

# 博士論文要旨

## 筋萎縮性側索硬化症に対する 新規治療薬の創出に向けた研究

上田 智之

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) は、上位また下位の運動神経の変性、脱落を伴う進行性の神経変性疾患である。本邦における患者数は約 1 万人前後であり、高齢化社会を迎える現代においては増加傾向にある。家族性 ALS の内、約 20%が *copper / zinc superoxide dismutase 1 (SOD1)* の変異である。野生型 SOD1 が安定したホモダイマーを形成するのに対して、変異型 SOD1 はその 3 次構造に異常をきたし細胞内に蓄積、神経細胞障害を引き起こす。この凝集体は家族性のみならず、孤発性 ALS 患者の運動神経でも確認できる。以上より、神経細胞内における異常タンパク質の蓄積の抑制が治療ターゲットの一つになる。

本研究では、ALS に対する新規治療薬のシーズを提言するため、まずは *in vitro* 実験系における病態モデル細胞を作製した。さらにこのモデル細胞を用いて、予防医学の観点、抗酸化作用の観点、複合的な作用の観点から真に有効な ALS 治療薬を提言することを目的として研究を行った。

### 1、機能性食品を用いた予防医学に向けて

日常的に摂取可能であるという観点から、プロポリスに着目して検討した。結果、プロポリスまたその含有成分である kaempferol や p-coumaric acid がオートファジーの活性化、並びに抗酸化作用を介して神経保護的に作用することを明らかにした。上記の化合物を含有したプロポリスは、長年のストレスで発症する神経変性疾患に対して有効な予防薬としての役割を担うことが考えられる。

## 2、抗酸化に着目した新規治療薬の提言に向けて

ALS の進行には過剰な酸化ストレスが関与している。その為、抗酸化剤が治療薬候補になり得ると考え、gem-dihydroperoxides (DHPs) に着目し検討を行った。DHPs は抗酸化剤としての作用が報告されている。本研究では DHPs の内、12AC20 が変異 SOD1 誘発性の $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}^{2-}$ を除去することで細胞内凝集体を抑制、さらに変異 SOD1 による神経毒性に対する保護効果を有することを明らかにした。以上より、抗酸化作用を有する 12AC20 を基盤とした ALS に対する治療薬の創出が期待できる。

## 3、ヒト乳歯歯髄幹細胞を用いた治療基盤の構築

ALS が単一の薬剤のみで治療できる疾患ではないと考え、複合的な作用を期待して SHED-CM を用いた。SHED-CM には多様な因子が豊富に含まれている。本研究では、SHED-CM が変異 SOD1 毒性に対して HSP70 や IGF など多様な因子を介して保護作用を有していることを示した。さらに、ALS 患者由来 iPS 細胞を用いた検討においては、SHED-CM が孤発性および家族性 ALS 患者由来の運動神経細胞にも保護的に作用することを明らかにした。従って、多くの ALS 患者で有効な治療薬になり得ることが考えられる。

本研究では、様々な観点から ALS に対する治療薬の候補を提言した。これらの知見は十分な治療薬が見出されていない ALS の治療薬の開発に向けた基盤になり得るものであり、今後のトランスレーショナル研究に有用である。

SHED-CM : Stem cells from human exfoliated deciduous teeth-conditioned medium

HSP 70 : Heat Shock Protein 70

IGF : insulin-like growth factor

iPS : induced pluripotent stem cells

## 論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	上田 智之 ( 京都府 )
学位の種類	博士（薬科学）
学位記番号	甲 第 4 1 号
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 1 0 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対する新規治療薬の創出に向けた研究
論文審査委員	(主査) 原 宏和
	(副査) 遠藤 智史
	(副査) 中村 信介

本研究は、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に対する新規の治療薬シーズの探索を行ったものである。アジアでは ALS 患者に *Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1)* の変異が多く報告されている。立体構造に異常をきたした変異 SOD1 は、細胞内に蓄積し細胞障害を起こすことから、異常タンパク質の蓄積を抑制することは ALS の治療につながると考え、以下の 3 つの観点から研究を実施した。①予防医学的な観点から、プロポリスおよびその含有成分である kaempferol、*p-coumaric acid* に着目し、これらがオートファジーを介して細胞内凝集体の蓄積、神経毒性を抑制すること、②酸化ストレスの観点から、新規抗酸化剤 *gem-dihydroperoxides (DHPs)* に着目し、DHPs が変異 SOD1 の細胞内凝集体形成、細胞毒性を抑制することを見出した。また、③複合的な作用を期待した創薬としてヒト乳歯髄幹細胞 (SHED) に着目し、SHED の無血清培養上清 (SHED-CM) に含まれる様々な神経栄養因子が複合的に作用し変異 SOD1 毒性を抑制することを明らかにした。さらに、疾患特異的 iPS 細胞を用いた検討から、SHED-CM は家族性のみならず、孤発性 ALS の治療にも有効である可能性を示した。

本研究は、ALS の新規治療薬の開発につながる有益な治療薬シーズを見出したことから、博士（薬科学）の論文として価値あるものと認める。