

## 【第139回生涯教育講座】

# 神経筋接合部異常とインスリン様成長因子による治療法開発の可能性

藤 谷 昌 司  
タリフ アブ エムディー マムン  
Tarif Abu Md Mamun

石 原 弘 基  
おお たに よし のり  
大 谷 嘉 典

キーワード：神経筋接合部、再生、インスリン様成長因子

## 要 旨

神経筋接合部 (Neuromuscular junction) は、運動ニューロン、筋線維、シュワン細胞から成る、筋収縮を制御する重要なシナプス構造である。

本稿では、なぜ我々が神経筋接合部研究にリハビリテーション科の医師と共に興味を持ったか、そしてインスリン様成長因子 (Insulin-like Growth Factor:IGF) について概説する。また、IGFについての我々の研究の成果として、IGFの受容体、インスリン様成長因子1受容体 (IGF1R) がどのような仕組みで神経筋接合部再生に重要なのかを紹介する。

また神経筋接合部は、運動ニューロン疾患（筋萎縮性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症）の症状が起こる前に異常が起こる罹患部位として知られている。したがって、神経筋接合部の再生は、運動ニューロン疾患に対する治療介入の可能性を有している。これらの疾患に対する IGF による治療戦略についても考察する。

## 神経筋接合部とは

神経筋接合部は、運動ニューロン、骨格筋、シュワン細胞から構成される、運動神経の軸索の終末と筋肉との接点である（図1）。運動神経細胞からの電気的信号が、アセチルコリンという神経伝達物質を介して筋肉へ伝達されるシナプスの一種と考えられ、この信号伝達により筋肉の収縮

が引き起こされる。典型的な神経筋接合部構造は、マウスでは「プレッツェル状」（ドイツ等、欧米で有名なお菓子）であると古典的に説明されているが、ヒトの神経筋接合部は成人期を通じて、より小さく断片化した構造をしている。さらに、変性した神経筋接合部では、終板が小さくなったり断片化したり、部分的な脱神経、シナプス小胞の数の減少、シナプス前ミトコンドリアの異常、シナプス周囲シュワン細胞の機能不全が見られる。

Masashi FUJITANI et al.

