試験が施行された (Table 2 上段)。ALS への具体的な神経栄養因子の投与方法としては、当初、皮下注射の方法が選択された。血液脳関門 (blood-brain-barrier: BBB) があるため、全身性投与では神経栄養因子が脳神経系へ十分量到達できない可能性も危惧されたが、患者への負担が少なく施設を選ばない等の観点からの選択といわれている。BDNF についてはこの方法で、Phase II までの臨床試験で有効性があるとされたため、多くの他の神経栄養因子も BDNF の結果を参考に、皮下注射による臨床試験が試行された (Table 2 上段)。しかし、BDNF も Phase III の臨床試験では有効性が確認できず、また他の神経栄養因子も皮下注射の方法では有効性が確認されていない。

一方で、最近では皮下注射でない他の投与方法による神経栄養因子の臨床試験が始まり、注目を集めている。例えば、Phase I study としてのアルツハイマー病脳への NGF 遺伝子導入細胞の移植、パーキンソン病に対する脳実質へのリコンビナント GDNF の投与や色素性網膜症に対する CNTF 遺伝子導入細胞の眼球内移植が報告され、注目されている (Table 2 下段)。日本においても、少数例の ALS 患者に IGF-1 の髄内注射が行われ、有効とされた²²⁾。これらの新しい投与方法の試みが世界各国で開始されており、ALS を含め今後、神経変性疾患治療法

開発に対する突破口を開くものと期待されている。

II. ALS と HGF

HGF は、日本で精製・クローニングされた日本オリジナルな増殖因子である^{9,10)}。運動ニューロンに対して、HGF は *in vitro* において数ある神経栄養因子の中でも最も強力な生存促進活性を持つ分子である。また、神経突起伸張促進効果も強い。In vivo においても HGF-c-Met/HGF 受容体シグナルが、運動神経系の発達に必須であることが明らかとなっている²⁰⁾。具体的には、c-Met の細胞内シグナル伝達に重要なアミノ酸を 1 カ所変異させることで、実際 HGF の細胞内シグナルの一部のみ阻害されるノックインマウスは、コンベンショナルなノックアウトマウスが胎生致死になるのに対して、出生してくる。しかし、運動神経系、中でも筋芽細胞の移動が阻害され、正常に四肢や横隔膜の筋肉が形成されない。また、筋肉に投射されるべき神経線維伸長が阻害され、正常な神経ネットワークが形成されない。c-Met の細胞内ドメインの中のシグナル伝達に重要な、アミノ酸 2 カ所に変異を入れたノックインマウスにおいては、さらに運動神経系の発達障害が強く出て、四肢への筋肉形成がほとんど障害され、横隔膜の形成不全により生後すぐ死亡する。このように正常な運動神経系の発達に、HGF の細胞内シグナルが必須の機能を持つ生理活性物質であることが明らかとなった。

これらの背景も含め、HGF が運動神経系の傷害モデル、中でも難病中の難病とされる運動神経特異的変性疾患である ALS の治療に寄与する可能性が期待されている。筆者らは実際、HGF が ALS の運動ニューロン変性を阻止し、運動機能を改善できないか、動物モデルを用いて検討した。

1. HGF 遺伝子の神経への持続供給の ALS モデルマウスへの効果

1) ALS の疾患進行と HGF, c-Met の発現制御
HGF の ALS 疾患進行に対する効果を解析するための動物モデルとしては、ヒト ALS 患者の原因遺伝子 SOD1^{G93A} を過剰発現するトランスジェニックマウス (G93A マウス) を使用した。このマウスは SOD1^{G93A} を low copy 数発現し、ゆっくり ALS が進行し約 280 日齢で死亡するモデルであるため、HGF の治療効果の解析とともに、その作用分子機構の解析に有用である。

G93A マウスの自然経過における HGF と c-Met の発現を解析したところ、HGF と c-met 遺伝子は共に、疾患

進行により発現が上昇することが明らかとなった。免疫組織染色の結果、c-Met 受容体は正常生体において運動ニューロンで主に発現しており、病態が進行するとともに、運動ニューロンに加えて反応性アストロサイトに誘導されてくることが明らかとなった。逆にこの結果は、内因性 HGF が疾患進行抑制に寄与することで、疾患進行が緩徐になるものの、HGF 量が不十分であることで、最終的に個体死に至るものと推察された^{18,24)}。

