



プレス通知資料（研究成果）

2024年6月7日

国立大学法人東京医科歯科大学

2024年10月、国立大学法人「東京科学大学」が誕生します

「アンチセンス核酸(ASO)による異常 α シヌクレイン病理伝播抑制」 — パーキンソン病等シヌクレイノパチー治療応用への可能性 —



【ポイント】

- 振戦(ふるえ)、動作緩慢、筋強剛(筋固縮)、姿勢保持障害(転びやすいこと)を来すパーキンソン病^{*1}は神経変性疾患の一つであり、原因タンパク質である α シヌクレイン蛋白質(aSyn)^{*2}の伝播が注目されています。
- 研究グループは、パーキンソン病のモデル動物である線維化 aSyn を脳に局所接種することで異常病理が伝播するモデルマウスを用いています。このモデルマウスに対して α シヌクレイン遺伝子(*Snc*a)を標的とするアンチセンス核酸(ASO)^{*3}を局所投与することで内因性 α シヌクレイン蛋白質を抑制し、異常病理の伝播の変化について検討しました。
- ASO を aSyn 接種前に投与することで異常病理の出現が予防され、接種後(7-14 日後)に投与することでも、既に進展している異常病理の更なる進展のみならず出現していた異常病理が改善している可能性が示されました。更に ASO を線維化 aSyn 接種部位と異なる遠隔の脳領域に事前投与する事で ASO 投与部位周囲への異常病理進展抑制を認めました。これらの結果は発症後に投与しても症状の改善が期待でき、運動症状発症後でも投与する事で認知症等の新規の症状が出現することを予防できる可能性を示唆しています。
- 核酸医薬によるパーキンソン病等の α シヌクレイノパチーの様々な病期に応じた治療応用が期待されます。

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 脳神経病態学分野(脳神経内科)の横田隆徳教授、東京医科歯科大学統合研究機構 先端医歯工学創成クラスター 核酸・ペプチド創薬治療研究センターの永田哲也教授、佐野達彦大学院生は東京都医学総合研究所 脳・神経科学研究分野の長谷川成人分野長・認知症プロジェクトリーダーとの共同研究で α シヌクレインをコードするマウス *Snc*a 遺伝子を標的とした ASO を線維化 α シヌクレイン接種により作成されるパーキンソン病異常病理進展動物モデルマウスの脳に局所投与することで投与条件に応じた、病理発現予防および進展抑制効果を示しました。この研究は日本医療研究開発機構(AMED)の革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業における研究課題「第3世代ヘテロ核酸の開発」、先端的バイオ創薬等基盤技術開発事業における研究課題「次世代血液脳関門通過性ヘテロ核酸の開発による脳神経細胞種特異的分子標的治療とブレインイメージング」、日本学術振興会(JSPS)「科研費助成事業(基盤研究(A)JP22H00440)」などの支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 *Acta Neuropathologica Communications* (IF=7.1) に、2024年5月14日にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

aSyn はパーキンソン病(PD)等の神経変性疾患で細胞の脱落との関係が示唆されています。PD 患者脳で aSyn は神経細胞体に存在するレビー小体(LB)および神経突起に存在するレビー神経突起(LN)と呼ばれる異常線維構造として沈着し、病的なリン酸化(pSyn)を含む修飾を受け、生化学的にはサルコシル不溶性が認められます。PD 患者脳では aSyn 病理は嗅球および脳幹から出現し病期の進行に伴い他の脳領域へと広がる事が示唆されています。また、培養細胞や動物を用いた実験から線維化 aSyn が正常な内因性 aSyn を凝集させることが証明されています。これらの事実から aSyn のプリオン^{※4}様病理伝播機序が想定され、主に神経回路を介した進展が示唆されています。内因性の aSyn 産生を減少させる事が PD や他の aSyn 病の患者の治療戦略として考えられます。

ASO は細胞内で標的 mRNA の分解を特異的に誘導し、対応するタンパク質を減少させます。aSyn をコードする *Snca* mRNA を標的とした ASO 治療は、PD 動物モデルにおける側脳室注射により脳全体の aSyn の減少が病理伝播を予防・抑制する事が示されています。

研究グループは *Snca* ASO の病期に応じた治療効果を評価する為に線維化 aSyn 線条体接種モデルマウスを用いて、ASO の投与時期と部位毎に、aSyn 病理の細胞内および神経回路を介した異常 aSyn 病理伝播に対する予防・進行抑制効果を示しました。

