



2024年9月24日

報道関係者各位

慶應義塾大学

**筋萎縮性側索硬化症（ALS）の新規治療ターゲット、  
核膜・核膜孔障害を発見  
ーゲノム編集マウス・iPS細胞・病理検体から病態解明の糸口を見出すー**

慶應義塾大学再生医療リサーチセンターの岡野 栄之 センター長/教授（研究当時：慶義塾大学医学部生理学教室・教授）、慶應義塾大学医学部内科学（神経）教室の伊東 大介 特任教授（研究当時：慶義塾大学医学部生理学教室・特任教授）、慶應義塾大学医学部内科学（神経）教室の岡田 健佑 助教らの研究グループは、筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic Lateral Sclerosis: ALS）（注1）の新規モデルマウスをゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 システム（注2）を用いて作成することに成功しました。このモデルマウスには、本邦の家族性 ALS において *SOD1* 遺伝子（注3）の異常に次いで多い *FUS* (fused-in sarcoma) 遺伝子（注4）の異常（*FUS*-H517D）に相当する点変異を導入しました。今回作成したマウスは、従来のトランスジェニックマウス（注5）とは異なり、ゲノム編集技術を用いて内在性の *FUS* 遺伝子の遺伝子変異を加えることで、より生理的な条件で、患者に近い疾患モデルとして病態解析や治療薬開発への応用が可能です。このモデルマウスは、加齢とともに歩行などの運動機能障害を示し、脊髄運動ニューロンの減少に加え核膜および核膜孔の障害、DNA 障害を認めました。さらに、我々が確立した同一の変異（*FUS*-H517D）を持つ ALS 患者由来の iPS 細胞（注6）から分化誘導した運動ニューロンでも核膜および核膜孔の障害を明らかにし、RNA-seq 解析（注7）では *FUS*-H517D 変異を持つ運動ニューロンにおいて、核膜および核膜孔関連する遺伝子の多くが有意に発現低下していることが示されました。さらに、ALS 患者の死後組織でも脊髄運動ニューロン神経の核膜および核膜孔の障害が示されました。

神経細胞において本質的である核膜の障害は、細胞の生存維持に決定的な要因となります。この核膜障害の改善なくしては、ALS の治癒は望めません。この研究成果は、ALS で見られる遺伝子異常を再現したゲノム編集マウスが、加齢に伴い運動機能障害を示し、脊髄運動ニューロンにおける核膜および核膜孔の障害が ALS の決定的な病態メカニズムであり、新規治療ターゲットであることが示されました。ゲノム編集マウス・iPS 細胞と患者病理検体といった研究材料を組み合わせることで、ALS の病態理解を深め、治療薬開発が飛躍的に推進されます。

本研究成果は 2024 年 9月24日午前 5 時（太平洋標準時）に、Oxford University Press が発行する国際学術誌 *Brain* に掲載されました。

#### 1. 本研究のポイント

- 筋萎縮性側索硬化症（ALS）の新規モデルマウスをゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 システムを用いて作成しました。このモデルマウスには、*FUS* 遺伝子に点変異（*FUS*-H517D: マウスでは H509D）が導入されています。
- このモデルマウスは、加齢に伴い運動機能障害を示し、脊髄運動ニューロンの減少や核膜および核膜孔の障害、DNA 障害を示しました。
- 同じ *FUS*-H517D 変異を持つ ALS 患者由来の iPS 細胞から分化した脊髄運動ニューロンでも、核

膜と核膜孔に障害を認めました。

- さらに、RNA-seq 解析により、*FUS*-H517D 変異を持つ脊髄運動ニューロンでは、核膜および核膜孔関連遺伝子の発現が有意に低下していることが明らかになりました。
- ALS 患者の死後組織(脊髄)でも核膜と核膜孔の障害が確認され、これらの構造の破壊が ALS の病態メカニズムにおいて重要な役割を果たしている可能性が示唆されました。

## 2. 研究背景

- 筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis: ALS)