2) HGF 遺伝子の供給と運動機能および寿命への効果

上記を背景に、HGF が疾患進行を改善するか否かを解析した。神経変性疾患への治療因子の投与は、長期間供給する必要があることに加えて、血液・脳関門があるため循環血液中に供給しても神経系へは到達させられない点で容易ではない。そこで、筆者らはまず神経細胞に HGF 遺伝子を発現するトランスジェニックマウス (HGF-Tg) を作製し、そのマウスと G93A マウスを交配することでダブルトランスジェニックマウス (G93A/HGF) を作製し、G93A マウスの神経細胞に HGF を長期間供給した効果を解析した。その結果、HGF を供給した G93A マウスでは運動神経細胞死および神経突起変性が抑制され、運動機能が改善し、寿命が大幅に延長されることが明らかとなった^{18,24)}。その作用分子機構としては、各種カスパーゼの活性化を抑制すること、アポトーシス抑制に寄与する XIAP を誘導することによる直接的神経栄養作用に加えて、ALS 末期においてはアストロサイトに機能して、グルタミン酸クリアランスに重要な EAAT2 のアストロサイトにおける発現低下を阻止、逆にその発現レベル上昇に寄与することが明らかとなった^{18,24)}。さらに HGF はアストロサイトのグリオーシスを抑制する¹⁸⁾ とともに、ミクログリアの集積も抑制することが明らかとなった (Kadoyama, Funakoshi 他, unpublished)。グリア細胞の ALS 進行における寄与の重要性が脚光を浴びているが、HGF が運動ニューロン栄養活性に加えてグリア細胞に寄与できることは、ALS 治療を考えるうえで大きなアドバンテージになるものと期待できる。

2. ヒト ALS における HGF, c-Met/HGF 受容体の発現制御

G93A マウスは、家族性 ALS (FALS) モデルといえるが、ALS の 90% 以上を占める孤発例 (SALS) についても HGF が寄与できるかは、上記結果からは単純にはいえない。そこで、ヒト FALS および SALS 患者の脊髄

における HGF と c-Met の発現を、免疫組織学的方法とウェスタンブロット法で解析したところ、HGF と c-Met は FALS, SALS でともに G93A マウスと同様に発現制御を受けることが明らかとなった。逆に、人工呼吸器をつけた時期においては、HGF と c-Met のレベルの低下が確認され、HGF-c-Met システムの破綻が疾患進行を急速に進行させている可能性が示唆された²⁵⁾。FALS と SALS 共通の運動ニューロン死誘導メカニズムとしての、各種カスパーゼの活性化が報告されている。HGF がこれらの活性化を抑制することを考慮すると、HGF が両者の common pathway を介して G93A マウスと同様、ヒト FALS と SALS の疾患進行を抑制し、寿命延長につながるものと期待させる結果であった。

まとめと今後の展望

ALS の原因はさまざまであり、個々の原因に対応した治療は孤発例を代表として難しいとされる。そこで ALS に共通する病態へのアプローチに基づく治療は魅力的である。これらを背景として神経栄養因子・細胞増殖因子の発見から 50 年以上を経た今、まさに神経栄養因子・細胞増殖因子による神経疾患治療臨床試験が注目されている。なかでも日本で発見された HGF は、2003 年から大阪大学病院で血管性疾患への遺伝子治療研究が開始され、これまで安全性が確保されていること、また GMP 準拠コンピナント HGF 蛋白質の準備も進んでおり、現実的にヒト ALS 患者への投与の可能性が期待できることに加えて、HGF は通常の神経栄養活性に加えて、グリア細胞への活性、神経新生促進活性や血管新生促進活性といった、神経疾患治療に有利な活性を併せ持っており、今神経栄養因子の中でも最も神経変性疾患治療適用に近いと考えられている。今後多くの研究者・臨床家・コメディカルの人々が参入することで、神経栄養因子研究が進み、神経変性疾患の中でも難病中の難病とされる ALS 治療の臨床が現実となる日が来ることを、心から期待している。

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.