島根大学医学部解剖学講座（神経科学）

連絡先：〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1

島根大学医学部解剖学講座（神経科学）

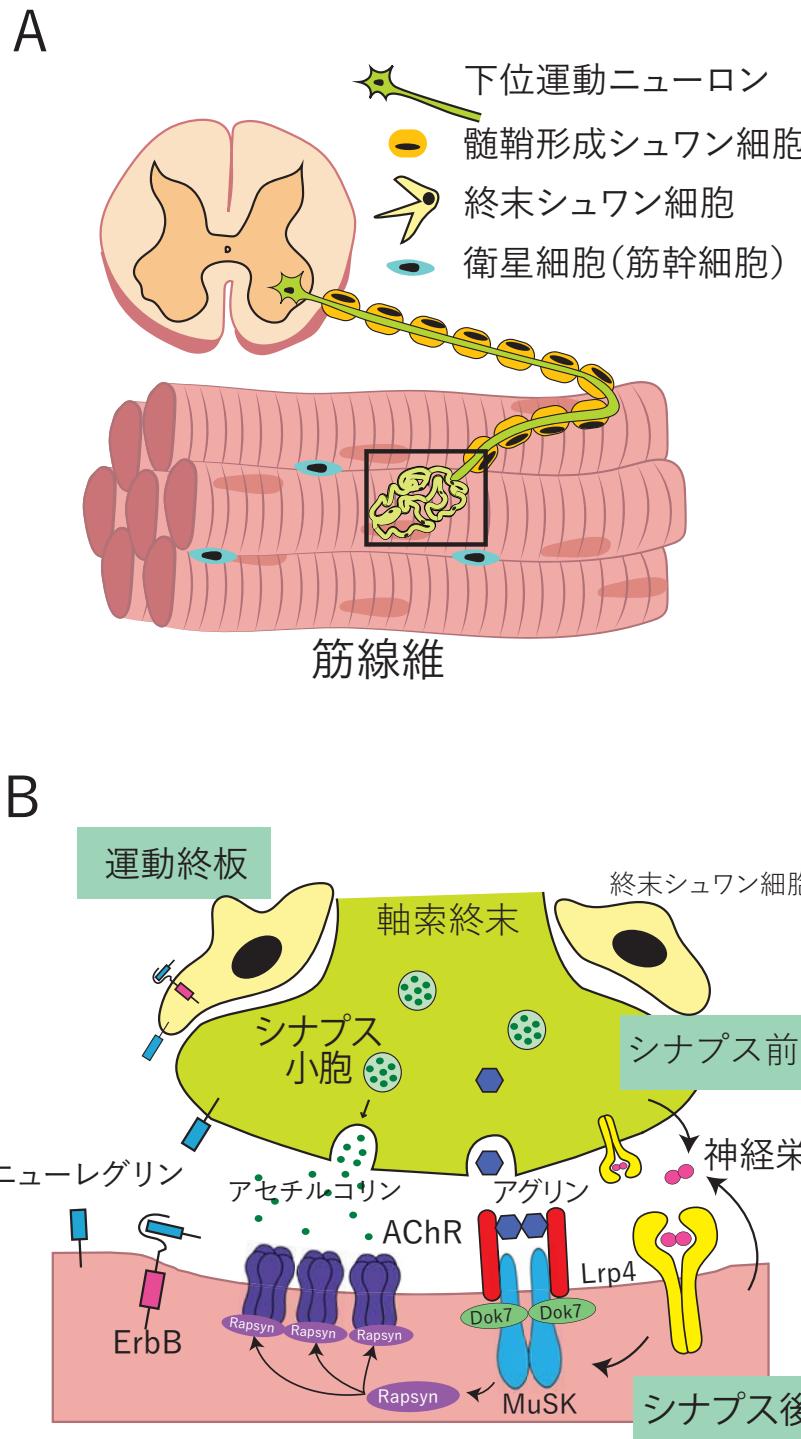


図1

神経筋接合部（神經筋接合部）(左)と運動終板(左図枠の拡大)。(A) 下位運動ニューロンは筋線維とシナプスし、神經筋接合部を形成する。シナプス周囲のシュワン細胞と衛生細胞も神經筋接合部の維持に関係している。(B) アセチルコリン受容体(AChR)は神經筋接合部に集中しており、Rapsynと同様にアグリン-Lrp4-MuSK-Dok7シグナル伝達が必要である。IGF, NRGなどの神經栄養因子もまた、神經筋接合部や運動ニューロンの生存維持に寄与している。Lrp4:低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質、MuSK:筋特異的キナーゼ、Dok7:チロシンキナーゼ7の下流、ACh:アセチルコリン、AChR:アセチルコリン受容体、ErbB:赤芽球性白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ。(Fujitani M et al., *Neural Regeneration Research* (2024) より改変して掲載)

## 我々の神経筋接合部研究のめばえ

我々が神経筋接合部研究に興味を持ったきっかけは、リハビリテーション科の石原医師が研究室に大学院生として参加することになったからである。彼のリハビリテーション学への意識の高さから、リハビリテーションに密接に関連したテーマを追求することがモチベーションを保つためには重要だと考えるようになっていた。大学院に入学する前に、毎月のように論文を共有し、潜在的な研究テーマを探求する会議を開催していた。その中で、現在臨床で使用されているボツリヌス毒素療法に興味をもち、ボツリヌス毒素の効果を延長できる可能性について話し合った。こうして、リハビリテーション科の医師と共に、ボツリヌス毒素療法の延長をめざし、神経筋接合部についての研究に取り組むことを決断した。