【研究の概要】

最初に、野生型マウス脳の前線条体への ASO 投与による *Snca* 遺伝子の発現抑制効果を評価しました。ASO 300 μ g 投与により *Snca* mRNA の抑制効果は、注射部位である前線条体で 87%に達し、反対側である後線条体では 39%と左右差を認め、その抑制効果は脳皮質でも観察され、投与部側優位に抑制効果は 30 日以上持続しました(図 A 左)。 *Snca* mRNA に対する ISH も結果は qRT-PCR の結果と一致しました(図 A 中)。抗 PS 抗体による免疫染色では、ASO は注射側に優位に分布しており、観察された *Snca* mRNA の抑制効果と一致しました(図 A 中)。ISH と抗 PS 抗体免疫染色から得られた結果から、ASO は主に受動拡散によって分布することが想定されました。aSyn タンパク質の減少を確認するため、ASO 注射の 14 日後に脳で免疫ブロッティングを行いました。ASO 投与部位の前線条体では約 68%の減少が認められましたが、右側の脳では aSyn の減少は観察されず、局所投与による脳部位限定的な抑制が達成されました(図 A 右)。

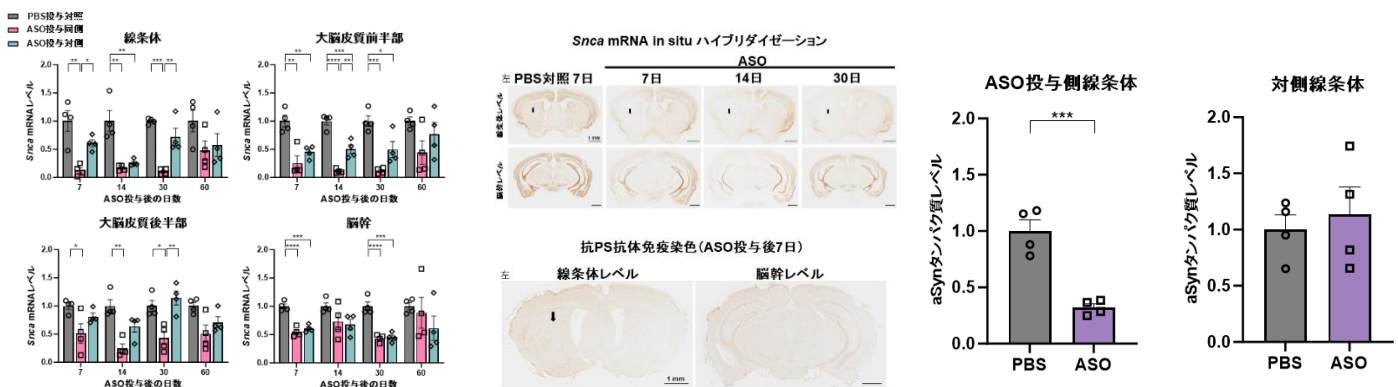


図 A

Snca ASO の局所投与により投与側に限局した脳領域の *Snca* mRNA 発現抑制が可能であり(左)、in situ ハイブリダイゼーションおよび抗 PS 抗体染色でその効果が示された(中)。aSyn タンパク質レベルは投与側に限局した抑制が認められた(右)。

aSyn 凝集開始前の ASO 投与による aSyn 病態予防効果を評価するため、マウス脳の左線条体に線維化 aSyn を接種する 14 日前に同部位に ASO を投与する条件で評価を行いました(図 B 左上)。PBS 前投与群では pSyn の免疫染色により、一部の神経細胞では LB と同様に、細胞体に陽性となる封入体を認めました。また、一部の神経細胞では封入体が神経突起に観察され、LN に類似していました。どちらのタイプの封入体も、細胞内封入体の特徴であるユビキチンと p62 染色で陽性でした。また、Campbell-Switzer 銀染色は陽性で、Gallyas-Braak 銀染色は陰性であり、PD 患者の LB や LN と同じ性質を示しました。(図 B 左下)。