この病気は、運動ニューロンが徐々に障害を受ける神経難病です。運動ニューロンが障害を受ける事で、ALS の患者は立つ、歩く等の運動動作に加えて、話す、食べる等の基本的な日常動作が困難となり、発症数年の内に生命に必須の呼吸運動も障害されてしまいます。全世界で毎年 14 万人が新たに ALS と診断され、日本には約 9000 人の患者がいます。本邦では、2 剤 (リルゾールとエダラボン) が治療薬として承認されており、今後メコバラミン筋注の承認が期待されますが、更なる治療薬の開発が望まれています。

- 核膜と核膜孔

いずれも細胞において非常に重要な役割を果たしています。核膜は、細胞の核を囲む二重膜構造で、細胞質から核を保護し、核内の DNA を外部の影響から守る役割を担っています。核膜は、細胞の DNA 複製や転写、修復といった重要なプロセスを制御する場として機能しています。また、核膜は核の形状を維持するためにも重要で、核の構造を安定させる役割も果たしています。

核膜孔は、核膜に埋め込まれた複合体で、核と細胞質の間で物質の輸送を行うための通路となっています。核膜孔を通じて、核内に必要なタンパク質や RNA が輸送され、逆に、核で合成された RNA やリボソームサブユニットなどが細胞質に輸送されます。この輸送は非常に厳密に制御されており、細胞が正常に機能するためには不可欠です。

これらの構造が正常に機能しないと、細胞は正常な遺伝子発現やタンパク質合成を行うことができなくなり、細胞の機能に重大な障害が生じます。このため、核膜と核膜孔は細胞の生命維持において極めて重要な構造です。

これまでに ALS における核膜や核膜孔に関する報告はいくつかありますが、依然としてその解釈や意義を巡って議論が続いていました。今回、本研究グループでは、*FUS* 遺伝子の点変異を導入して作成したマウスモデルと、既に我々が確立している同一の *FUS*-H517D 変異を持つ ALS 患者から樹立した iPS 細胞 (Ichiyanagi N et al. Stem Cell Reports 2016) から分化誘導した運動ニューロン (Setsu S et al. *bioRxiv* 2023) を比較・検討し、さらには、ALS 患者の死後組織 (脊髄) を用いて、核膜・核膜孔への病態解明を行いました。

## 3. 研究内容・成果

(1) 高齢 (18 月齢) の野生型マウスと *FUS*-ALS モデルマウスにおける脊髄前角にある運動ニューロン (ChAT 染色) における核膜 (Lamin B1, Lamin A/C) の形態などを評価する目的で免疫染色を行いました。*FUS*-ALS モデルマウスの運動ニューロンでは、核膜に相当する部分の輝度の低下や真円度の低下を認めました (図 1)。さらに、核膜孔 (Nup62) の形態評価では、核膜孔の障害を認めました。これらの結果から、*FUS*-ALS モデルマウスでは核膜と核膜孔の障害があることを確認しました。