さて、ボツリヌス毒素療法とは、主としてA型ボツリヌス毒素（以下 BTX-A）（製品名ボトックス<sup>®</sup>、ゼオマイン<sup>®</sup>など）の筋肉への投与により、過度な筋肉収縮の症状を持つ患者（痙攣性斜頸、痙攣、小児脳性麻痺、片側顔面痙攣、眼瞼痙攣、過活動膀胱など）に対して末梢神経を麻痺させ、筋肉の収縮を抑えることで治療する確立された治療法である。

ただ、ボツリヌス毒素療法は、可逆的である点が安全で良い点でもあり悪い点でもあった。というのも、ボトックス<sup>®</sup>の使用にあたっては、規定の講習・実技セミナーの受講が必要で医師のみ注射を許可されている。島根県のような東西にながい県で、ボツリヌス毒素を投与できる医師が散在していた場合、何度も遠くの病院に注射に訪れる必要があった。また、使用用量の上限が決められていることが特徴であり、やみくもに投与すると

危険なだけではなく、身体の中でボツリヌス毒素に対する中和抗体が産生されて、効果が減弱してしまう恐れがあった。従って、ボツリヌス毒素の用量はそのままで、効果を自由に制御できることが、個別化医療（テーラーメイド医療）には必要であると当初考えていた。

それでは、どのように神経筋接合部を制御すればよいのか。研究を始めるまえは、見当もつかなかつた。制御を考えるためには、①：どういった過程で神経筋接合部が機能的に正常に戻るのかを知り、②：その現象を制御する分子を絞り込み、③：最後にその分子の機能を阻害することで達成可能であると考えた。まず古い論文であったが、偉大な先駆者の基礎研究の成果にたどり着いた。その研究では、神経筋接合部を可視化し、ボツリヌス毒素を投与後、神経筋接合部の障害が観察される。その後、末梢神経より側枝が形成され、それが元の神経筋接合部の再生を促すということを経時的に観察する説得力のある研究だった（図2）<sup>1)</sup>。それでは、この側枝形成をできなくすればよいのではないかという発想で研究を行い、側枝形成に重要な役割をもつと仮説を立てた神経栄養因子の一つ、インスリン様成長因子（Insulin-like Growth Factor: 以下 IGF）に着目することとした。

### インスリン様成長因子（IGF）とは

神経栄養因子は、1950年代に Levi-Montalciniによる神経成長因子（Nerve Growth Factor）の発見以降、機能的ににかよったさまざまな分子が発見された。我々が着目したのはインスリン様成長因子（IGF）である。インスリン様成長因子（IGF）-1 および 2 は、成長ホルモンの研究の過程で発見された分子で、インスリンに近い作用から、

