

氏 名（本籍）	いし 石 がい 垣 あ や
学 位 の 種 類	博 士 （医 学）
学 位 記 番 号	医 博 第 2 1 6 6 号
学位授与年月日	平 成 17 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻
学 位 論 文 題 目	トランスジェニックラットを用いた筋萎縮性側索 硬化症の治療法開発研究 －汎カスパーゼ阻害剤と肝細胞増殖因子の髄腔内 投与による治療効果の検討－

（主 査）

論 文 審 査 委 員	教授 糸 山 泰 人 教授 出 江 紳 一
	教授 北 本 哲 之

論文内容要旨

家族性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に対する新規治療法の開発のために、その動物モデルである *Cu/Zn superoxide dismutase 1 (SOD1)* トランスジェニック (*Tg*) ラットに *pan caspase inhibitor* である *Benzoyloxycarbonyl-Val-Ala-Asp fluoromethylketone (Z-VAD-fmk)* と、肝細胞増殖因子 (*hepatocyte growth factor: HGF*) の髄腔内持続投与を施行し、その治療効果を検討した。

2000年、Liらにより報告された *Z-VAD-fmk* の *G93A SOD1 Tg* マウスへの脳室内投与では、発症と死亡の遅延が報告されている。本研究ではより効率よく脊髄前角運動神経細胞へ薬剤を投与するために実験動物の体重あたり Liらの実験と同量の *Z-VAD-fmk* の髄腔内投与を行ったが、Liらの実験結果に反して、*Z-VAD-fmk* 髄腔内投与群の発症は対照群と比較して有意に早期に認められ、脊髄前角運動神経細胞の減少も早かった。*Z-VAD-fmk* の髄腔内投与は、*caspase cascade* を抑制していたが、*caspase cascade* 以外の細胞死関連因子を増強していた。髄腔内投与では投与量が同じでも脳室内投与より高濃度の *Z-VAD-fmk* が脊髄前角運動神経細胞まで到達すると推測され、*Z-VAD-fmk* がある程度以上に強く *caspase cascade* を抑制すると *caspase cascade* 以外の機序を増強させ、脊髄前角運動神経の細胞死を促進してしまうと考えた。2002年にはSunらにより *G93A SOD1 Tg* マウスと、肝細胞増殖因子 (*HGF*) を神経特異的に高発現するマウスとをかけ合わせて作成した *ALS-HGF* ダブル *Tg* マウスで、運動神経細胞脱落、運動機能障害が抑制され、寿命の延長が認められた。*HGF* の臨床応用を目的として本研究では、ヒトリコンビナント *HGF* 蛋白の髄腔内投与を行った。平均発症は *HGF* 投与群が 133 ± 13.0 日、対照群が 125 ± 10.8 日と、*HGF* 投与群が対照群よりも有意に発症が遅延した。また、発症から死亡までの期間は *HGF* 投与群が 154.3 ± 16.4 日、対照群が 143.25 ± 17.0 日と、*HGF* 投与群が対照群よりも有意に延長した。*HGF* の作用機序はまだ全て明らかになってはいないが、本研究では *caspase-3*, *9* の活性抑制と、*X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP)*, *exitatory amino acide transporter 2 (EAAT2)* の減少抑制を認め、細胞死の機序の抑制のみならず細胞保護機能の維持にも働くことが示唆された。以上の結果より、ALSの治療として、全 *caspase* を抑制する物質よりも、*caspase* 抑制、*EAAT2* 保持、*XIAP* 保持など複数の作用を持つ *HGF* に治療効果をより期待できる。

審査結果の要旨

本論文は家族性筋萎縮性側索硬化症（ALS）に対する新規治療法の開発のために、その動物モデルである Cu/Zn superoxide dismutase 1 (SOD1) トランスジェニック (Tg) ラットに pan caspase inhibitor である Benzyloxycarbonyl-Val-Ala-Asp fluoromethyl ketone (Z-VAD-fmk) と、肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor : HGF) の髄腔内持続投与を施行し、その治療効果を検討したものである。

2000年、Liらにより報告された Z-VAD-fmk の Tg ALS マウスへの脳室内投与では、発症と死亡の遅延が報告された。本研究ではより効率よく脊髄前角運動神経細胞へ薬剤を投与するために Z-VAD-fmk の ALS ラットの髄腔内投与を行ったが、Liらの実験結果に反して、有意に発症が早まり、運動神経細胞の減少も早かった。Z-VAD-fmk の髄腔内投与は、caspase cascade を抑制していたが、caspase cascade 以外の細胞死関連因子を増強しており、運動神経の細胞死を促進してしまうと考えた。

一方、2002年には Sunらにより G93A SOD1 Tg マウスと、HGF を神経特異的に高発現するマウスとを掛け合わせて作成した ALS-HGF ダブル Tg マウスで、HGF が ALS の寿命を延長する効果が認められた。HGF の臨床応用を目的として本研究では、ヒトリコンビナント HGF 蛋白の髄腔内投与を行った。平均発症は HGF 投与群が 133 ± 13.0 日、対照群が 125 ± 10.8 日と、HGF 投与群が対照群よりも有意に発症が遅延した。また、発症から死亡までの期間は HGF 投与群が 154.3 ± 16.4 日、対照群が 143.25 ± 17.0 日と、HGF 投与群が対照群よりも有意に延長した。本研究では caspase-3, 9 の活性抑制と、X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP), excitatory amino acid transporter 2 (EAAT2) の減少抑制を認め、細胞死の機序の抑制のみならず細胞保護機能の維持にも働くことが示唆された。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。