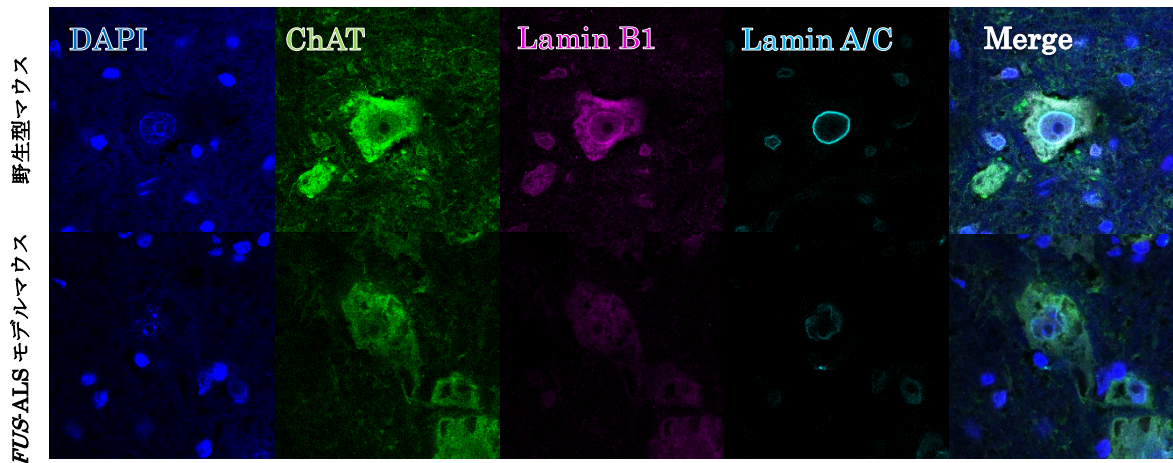


図 1. *FUS*-ALS モデルマウスの運動ニューロンにおける核膜障害

(2) 次に、マウスと同じ変異 (*FUS*-H517D) を持つ ALS 患者由来の iPS 細胞から分化誘導した脊髄運動ニューロンにおいても、免疫染色での核膜 (Lamin B1, Lamin A/C) の評価を行いました。*FUS*-ALS 患者由来の iPS 細胞から分化した脊髄運動ニューロンでも核膜障害を示唆する所見を認めました (図 2)。また、核膜孔 (Nup62) の評価も行い、核膜孔の障害もあることを確認しました。さらには、RNA-seq 解析により、*FUS*-H517D 変異を持つ運動ニューロンでは、核膜および核膜孔関連遺伝子の発現が健常者と比較して、有意に低下していることが明らかになりました。

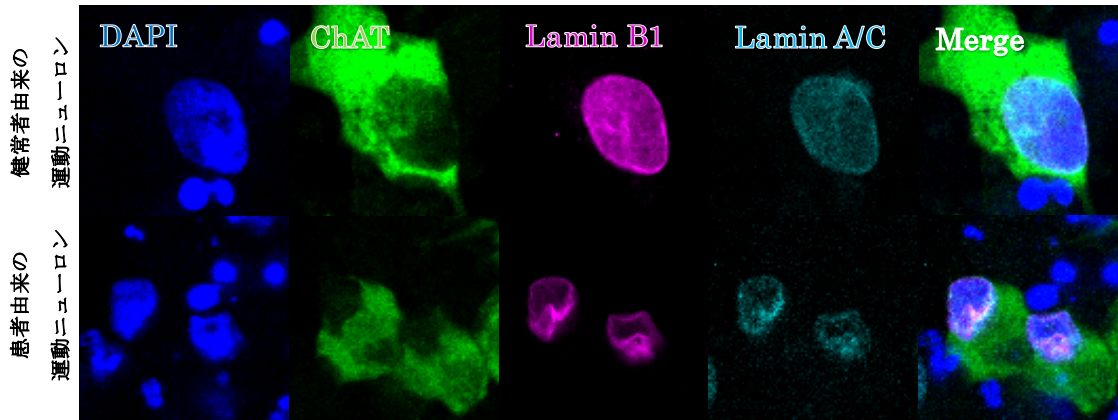


図 2. *FUS*-ALS 患者 iPS 細胞から作成した運動ニューロンにおける核膜障害

(3) 最後に、ALS 患者の死後組織 (脊髄) においても、核膜と核膜孔の障害があることを確認しました (図 3)。これらの結果はモデルマウスやヒト iPS 細胞の所見と一致しており、この核膜・核膜孔の障害は、ALS の病態に重要な役割を果たしていると考えられます。