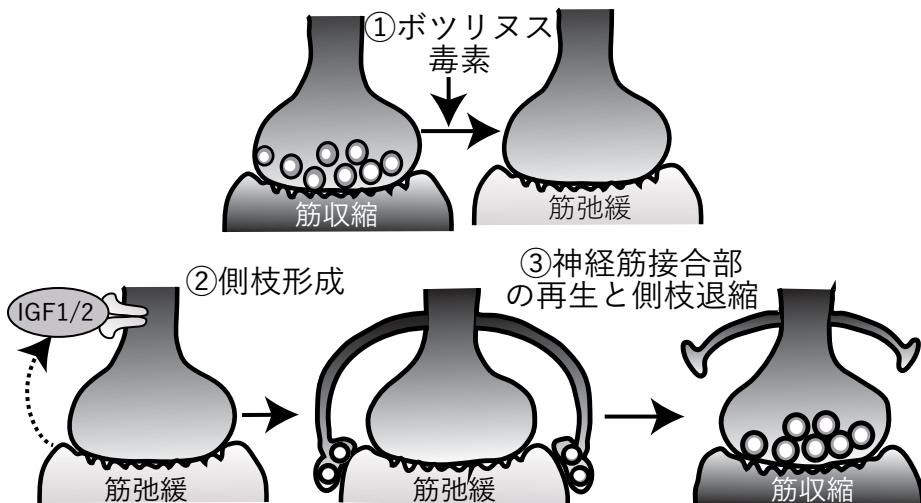


図2

神経筋接合部のボツリヌス毒素投与後の再生現象がなぜ起こるのかを説明する当時の仮説。①ボツリヌス毒素を投与すると、シナプス小胞からアセチルコリンの放出が抑制され、筋肉の麻痺が起こる。②次に、その再生には、軸索から伸びてきた側枝形成が重要で、側枝によって、元の神経筋接合部の再生が促される。③元の神経筋接合部が再生すると、不要になった側枝は退縮する。

その名前が名付けられた。インスリン様成長因子(IGF)は、生理学的および病理学的プロセスにおいて重要な役割を果たしており、受容体型チロシンキナーゼ、インスリン様成長因子1受容体(IGF1R)という受容体によってシグナル伝達される。

骨格系および神経系における神経成長因子として、IGF1Rシグナル伝達経路は、脳の発達、シナプス形成、神経保護、神経再生、および骨格筋の成長と分化を制御している<sup>2)</sup>。たとえば、筋肉は傷害を受けるとIGF-1とIGF-2の両方を発現し、IGF-1は衛星細胞を活性化し、骨格筋再生を促進する(図1A)。IGF-1はまた、PI3K/Akt/mTOR経路を介して骨格筋タンパク質の合成を増加させ、筋タンパク質分解経路やオートファジーに対抗することが示されている(図3)。さらに、IGF-2の第3イントロンの1塩基変異は、家畜のブタやノックインマウスにおいて、IGF-2

の転写が活性化され筋肉量を増加させる。さらに、IGF-1とIGF-2はPI3K/Akt/mTOR経路を活性化して筋新生を亢進させ、IGF-2は速筋線維の発達を制御する。最近では、免疫系での重要性も示されている<sup>2)</sup>。

治療応用としては、ガンの領域でその重要性が着目され、抗ガン剤の確立を目指して、さまざまな阻害方法が検討された。また、最近では、Horizon Therapeutics社の、Tepratuzumab(TEPEZZA®)の成功により、甲状腺眼症に対して、抗IGF1R阻害抗体が上市されている<sup>3)</sup>。

### 我々の神経筋接合部研究の成果

我々の研究成果を簡単に紹介する<sup>2)</sup>。まず、BTX-Aを筋内に投与したマウスに連続的に同部位に抗マウスIGF1R阻害抗体を投与すると、全く麻痺や筋肉が改善しなくなることが分かった(図3A,B)。そこで、当時の仮説通り、軸索から