この「細胞体」と「神経突起」病態を指標として pSyn 陽性となる神経細胞密度を複数の脳領域で比較しました。Snca ASO 群では、PBS 群と比較して、左線条体で細胞体(95%)および神経突起(92%)陽性細胞密度減少が認められ広範な脳領域での病理出現予防効果を認めました(図 B 中)。また、免疫プロット法で ASO 群ではサルコシル不溶性 pSyn の減少(93%)が示されました(図 B 右)。ユビキチンと p62 の免疫染色でも、Snca ASO 群で陽性細胞密度の減少が認められました。ASO 投与による細胞毒性や運動機能障害は認められませんでした。

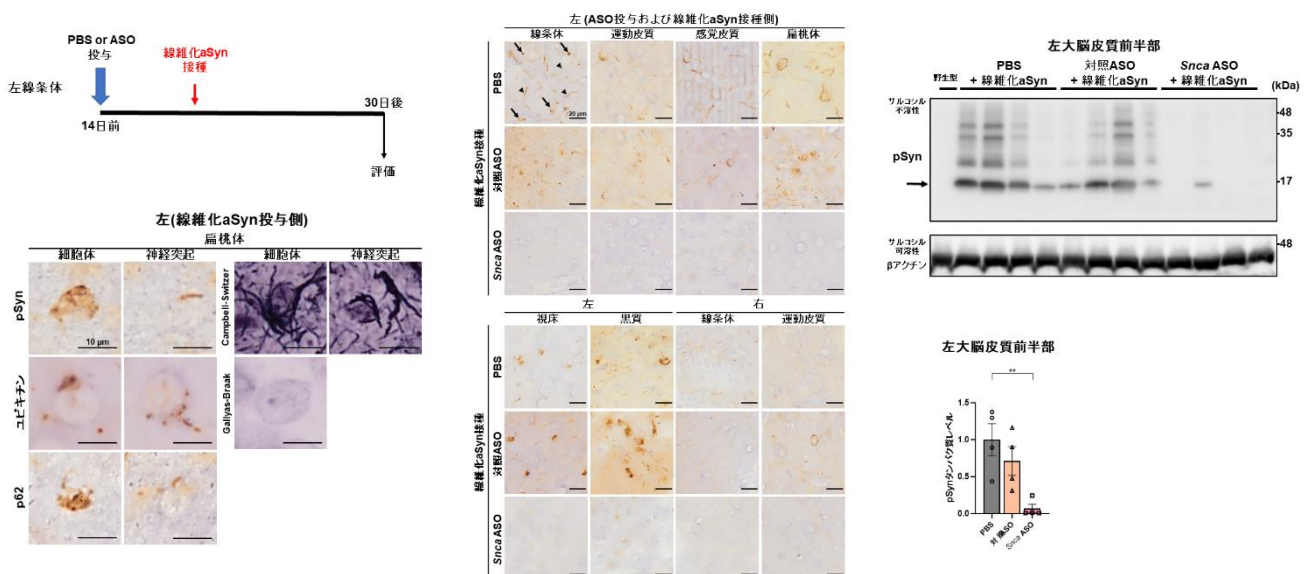


図 B

Snca ASO の線維化 aSyn 接種部位への局所事前投与(左上)。ASO 非投与群で PD 患者類似の病理が細胞体(矢印)および神経突起(矢頭)を認めた(左下)。pSyn を指標とした組織学的評価では広範な予防効果を認めた(中)。生化学的にはサルコシル不溶性の pSyn 減少を認めた(右、矢印は単量体)。

次に aSyn 凝集開始後の ASO 投与の aSyn 病態進行抑制効果を評価するために、マウス脳の左線条体に線維化 aSyn を接種する同時または 7, 14 日後に ASO を投与する条件で評価を行いました(図 C 左)。ASO 同時投与群では、線維化 aSyn 単独投与群と比較して、左線条体での細胞体(96%)および神経突起(70%)pSyn 陽性細胞密度が減少し、同側の運動皮質、扁桃体等での進行抑制効果を示しました(図 C 中)。一方で 7, 14 日後の ASO 投与群では、細胞体病理の減少は認めましたが神経突起病理の減少は観察されませんでした。細胞体病理と一致して、サルコシル不溶性 pSyn は ASO 同時投与群(98%)および後投与群(83%および 90%)のいずれも減少効果が認められました(図 C 右)。