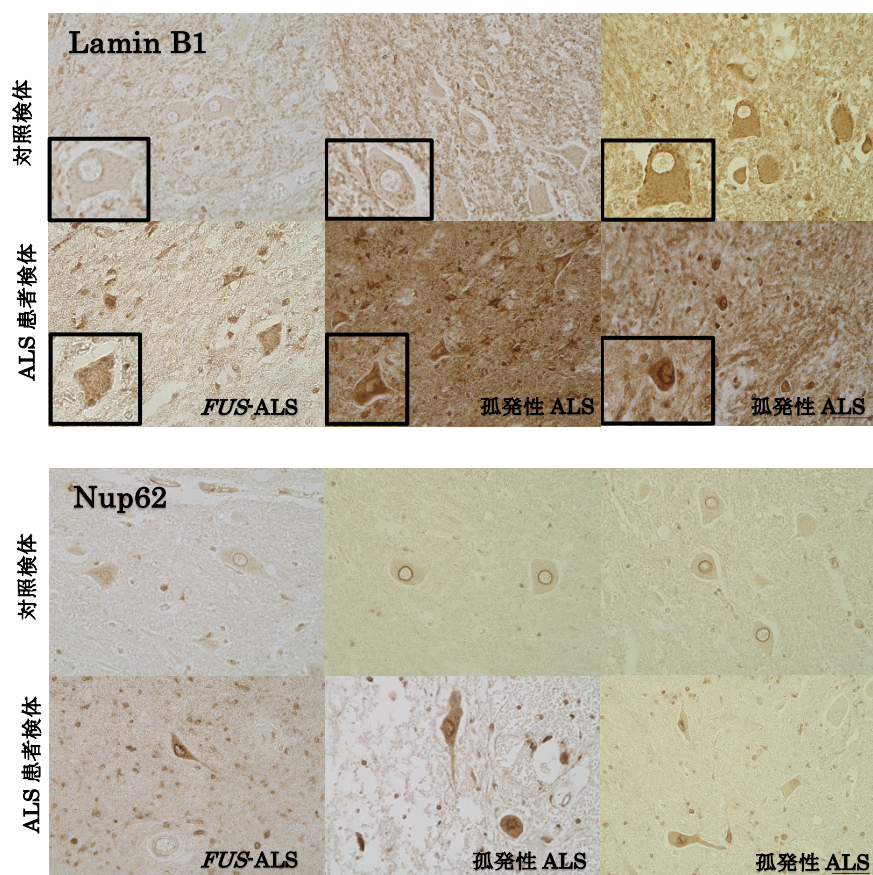


図 3. *FUS*-ALS 患者の死後組織（脊髄）の運動ニューロンにおける核膜・核膜孔障害

#### 4. 今後の展開

神経細胞において本質的である核膜の障害は、細胞の生存維持に決定的な要因となります。この核膜障害の改善なくしては、ALS の治癒は望めません。本研究成果は、ALS で見られる遺伝子異常を再現したゲノム編集マウスが、加齢に伴い運動機能障害を示し、そこで観察された核膜および核膜孔の障害が ALS の決定的な病態メカニズムであり、新規治療ターゲットであることが示されました。ゲノム編集マウス・iPS 細胞と患者病理検体を組み合わせることで、ALS の病態理解を深め、治療薬開発が飛躍的に推進されます。当グループでは、患者 iPS 細胞を用いて ALS 治療薬候補としてロピニロール塩酸塩（注 8）を同定しており（Morimoto S, et al. Cell Stem Cell 2023）、次の研究としてロピニロール塩酸塩による核膜障害抑制作用を検討して参ります。