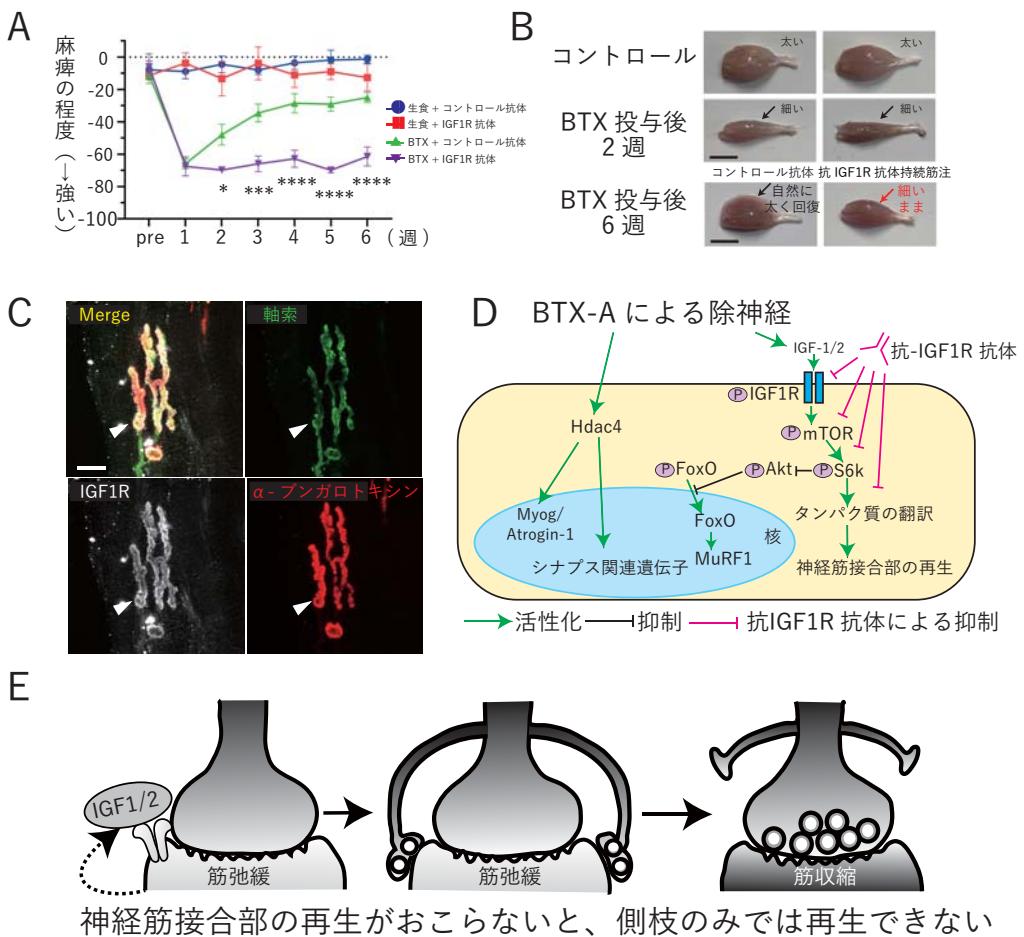


図3

(A) 抗 IGF1R 抗体をマウスの腓腹筋に注射すると BTX-A による麻痺が継続する。(B) BTX-A および抗 IGF1R 抗体をマウス腓腹筋に注射後の筋肉の回復がおこらない。(C) IGF1R (白) は、シナプス後部のマーカーである  $\alpha$ -ブンガロトキシン (赤) と共に局在する。シナプス前部の神經軸索終末とも共局在する。(D) BTX-A および抗 IGF1R 抗体を投与したときに起こる、筋細胞でのシグナル応答。抗 IGF1R 抗体によって、タンパク質の翻訳が特異的に抑制される。

(E) 最終的な結論：神經筋接合部に IGF1R が発現しており、IGF の作用によりタンパク質の合成が促進し、神經筋接合部自体の再生が起こることおよび側枝形成により麻痺が改善する。

(Ishihara H et al., *Cell Death Dis* (2023) より改変して掲載)

伸びる側枝を解析したが、麻痺が延長しているのにもかかわらず、側枝の伸びは変わらず起こっていることが分かり、側枝を介してのみ神經筋接合部が回復するのではないことが分かった。また、IGF1R がシナプス後部での発現が明確に確認されたことから（図 3 C），神經筋接合部を形態学的に解析した。シナプス前後部の異常が検出され、

抗 IGF1R 阻害抗体により、神經筋接合部の再生そのものが阻害されていることが分かった。さらに IGF1R は神經筋接合部のみならず、筋細胞の幹細胞と考えられている衛星細胞にも発現が認められた。先行研究として、筋幹細胞を除去すると逆に神經筋接合部再生を阻害するという論文があつたため、筋幹細胞の数の定量や分化の定量を

行ったが、有意な変化は認められなかった。最後に神経筋接合部の再生のシグナル伝達機構について、IGF1R のシグナルを抑えたときに、筋線維内でどのようなシグナルに影響が及ぶかを検討した。図3D に示すとおり、タンパク質の翻訳に関わる mTOR/S6 キナーゼ経路が特異的に阻害されることから、BTX-A により麻痺が起こった筋肉から分泌される IGF は、神経筋接合部に働いて、タンパク質の翻訳を介して、神経筋接合部の再生に直接寄与することが分かった。

