

Title	Neuroprotective Effect of Activity-Dependent Neurotrophic Factor Against Toxicity From Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked Mutant SOD1 In Vtro and In Vivo
Sub Title	in vitroおよびin vivoにおける家族性筋萎縮性側索硬化症変異型SOD1の神経毒性に対するActivity-dependent neurotrophic factorの神経保護作用
Author	千葉, 知宏(Chiba, Tomohiro)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.17-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0017">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0017</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Neuroprotective Effect of Activity-Dependent Neurotrophic Factor Against Toxicity From Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked Mutant SOD1 In Vitro and In Vivo.

(in vitroおよびin vivoにおける家族性筋萎縮性側索硬化症変異型SOD1の神経毒性に対する Activity-dependent neurotrophic factorの神経保護作用)

千葉 知宏

## 内容の要旨

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis : ALS) は中年以降に発症する最も頻度の高い致死性の運動神経疾患である。現在、ALSに対する根治療法は存在しない。多くの研究によって、家族性ALS (FALS) 変異型スーパーオキシドディスムターゼ1 (SOD1) のアポトーシス誘導活性がFALSの病態において重要な役割を果たすことが支持されてきた。我々は元々、抗アルツハイマー病作用を持つものとして同定されたActivity-dependent neurotrophic factor (ADNF) が、3種のFALS変異型SOD1 (A4T-, G85R-, およびG93R-SOD1) に起因する神経細胞死を用量依存的に抑制することを発見した。SOD1変異体が誘導する神経細胞死に対するADNFの神経保護作用は、100nMという極めて低い濃度で完全に発揮される。また、このADNFの神経保護作用は1 nM以上の濃度でも維持される。この発見はADNFがアルツハイマー病関連神経毒性に対しては、1 nM以上の高濃度において神経保護作用を失うというこれまでに発見された特徴とは明白に異なる。さらに我々は、SOD1変異体が誘導する細胞死に対するADNFの神経保護作用は、Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-dependent protein kinase IV (CaMKIV) と特定のチロシンキナーゼがADNFによって媒介されることを明らかにした。ALS動物モデル、G93A-SOD1トランスジェニックマウスを用いた検討から、合成ADNFペプチドの脳室内投与によって生存期間の延長はわずかであったものの運動機能を向上させることを明らかにした。このように、本研究は、ALS治療薬開発において新たな知見を提供するものと考えられる。

## 論文審査の要旨

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は中年以降に発症する最も頻度の高い致死性の運動神経疾患であり、有効な治療薬は存在しない。本研究では、家族性ALS (FALS) 変異型SOD1の誘導する神経毒性に対するActivity-dependent neurotrophic factor (ADNF) の効果を検討した。ADNFは3種のFALS変異型SOD1 (A4T-, G85R-, およびG93R-SOD1) の起因する神経細胞死を用量依存的に抑制し、このADNFの神経保護作用が、Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-dependent protein kinase IV (CaMKIV) と未同定のチロシンキナーゼによって媒介されることを明らかにした。さらに、in vitro実験結果に基づいて、ALS動物モデルであるG93A-SOD1トランスジェニックマウスを用いて合成ADNFペプチドの脳室内投与実験を行なった結果、ALSモデルマウスの運動機能が有意に改善されることが示された。

審査ではまず、ADNFの受容体についての質問がなされた。それに対して、現在のところ受容体が同定されていないが、膜表面の分子を想定して現在探索中であると回答された。次に、変異型SOD1遺伝子の導入効率と導入後の神経細胞死比率に関する質問がなされ、これに対しては60-70%の安定した導入効率結果を得ていること、細胞死の判定にはtrypan blue dye exclusion testが用いられているがWST-8 testと併用した場合にも同様のデータが得られていること、導入効率と細胞死率から変異体が導入された細胞において高率に細胞死が誘導されていると想定されているが今後その直接的証明を行いたいなどの回答がなされた。さらに、Aβに対するADNFの神経保護作用とSOD1変異体に対する神経保護作用の違いに関して質問がなされ、Aβに対する神経保護作用を媒介するHSP60の機能を抑制してもSOD1変異体に対する神経保護作用が抑制されないことが回答された。また、ADNFをモデルマウスに投与した際に顕著な寿命延長がみられないことに関する議論がなされ、運動機能に対する効果と寿命に対する効果は別個に考察されるべきであること、運動機能の指標の他に体重の変化を観察すること、および経時的に組織学的な変化を観察することの助言がなされた。投与したADNFの体内動態に関する質問もなされ、今後血中、脳脊髄液中での濃度を測定する系を確立することの重要性が議論された。最後に、臨床では孤発性のALSが大部分であり、今回得られたSOD1変異体に対するADNFの抗ALS作用をもとに孤発例に応用することが重要であるとの助言がなされた。

以上のように、現在有効な治療法が存在しないALSに対して新規の治療薬シーズとなる分子を同定した本研究は今後の発展により臨床応用に結びつく可能性が高い有意義な研究であり、博士論文として妥当なものであるものと認められた。

論文審査担当者 主査 解剖学 相磯 貞和  
内科学 鈴木 則宏 解剖学 仲嶋 一範  
生理学 岡野 栄之

学力確認担当者:

審査委員長: 鈴木 則宏

試問日: 平成17年 3月 2日