

令和 2 年 6 月 6 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09760

研究課題名(和文) GOMの酵素活性を標的としたCADASILの治療戦略の展開

研究課題名(英文) Therapeutic target for enzymatic activity of granular osmiophilic material in CADASIL

研究代表者

植田 明彦 (Akihiko, Ueda)

熊本大学・病院・助教

研究者番号：30613525

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)の病源性蓄積物であるgranular osmiophilic material (GOM)に補酵素の化学反応があると仮説を立てた。本研究ではこの仮説を検証するため、CADASILのモデルマウスに酵素阻害薬を投与した。酵素阻害薬投与群では、生存期間の延長が見られた。しかし、6ヵ月から12ヵ月の成長期において、著明な体重増加不良がみられた。臨床応用には、投与方法を工夫する必要があると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
根治的治療法のない遺伝性疾患に対して、治療法開発の糸口をつかむことができた。本研究を基盤として、実際に臨床応用を目指して、治療薬の適切な投与方法や投与量を検討する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Enzymatic proteins activate chemical reactions of cofactors. The chemical reactions of cofactors are common, while enzymatic proteins are various. Thus, chemical reactions in cofactors are suitable to therapeutic targets. We hypothesized that granular osmiophilic material (GOM) in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) have enzymatic activity. To elucidate the hypothesis, we investigate the effect of enzymatic inhibitors on CADASIL model mice. The enzymatic inhibitor was effective to CADASIL model mice. However, it was harmful to inhibit increasing body weight of young mice.

研究分野：脳神経内科

キーワード：CADASIL 病源性蓄積物 酵素阻害薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)は、*NOTCH3*の単一遺伝子異常による常染色体優性の遺伝性脳血管障害である。20代で片頭痛、40代で脳梗塞を繰り返し、60代で認知症に至る。Notch3の細胞外ドメインである epidermal growth factor like repeats (EGFr)に1つのアミノ酸置換が生じ、不對のシステイン残基が形成される。それが何らかの翻訳後修飾を受けると Notch3の細胞外ドメインが切断され、血管平滑筋細胞膜上に蓄積して、電子密度の濃い顆粒 granular osmiophilic material (GOM)を形成する。Notch3は本来 Notch3 リガンドとの結合を契機に細胞外ドメインが切断され、細胞外ドメインはリガンドとともにサイトーシスされて、分解されるが、遺伝子変異による Notch3 蛋白質が変化して、正常の代謝経路を外れ、細胞外に蓄積して、蛋白凝集体を形成する。このように蛋白質が凝集体を形成する正確な分子機構は明らかになっておらず、Notch3の正常の活性化の分子機構も明らかになっていない。

我々は本研究を行うにあたり、CADASILの病原性蛋白質凝集体 GOMは酵素活性を有していると仮説を立てた。本仮説を検証するため、本研究を行った。

#### 2. 研究の目的

CADASILのGOMに酵素活性があり、CADASILの病態に関与していることを明らかにすること。

#### 3. 研究の方法

本酵素阻害薬のヒトへの最大投与量は 10 mg/ 50 kg/日であり、本投与量をマウス 30 gの投与量換算した。マウス 30 gあたりの投与量は、 $0.006 \text{ mg/日} \times \text{ヒト等価用量 } 12.3 = 0.073 \text{ mg/30 g/日}$ である。1ゲージ5匹の7日間の投与量は  $0.073 \text{ mg} \times 5 \text{ 匹} \times 7 \text{ 日}$ であり、2.5 mgを5匹のマウスが1週間かけて消費するとヒトでの最大投与量に相当する。

本研究では、過去の文献を参考にして、30 mgの本薬剤を200 mlの蒸留水に溶解して、飲水投与した。マウス5匹あたりの1週間の飲水量は平均50 mlであり、7.5 mgを5匹のマウスが1週間かけて消費した。従って、本投与量はヒトでの投与量の3分の1に相当する投与量であった。

以上の投与量でCADASILのモデルマウスに飲水投与して、投与群と非投与群の生存期間を比較するとともに、酵素組織化学染色により薬剤の分布を評価した。

#### 4. 研究成果

CADASILのモデルマウスの薬剤投与群の平均生存期間は27ヵ月であり、薬剤未投与群の平均生存期間は24ヵ月であることから、投与群で3から4ヵ月延長する程度であった。

副次的作用として、投与群では、CADASILのモデルマウスおよび野生型のモデルマウスの両方で体重増加不良を認めた。

第2群への投与は生後3ヵ月から9ヵ月に投与した。投与期間の体重は増加しなかったが、投与中断後には、体重が増加した。以上の結果から、本副次的作用の体重増加不良は可逆性であった。

病理所見では、薬剤投与群でGOMの蓄積は減少していなかったが、脳表血管の新生血管の増殖が抑制されていた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nagatoshi A, Ueda M, Ueda A, Tasaki M, Inoue Y, Ma Y, Masuda T, Mizukami M, Matsumoto S, Kosaka T, Kawano T, Ito T, Ando Y. Serum amyloid P component: A novel potential player in vessel degeneration in CADASIL. Journal of the neurological sciences. 2017, 379, 69-76.	4. 巻 379
2. 論文標題 Serum amyloid P component: A novel potential player in vessel degeneration in CADASIL.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of the neurological sciences	6. 最初と最後の頁 69-76.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 植田明彦、馬翊竝、植田光晴、中島誠、永利聡仁、神力悟、松井啓隆、安東由喜雄
2. 発表標題 CADASILの診断における皮膚病理検査の有用性の検討
3. 学会等名 日本脳卒中学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ueda A, Ueda M, Nagatoshi A, Ma Y, Ando Y
2. 発表標題 Histochemical analysis of granular osmiophilic material in CADASIL patients.
3. 学会等名 XX World Congress of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----