

# 博士論文要旨

## 筋萎縮性側索硬化症における 膜貫通糖タンパク質 GPNMB に関する研究

長原 悠樹

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は進行性に運動ニューロン変性や筋萎縮が生じる致死性の神経変性疾患である。現在承認されている治療薬の効果は十分ではなく、病態の解明や新規治療薬の開発が求められている。ALS の約 10% は特定の遺伝子変異が原因となる家族性 ALS であり、残りの約 90% は原因不明で発症する孤発性 ALS である。TDP-43 は孤発性、家族性いずれの ALS にも関与する。これまで変異 SOD1 誘発家族性 ALS モデルに対して、GPNMB は保護作用を示すことが明らかにされている。そこで、本研究では孤発性 ALS 患者脊髄における GPNMB の局在の検討や、変異 TDP-43 誘発運動ニューロン死に対する GPNMB の保護作用の検討を行った。また、GPNMB が脊髄損傷における筋萎縮を抑制することが報告されていることから、ALS モデルマウス骨格筋に対する GPNMB の作用を検討した。

### 1. ALS 患者脊髄における GPNMB 凝集体の局在

対照患者と比較して孤発性 ALS 患者の腰髄、胸髄、頸髄で、GPNMB 凝集体が有意に増加していた。また、孤発性 ALS 患者脊髄の GPNMB 凝集体は、GFAP 陽性アストロサイトや Iba1 陽性ミクログリアには局在せず、MAP-2 陽性ニューロンや SMI-32 陽性ニューロンに局在した。さらに、GPNMB 凝集体は TDP-43 と共局在した。以上より、孤発性 ALS 患者脊髄で増加した GPNMB 凝集体はアストロサイトやミクログリアには局在せずニューロンに局在していることや、孤発性 ALS 患者脊髄における GPNMB 凝集体は TDP-43 と関連があることを明らかにした。

### 2. 変異 TDP-43 誘発運動ニューロン死に対する GPNMB の作用

変異 TDP-43 遺伝子導入および血清除去によって運動ニューロン死が惹起されたが、リコンビナント GPNMB の添加によって濃度依存的に抑制された。変異 TDP-43 遺伝子導入および血清除去によってリン酸化 ERK1/2 およびリン酸化 Akt の発現が減少したが、リコンビナント GPNMB によっていずれも増加した。以上より、GPNMB は変異 TDP-43 誘発運動ニューロン死を ERK1/2 経路や Akt 経路の活性化を介して抑制す

ることが示唆された。

### 3. ALS モデルマウス骨格筋に対する GPNMB の作用

SOD1<sup>G93A</sup> マウスおよび孤発性 ALS 患者骨格筋では、GPNMB の C-末端断片の発現が有意に増加した。SOD1<sup>G93A</sup> マウス骨格筋萎縮に対する GPNMB の作用を検討するために、SOD1<sup>G93A</sup>/GPNMB マウスを作製し、腓腹筋の組織評価や神経筋接合部における脱神経の評価を行った。SOD1<sup>G93A</sup>/GPNMB マウスは、SOD1<sup>G93A</sup> マウスで認められた筋萎縮を有意に改善した。また、SOD1<sup>G93A</sup> マウスで認められた筋線維の組織障害や神経筋接合部の脱神経が有意に改善した。GPNMB が骨格筋に直接作用するか否かを検討するために、GPNMB プラスミド DNA を筋肉内投与し、組織評価などを行った。腓腹筋選択的な GPNMB の過剰発現により、筋線維の組織障害が有意に改善した。

以上より、GPNMB は変異 SOD1 が関連する家族性 ALS だけではなく、孤発性 ALS に対しても有用である可能性が考えられた。また、GPNMB は脊髄と骨格筋という ALS 病態において重要な異なる 2 つの組織において作用し、保護作用を示すことが示唆された。

#### 【略語】

Akt	: protein kinase B
ALS	: amyotrophic lateral sclerosis
ERK1/2	: extracellular signal-regulated kinase 1/2
GPNMB	: glycoprotein transmembrane non metastatic melanoma B
SOD1	: superoxide dismutase 1
TDP-43	: transactive response (TAR)-DNA-binding protein-43 kDa

## 論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	長原 悠樹 ( 岐阜県 )
学位の種類	博士（薬科学）
学位記番号	甲 第7号
学位授与年月日	平成29年3月10日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文の題名	筋萎縮性側索硬化症における膜貫通糖タンパク質GPNMBに関する研究
論文審査委員	(主査) 保住 功
	(副査) 稲垣 直樹
	(副査) 福光 秀文

本論文は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者脊髄における膜貫通糖タンパク質 glycoprotein nonmelanoma protein B (GPNMB) の局在、TDP-43 との関連および ALS モデルマウスの骨格筋萎縮に対する作用を検討し、その研究成果をまとめたものである。

GPNMB 凝集体が、孤発性 ALS 患者の腰髄、胸髄および頸髄で増加することを明らかにした。孤発性 ALS 患者脊髄で増加した GPNMB 凝集体は、アストロサイトやミクログリアには局在せず、ニューロンに局在すること、また、ALS 患者腰髄灰白質において TDP-43 と共局在することを明らかにした。GPNMB の作用機序は、ERK1/2 経路や Akt 経路の活性化を介して変異 TDP-43 誘発運動ニューロン死を抑制することが示唆された。さらに、GPNMB は ALS 患者やモデルマウス骨格筋において発現が増加することや、GPNMB の過剰発現が ALS モデルマウスの骨格筋萎縮、筋線維の組織障害および神経筋接合部の脱神経を改善することなどを明らかにした。

以上、本論文は、GPNMB は ALS 病態に深く関与している重要な器官である脊髄および骨格筋にそれぞれ作用し、ニューロン死の抑制や筋萎縮の抑制を示すことを明らかにした。これらの結果は、ALS の治療における標的分子の一つとして、GPNMB が有用であることを示唆しており、博士（薬科学）論文として価値あるものと認める。