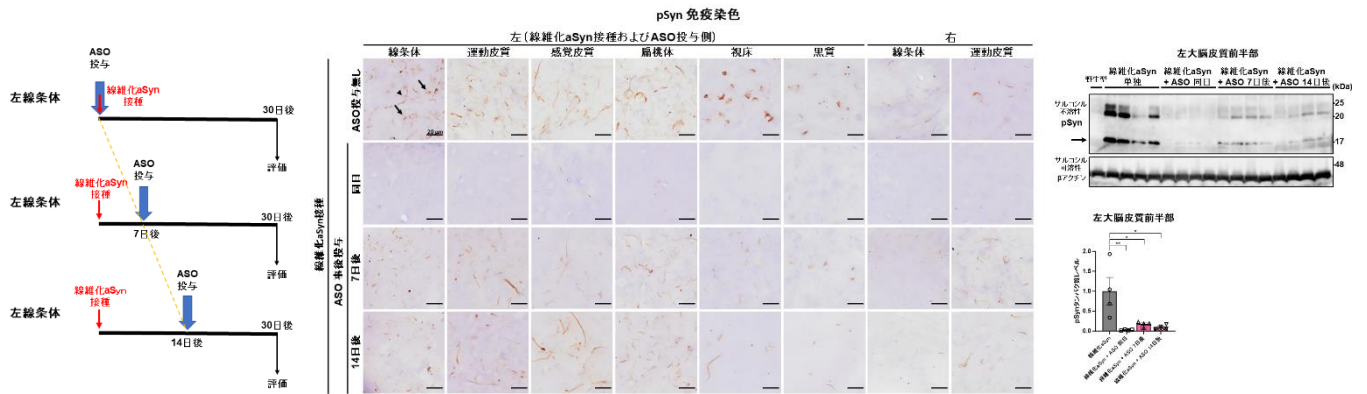


図 C

Snca ASO の線維化 aSyn 接種部位への局所事後投与(左)。pSyn を指標とした組織学的評価では細胞体病理(矢印)の広範な抑制が認められる一方で、7, 14 日後投与では神経突起病理(矢頭)の抑制は認められなかった(中)。生化学的にはいずれの投与時期でもサルコシル不溶性の pSyn 減少が認められた(右、矢印は単量体)。

最後に aSyn 凝集開始部位から遠隔の脳領域での ASO 投与による aSyn 病態進行抑制効果を評価するために、マウス脳の左線条体に線維化 aSyn を接種する 14 日前に反対側である右線条体に ASO を投与する条件で評価を行いました。pSyn 免疫染色で ASO 投与部位近傍の右線条体、右運動皮質において、pSyn 陽性密度の減少を認めました(図 D 中)。ASO を注射した同側の大脳皮質前半分のサルコシル不溶性 pSyn の減少傾向が認められました。

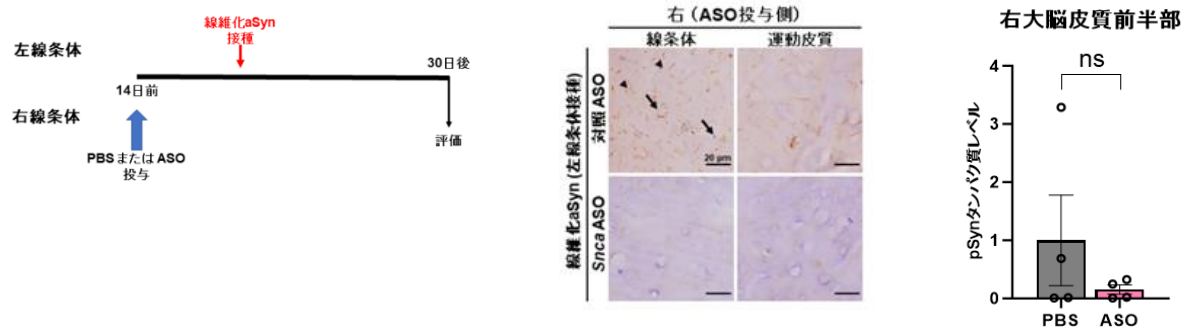


図 D

Snca ASO の線維化 aSyn 接種部位の反対側の局所事前投与(左)。pSyn を指標とした組織学的評価では ASO 投与部位近傍に局限した細胞体(矢印)および神経突起(矢頭)病理進展抑制効果を認めた(中)。生化学的にはサルコシル不溶性の pSyn 減少傾向が認められた(右)。