- 方法と
Fとc
様に発
工呼吸
ベルの
疾患進
た²⁵⁾。
カニズ
ている。
ると、
マウ
し、寿
- ALS
的で
因子
子・細
いてい
から大
始さ
IP準
、現
るこ
グリ
活性
あり、
に近
コメ
究が
ALS
待し
- DA,
dis-
phic
- mo
tor
s 2.
- Nat Genet 29: 166-173, 2001
- 3) 船越 洋, 中村敏一: 運動ニューロン疾患研究の最近の進歩—運動ニューロン変性と神経栄養因子. 神経進歩 41: 885-898, 1997
 - 4) 船越 洋, 金井将昭, 中村敏一: 神経栄養因子の多様な機能と神経変性疾患への臨床適用の可能性. The Frontiers in Medical Sciences (in press)
 - 5) Funakoshi H, Belluardo N, Arenas E, Yamamoto Y, Casabona A, et al: Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. Science 268: 1495-1499, 1995
 - 6) Kaplan DR, Miller FD: Neurobiology: A move to sort life from death. Nature 427: 798-799, 2004
 - 7) Mi S, Lee X, Shao Z, Thill G, Ji B, et al: Lingo-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex. Nat Neurosci 7: 221-228, 2004
 - 8) Funakoshi H, Risling M, Carlstedt T, Lendahl U, Timmusk T, et al: Targeted expression of a multifunctional chimeric neurotrophin in the lesioned sciatic nerve accelerates regeneration of sensory and motor axons. Proc Natl Acad Sci U S A 95: 5269-5274, 1998
 - 9) Nakamura T, Nawa K, Ichihara A: Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. Biochem Biophys Res Commun 122: 1450-1459, 1984
 - 10) Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M, Seki T, Shimonishi M, et al: Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. Nature 342: 440-443, 1989
 - 11) Funakoshi H, Nakamura T: Hepatocyte growth factor: from diagnosis to clinical applications. Clin Chim Acta 327: 1-23, 2003
 - 12) 中村健二, 船越 洋, 中村敏一: 神経再生にかかわる因子—神経再生因子としての肝細胞増殖因子 (HGF). 脳の科学 25: (増刊) 108-115, 2003
 - 13) 船越 洋: HGFと神経系—新しい神経栄養因子としてのHGF. 中村 敏一, 荻原 俊男監修, HGFの分子医学. メディカルレビュー社, 1998, pp61-67
 - 14) 船越 洋, 角山圭一, 大谷若菜, 中村敏一: HGFの神経疾患治療効果. Clin Neurosci 25: 500-501, 2007
 - 15) 船越 洋, 角山圭一, 大谷若菜, 中村敏一: HGFの神経保護作用機序. Clin Neurosci 25: 620-621, 2007
 - 16) 大谷若菜, 船越 洋, 中村敏一: Hepatocyte growth factor (HGF). 日本臨牀, 増刊 8: 116-122, 2005
 - 17) Hayashi Y, Kawazoe Y, Sakamoto T, Ojima M, Wang W, et al: Adenoviral gene transfer of hepatocyte growth factor prevents death of injured adult motoneurons after peripheral nerve avulsion. Brain Res 1111: 187-195, 2006
 - 18) Sun W, Funakoshi H, Nakamura T: Overexpression of HGF retards disease progression and prolongs life span in a transgenic mouse model of ALS. J Neurosci 22: 6537-6548, 2002
 - 19) Kitamura K, Iwanami A, Nakamura M, Yamane J, Watanabe K, et al: Hepatocyte growth factor promotes endogenous repair and functional recovery after spinal cord injury. J Neurosci Res 85: 2332-2342, 2007 (Epub ahead of print)
 - 20) Maina F, Klein R: Hepatocyte growth factor, a versatile signal for developing neurons. Nat Neurosci 2: 213-217, 1999
 - 21) Seiger A, Nordberg A, von Holst H, Bäckman L, Ebendal T, et al: Intracranial infusion of purified nerve growth factor to an Alzheimer patient: the first attempt of a possible future treatment strategy. Behav Brain Res 57: 255-261, 1993
 - 22) Chen H, Tung YC, Li B, Iqbal K, Grundke-Iqbal I: Trophic factors counteract elevated FGF-2-induced inhibition of adult neurogenesis. Neurobiol Aging 28: 1148-1162, 2007
 - 23) Nagano I, Llieva H, Shiote M, Murakami T, et al: Beneficial effects of intrathecal IGF-1 administration in patients with amyotrophic lateral sclerosis. Neurol Res 27: 768-772, 2005
 - 24) 船越 洋, 中村敏一: 肝細胞増殖因子 (HGF) は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の進行を遅らせる. 神経治療 20: 533-540, 2003
 - 25) Kato S, Funakoshi H, Nakamura T, Kato M, Nakano I, et al: Expression of hepatocyte growth factor and c-Met in the anterior horn cells of the spinal cord in the patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS): immunohistochemical studies on sporadic ALS and familial ALS with superoxide dismutase 1 gene mutation. Acta Neuropathol (Berl) 106: 112-120, 2003