### 運動ニューロン疾患における 神経筋接合部異常

我々の成果は、神経筋接合部再生を阻害するというユニークな発想の研究であったが、逆に神経筋接合部再生を運動ニューロン疾患などの神経筋疾患の治療に応用できないだろうか。まず、ターゲットとなる運動ニューロン疾患として、筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis: ALS)，脊髄性筋萎縮症 (Spinal Muscular Atrophy:SMA) について説明する。

ALS は神経変性疾患であり、散発性または家族性で中年以降に発症し、上部および下部運動ニューロンの変性に起因する様々な症状を特徴とする。C9ORF72, TDP43, SOD1 などいくつかの遺伝子の変異が ALS に関与していることから、動物モデルが作成され、それらに基づく研究からは、ALS では臨床症状が顕在化する前に下位運動ニューロンと筋線維間でつくられる神経筋接合部の変化が起こることが示されており、神経筋接合部の機能不全が疾患進行の前駆症状であることが示唆されている<sup>4)</sup>。

一方、SMA は SMN1 遺伝子の変異によって引き起こされる下位運動ニューロンに異常が起こ

る疾患であり、乳児期から成人期までさまざまな病型が存在するが、その重症度は SMN2 遺伝子によって調節される。マウスモデル研究から、重篤な症状が現れる前に、神経筋接合部に異常が見られること、SMN タンパク質は神経筋接合部の形成と成熟に必要であることが明らかになっている<sup>5)</sup>。

そして、神経筋接合部関連分子の発現を増強するアデノ随伴ウイルス (AAV) による遺伝子治療は、運動ニューロン疾患モデルにおいて神経筋接合部構造と筋機能の改善をもたらすこともあり<sup>6)</sup>、神経筋接合部が運動ニューロン疾患の治療ターゲットとなることが示唆される (図1B のアグリン-Lrp4-MuSK-Dok7 シグナル)。

それでは、これらの運動ニューロン疾患のモデル動物に対する IGF の治療効果を検討した研究の歴史を紹介する。最も古い研究は1995年に行われている。Wobbler マウスという、自然発症の下位運動ニューロン病のモデルと考えられていたマウスに、IGF-1 を投与すると、症状が少し改善するというものだった<sup>7)</sup>。

1994年に Gurney らにより、画期的な ALS モデルマウス、G93A-SOD1 トランスジェニック (Tg) マウスが開発され、IGF-1 の効果も様々な投与方法で確かめられた。まず、IGF-1 を全身で過剰発現する Tg マウスと G93A-SOD1Tg マウスを交配させるも、良い効果は認められなかった。

一方このモデル動物に、アデノ随伴ウイルスベクター (AAV) を筋肉に発現させて、逆行性に IGF-1 を発現させると症状が改善する<sup>8)</sup>。あるいは、筋肉内で特異的に IGF-1 を過剰発現しても改善する<sup>9)</sup>。これらの成果は、筋肉での IGF-1 の作用を考えるきっかけとなっている。

またその頃には、IGF-1 ペプチドによる臨床研

究の成果も上がってきていた。改善できたという結果と、改善しないという相反する結果が当初は存在した。結局最終的に330人のALS患者を擁しての大規模な研究が行われ、その報告を元にIGF-1の皮下注射のALSに対する効果は現在では否定されている<sup>10)</sup>。

しかし我々研究者は、未だに運動ニューロン疾患や、筋疾患の治療法としてのIGFを諦めていない。というのも、IGF-1タンパク質の皮下投与<sup>11)</sup>や、アデノ随伴ウイルスを用いてIGF-1をSMAモデル動物に発現させると症状の改善が認められるからである<sup>12-13)</sup>。そのほか、サルコペニアや筋ジストロフィーといった筋疾患での研究も進んでおり、IGFによる臨床研究は今後も継続されていく可能性がある<sup>6)</sup>。