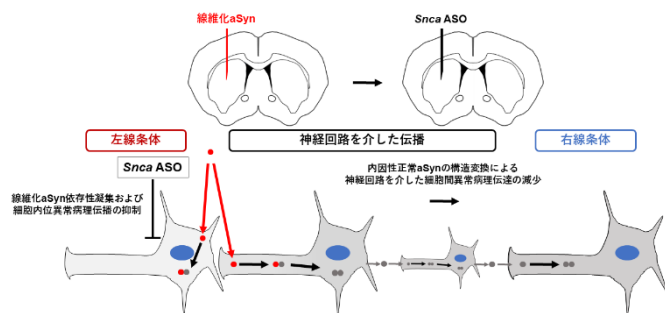
【研究成果の意義】

研究グループは *Snca* ASO の脳内局所投与により、その近傍に限定的な内因性 aSyn の発現抑制を達成しました。PD 患者類似の aSyn 病理伝播モデルマウスにおいて、線維化 aSyn 接種部位である左線条体への ASO 注射は内因性 aSyn を完全に抑制することなく、時間依存的に同部位および神経接続を有する広範な脳

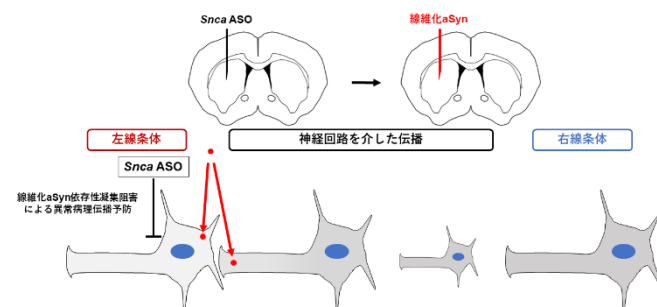
領域での pSyn 病理進展を予防または進行抑制し、他の関連病理も減少させました。また、生体内で初めて内因性 aSyn の発現抑制による神経突起から細胞体への病理進展の抑制を証明し、その一部が可逆的であることを示しました。生化学的には不溶性 pSyn の減少を認めました。これらの結果から線維化 aSyn によって誘導される pSyn 病理の開始と細胞内伝播には、一定量の内因性 aSyn が必要である可能性を示しました。更に線維化 aSyn 接種部位から遠隔領域での ASO 投与で投与部位での病理進行抑制効果を示しました。このことから、パーキンソン病(孤発性及び家族性)、レビー小体型認知症、多系統萎縮症等のシヌクレイノパチーの患者さんに対して、ASO で内因性 aSyn を完全に枯渇させることなく減少させることで治療可能であることを示しました。加えて、様々な病期に応じた治療応用が可能であることを示しております(図 E)。現在、シヌクレイノパチーに対して aSyn を標的とした抗体医薬品やワクチンが開発中ですが、その効果は細胞内の病理進展には及ばない可能性があり、核酸医薬により細胞内の正常 aSyn を限定的に制御することで、本来の生理的な機能を保ちつつ病原性 aSyn の伝播を抑制できる可能性があり、より高い安全性、有効性が期待できると考えられます。

図 E

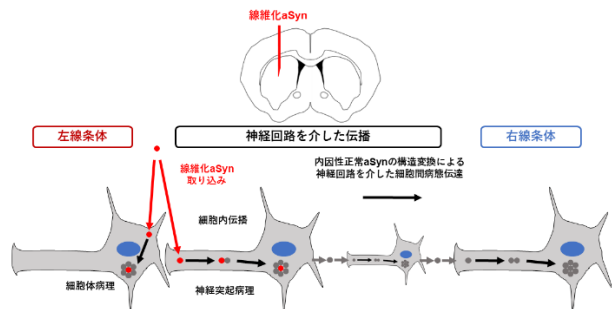
Snca ASO 同側線条体事後投与



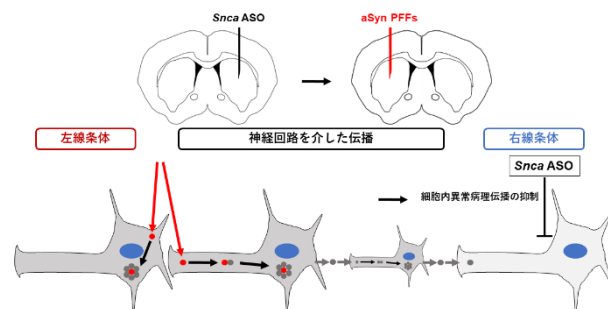
Snca ASO 同側線条体事前投与



線維化aSyn接種単独



Snca ASO 対側線条体事前投与



【用語解説】

※1 パーキンソン病(PD)