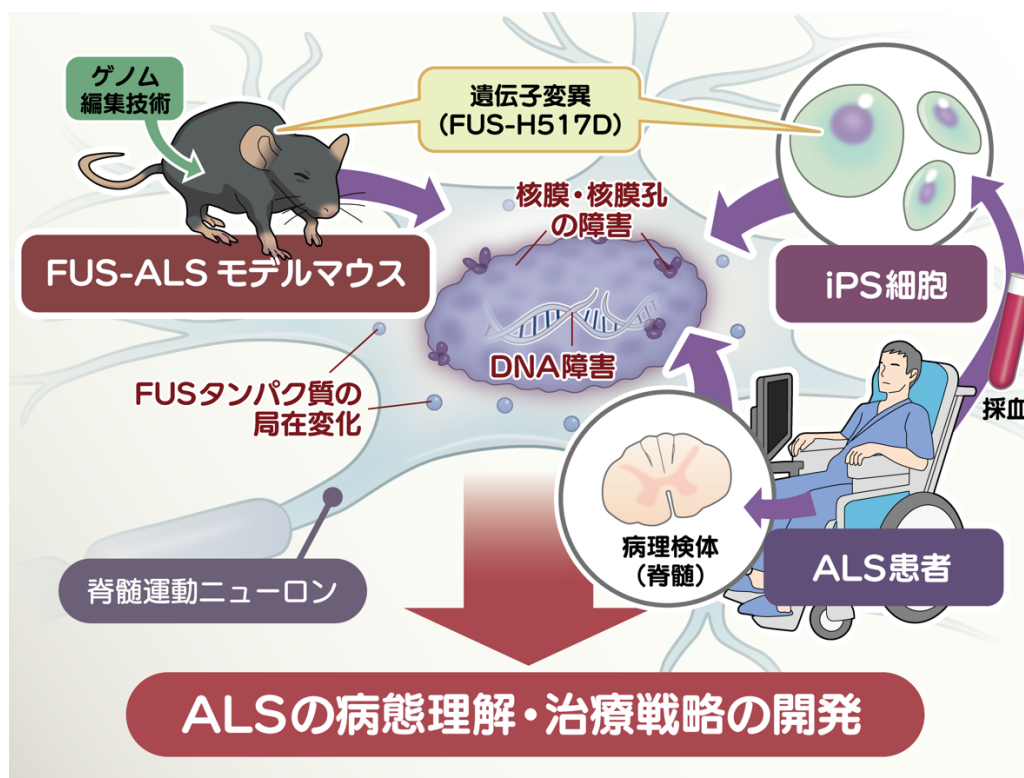


図 4. 本研究成果の概要

疾患克服のために本研究にご協力を頂きました患者様、ご家族、ご遺族の方々に深く感謝申し上げます。

## 5. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）（再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム・筋萎縮性側索硬化症における病態回避機構の解明と治療に資する層別化技術開発、再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム・革新的 RNA 編集技術を用いた筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療開発、再生医療実現拠点ネットワークプログラム・神経疾患特異的 iPS 細胞を活用した病態解明と新規治療法の創出を目指した研究、難治性疾患実用化研究事業・疾患特異的 iPS 細胞創薬に基づいた筋萎縮性側索硬化症（ALS）治験における薬剤応答性評価技術の開発、難治性疾患実用化研究事業・iPS 細胞創薬に基づいた新規筋萎縮性側索硬化症（ALS）治療薬であるロピニロール塩酸塩の実用化第 1/2a 相試験、難治性疾患実用化研究事業・筋萎縮性側索硬化症克服のための Deep-Phenotyping の統合解析を通じた治療開発研究、脳とこころの研究推進プログラム・孤発性筋萎縮性側索硬化症の双方向トランスレーショナル研究による病態介入標的の同定と核酸医薬の開発研究、ゲノム創薬基盤推進研究事業・RNA 標的医薬創出に資する、疾患 RNA 分子完全長一次構造に関するデータ基盤の構築 JSPS 科研費 JP21H02812, JP21K07281, JP22K15736, JP21H05278, JP20H00485、公益財団法人武田科学振興財団、宮田幸比古記念 ALS 研究助成基金、日本 ALS 協会小出良夫基金、公益財団法人第一三共生命科学研究振興財団、UBE 学術振興財団、慶應医師会医学研究助成金、慶應義塾大学医学部研究奨励費の研究助成を受けて実施されました。

### <参考文献>

Ichiyanagi N, Fujimori K, Yano M, et al. Establishment of In Vitro FUS-Associated Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Model Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. Stem Cell

Reports. 2016;6(4):496-510.