### 結論と将来の展望

IGF-1の臨床試験での失敗について考察すると、運動ニューロン疾患も、症状が起こる前の超早期治療が必要である可能性がある。症状が強く起こってからのIGF-1投与では、不十分である可能性が高い。そこで、運動ニューロン疾患で、は

じめにどこに異常が起こってくるのかをしっかりと見極めることも重要と考えられ、新しい臨床研究（clinical trials.gov, NCT03573466）がパリ病院の研究者によって計画された。C9ORF72またはSOD1変異の発症前遺伝子異常保有者の筋肉サンプルの病理学的な神経筋接合部異常を同定することを研究目的としている。神経筋接合部の変性の過程を理解することで、その基礎にあるメカニズムをよりよく把握し、より効果的な治療法を開発することができると考えられる。研究の成果の発表が待たれる。

神経筋接合部は運動ニューロン疾患の発症と進行において重要な役割を果たしており、運動ニューロン疾患の経過を大きく変える可能性のある介入の標的であると筆者は考えている。今後も神経筋接合部の病態と修復について深く掘り下げたい。

### 利益相反

本原稿に関連する開示すべき利益相反はありません。

### 参考文献

- 1) de Paiva, A., et al., Functional repair of motor endplates after botulinum neurotoxin type A poisoning: Biphasic switch of synaptic activity between nerve sprouts and their parent terminals. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999. 96(6): p. 3200-3205.
- 2) Ishihara, H., et al., Blocking insulin-like growth factor 1 receptor signaling pathway inhibits neuromuscular junction regeneration after botulinum toxin-A treatment. Cell Death Dis, 2023. 14(9): p. 609.
- 3) Smith, T.J., et al., Teprazumab for Thyroid-
- Associated Ophthalmopathy. N Engl J Med, 2017. 376(18): p. 1748-1761.
- 4) Shefner, J.M., et al., Skeletal muscle in amyotrophic lateral sclerosis. Brain, 2023. 146(11): p. 4425-4436.
- 5) Mercuri, E., et al., Spinal muscular atrophy - insights and challenges in the treatment era. Nat Rev Neurol, 2020. 16(12): p. 706-715.
- 6) Fujitani, M., A. Tarif, and Y. Otani, Regeneration mechanisms and therapeutic strategies for neuromuscular junctions in aging and disease. Neural

- Regeneration Research, 2024.
- 7) Hantai, D., et al., Beneficial effects of insulin-like growth factor-I on wobbler mouse motoneuron disease. *J Neurol Sci*, 1995. 129 Suppl: p. 122-6.
  - 8) Kaspar, B.K., et al., Retrograde viral delivery of IGF-1 prolongs survival in a mouse ALS model. *Science*, 2003. 301(5634): p. 839-42.
  - 9) Dobrowolny, G., et al., Muscle expression of a local Igf-1 isoform protects motor neurons in an ALS mouse model. *J Cell Biol*, 2005. 168(2): p. 193-9.
  - 10) Beauverd, M., et al., Recombinant human insulin-like growth factor I (rhIGF-I) for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis/motor neuron disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 2012. 11: p. CD002064.
  - 11) Murdocca, M., et al., IPLEX administration improves motor neuron survival and ameliorates motor functions in a severe mouse model of spinal muscular atrophy. *Mol Med*, 2012. 18(1): p. 1076-85.
  - 12) Bosch-Marce, M., et al., Increased IGF-1 in muscle modulates the phenotype of severe SMA mice. *Hum Mol Genet*, 2011. 20(9): p. 1844-53.
  - 13) Tsai, L.K., et al., Systemic administration of a recombinant AAV1 vector encoding IGF-1 improves disease manifestations in SMA mice. *Mol Ther*, 2014. 22(8): p. 1450-1459