パーキンソン病は成人発症の進行性神経変性疾患であり、1000人に1人～1.8人の割合で発症する。65歳以上では100人に約1人で高齢化に伴い患者は増加している。従来、振戦(ふるえ)、動作緩慢、筋強剛(筋固縮)、姿勢保持障害(転びやすいこと)という特徴的な症状から運動系の疾患と考えられてきたが、現在では、認知機能障害、行動障害、睡眠障害、気分障害、注意障害、自律神経障害等の様々な非運動症状を伴う全身性の疾患であると認識されている。

※² α シヌクレイン (aSyn)

aSyn は 140 アミノ酸残基のタンパク質であり、脳に多く存在している。aSyn は神経終末に多く分布し、シナプス小胞と相互作用して小胞リサイクルを生理的に調節する機能が知られている。aSyn をコードする SNCA 遺伝子の点変異や重複は、家族性のパーキンソン病やレビー小体型認知症の原因となる遺伝子異常として知られている。また、多系統萎縮症や純粋自律神経不全症等の神経変性疾患でも aSyn の異常が認められており、 α シヌクレイノパチーという疾患分類が提唱されている。

※³ アンチセンス核酸 (ASO)

細胞内に存在する RNA 等を標的とする核酸医薬で、1 本鎖 DNA を基本構造として様々な化学修飾が施されている。既存の抗体医薬では標的にできない細胞内の RNA を標的として結合することが可能で、標的 RNA から翻訳される疾患に関わる係わるタンパク質を一過性に発現を制御し、これまで治療法がなかった疾患の治療薬の主流となりつつある。主な国内での承認薬としては、脊髄性筋萎縮症に対するヌシネルセン、家族性ポリアミロイドニューロパチーに対するイノテルセン、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するビルトラルセンが有り、現在も複数の臨床試験が進行中である。

※⁴ プリオン

タンパク質を含み核酸を欠く小型の感染性病原体を指す。異常構造を持ったタンパク質が同一遺伝子由来の正常な細胞内タンパク質を構造変換し、病態が進展すると推測されている。ヒトのプリオン病としてクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) が知られており、急速進行性の認知症を来す。

【論文情報】

掲載誌: *Acta Neuropathologica Communications*

論文タイトル: Effects of local reduction of endogenous α -synuclein using antisense oligonucleotides on the fibril-induced propagation of pathology through the neural network in wild-type mice

DOI: <https://doi.org/10.1186/s40478-024-01766-3>

【研究者プロフィール】

佐野 達彦 (サノ タツヒコ) Tatsuhiko Sano
東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
脳神経病態学分野(脳神経内科) 大学院生

・研究領域

神経内科学



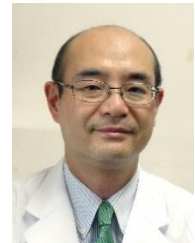
永田 哲也（ナガタ テツヤ） Tetsuya Nagata
東京医科歯科大学 統合研究機構
先端医歯工学創成クラスター 核酸・ペプチド創薬治療研究センター 教授



・研究領域

神経内科学、核酸医薬

横田 隆徳（ヨコタ タカノリ） Takanori Yokota
東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
脳神経病態学分野（脳神経内科） 教授



・研究領域

神経内科学、核酸医薬

【問い合わせ先】

＜研究に関すること＞

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
脳神経病態学分野

横田 隆徳（ヨコタ タカノリ）

永田 哲也（ナガタ テツヤ）

TEL:03-5803-5234 FAX:03-5803-0169

E-mail:tak-yokota.nuro@tmd.ac.jp t-naga.nuro@tmd.ac.jp

＜報道に関すること＞

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp

＜AMED 事業に関すること＞

日本医療研究開発機構（AMED）

創薬事業部 医薬品研究開発課 先端的バイオ創薬等基盤技術開発事業担当

Tel: 03-6870-2219

E-mail:sentan-bio@amed.go.jp