Setsu S, Morimoto S, Nakamura S, Ozawa F, Tomari Y, Okano H. An efficient induction method for human spinal lower motor neurons and high-throughput image analysis at the single cell level. *bioRxiv*. Published online April 19, 2023. doi:10.1101/2023.04.18.537412

Morimoto S, Takahashi S, Ito D, et al. Phase 1/2a clinical trial in ALS with ropinirole, a drug candidate identified by iPSC drug discovery. *Cell Stem Cell*. 2023;30(6):766-780.e9.

<原論文情報>

英文タイトル: Multiple lines of evidence for disruption of nuclear lamina and nucleoporins in FUS amyotrophic lateral sclerosis

タイトル和訳: FUS 変異による筋萎縮性側索硬化症に関連する核膜と核膜孔の障害を示す多角的な証拠

著者名: Kensuke Okada, Daisuke Ito†, Satoru Morimoto, Chris Kato, Yuki Oguma, Hitoshi Warita, Naoki Suzuki, Masashi Aoki, Junko Kuramoto, Reona Kobayashi, Munehisa Shinozaki, Masahito Ikawa, Jin Nakahara, Shinichi Takahashi, Yoshinori Nishimoto, Shinsuke Shibata and Hideyuki Okano†

\* †co-correspondence

掲載雑誌: *Brain*

<用語説明>

※1 筋萎縮性側索硬化症: 運動ニューロンが選択的に障害され、運動麻痺、嚥下障害、呼吸不全を来して、約 3-5 年で致死的な経過を辿る神経難病。根治療法は未だない。

※2 CRISPR-Cas9 システム: 特定の DNA 配列を標的として正確に切断し、その部分に新しい遺伝子を挿入したり、不要な遺伝子を削除したりする技術。これは、ガイド RNA(gRNA)と呼ばれる分子が Cas9 という酵素を特定の DNA 場所に誘導し、そこで DNA を切断して遺伝子編集を行う仕組み。

※3 *SOD1* 遺伝子: 「スーパーオキシドジスムターゼ 1 (Superoxide Dismutase 1)」という酵素をコードする遺伝子で、この遺伝子に変異が生じると筋萎縮性側索硬化症を発症する。本邦では、家族性 ALS の中で最も多い原因遺伝子。

※4 *FUS* (fused-in sarcoma) 遺伝子: 本邦では、家族性 ALS の中で *SOD1* 遺伝子変異に次ぐ 2 番目に多い原因遺伝子。ALS では核移行シグナル(細胞質から核への移動に必要な部分)に変異が集中している。*FUS*-H517D はこの核移行シグナルにおける遺伝子変異であり、517 番目のアミノ酸であるヒスチジンがアスパラギン酸に置き換わっている。

※5 トランスジェニックマウス: 外部から特定の遺伝子を導入し、その遺伝子が機能するように遺伝子改変されたマウス。導入した遺伝子が想定外の場所で発現したり、他の遺伝子に影響を与える可能性があり、予期しない結果が生じることもある。

※6 iPSC 細胞: 体細胞に特定因子を導入することにより樹立される多能性幹細胞であり、ヒト人工多能性幹細胞 (human induced pluripotent stem cell) を用いて、唯一患者さんの遺伝子情報をすべて受け継いだ病気のモデルを作成することができる。

※7 RNA-seq 解析：遺伝子転写産物（mRNA）の発現を網羅的かつ定量的に解析するための分子生物学的手法。

※8 ロピニロール塩酸塩：ドーパミン D2 受容体に結合し、ドーパミンを増やす働きがあり、パーキンソン病の治療に使われる薬。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

---

・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 再生医療リサーチセンター センター長 岡野 栄之（おかの ひでゆき）

TEL：044-276-2388 FAX：044-276-2388 E-mail：hidokano@keio.jp

慶應義塾大学医学部 内科学（神経）教室 特任教授 伊東 大介（いとう だいすけ）

TEL：03-5363-3788 FAX：03-3353-1272 E-mail：dito@keio.jp

・本リリースの配信元

慶應義塾広報室（向坂）TEL：03-5427-1541 FAX：03-5441-7640

E-mail：m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>