科研費

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 元年 6月26日現在

機関番号: 14301

研究種目: 研究活動スタート支援

研究期間: 2018~2018

課題番号: 18H06088

研究課題名(和文)初代培養細胞モデルによる多系統萎縮症治療薬の開発

研究課題名(英文) In Vitro Drug Screening for Multiple System Atrophy

研究代表者

梶 誠兒 (Kaji, Seiji)

京都大学・医学研究科・特定研究員

研究者番号:90830141

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究を通じて申請者らは多系統萎縮症(MSA)の治療候補薬発見を目的として、申請者らが以前に論文発表したMSAの細胞モデルの網羅的な遺伝子解析を行い、その結果から導き出されたMSA治療候補薬のモデル細胞機能改善効果の検証を行った。さらにMSA動物モデルへの投与開始に着手することが出来た。

これに加えてMSAにおいて異常に蓄積する -シヌクレイン蛋白がオリゴデンドロサイトの再生や機能維持にとってどのようなインパクトを与えるかを生体・細胞環境下の両方の観点から検証することが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多系統萎縮症(MSA)は発症原因が不明で治療法の発見されていない神経難病であり、発症からの予後は6-10年とされる。本研究により申請者らは少なくとも細胞実験レベルで病態改善を期待できるMSA治療候補薬を見出すことが出来た。現在はMSA動物モデルに対して治療候補薬の有効性を検証中である。またMSAにおける神経細胞変性が生じるメカニズムについてオリゴデンドロサイトの分化・成熟障害という観点から重要な知見を得ることが出来た。

研究成果の概要(英文): In this study, we have conducted RNA-seq analysis of primary oligodendrocytes which contain -synuclein-immunoreactive inclusions modeling the cellular pathology of Multiple System Atrophy. Based on the results from the RNA-seq analysis, we focused on a drug and confirmed the therapeutic potential against our cellular MSA model. Currently, we have proceeded to in vivo evaluation using a MSA mouse model to reveal the disease-modifying effect of the candidate drug.

In addition, we have assessed the impact of pathological -synuclein against differentiating/myelinating immature oligodendrocytes through in vivo/in vitro investigation.

研究分野: パーキンソン病関連疾患

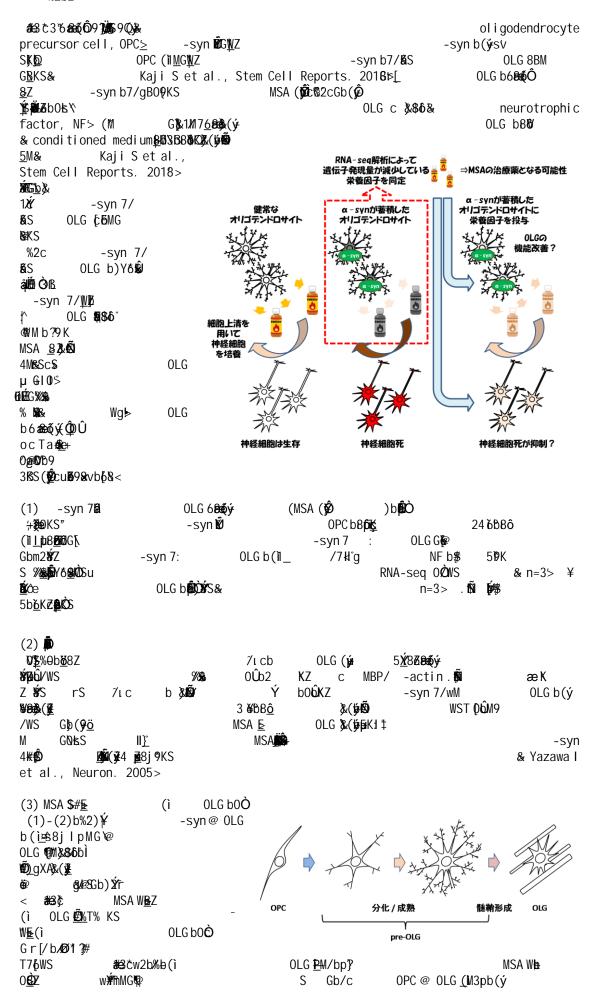
キーワード: 多系統萎縮症 -シヌクレイン オリゴデンドロサイト オリゴデンドロサイト前駆細胞

```
≯> %26abů
                                     multiple system atrophy, MSA&4/₫ ₽&7A
  1.1 SBA® 1ft2x类
 SM&&&B
                                                                      24 ▮ ¥
 6 > 10 1/1 #158/M. cc Ñ
8
  6&
                                          8WS&7$cK<u>8</u>(*®®A@SMGN &
               €%2bz%€
                                                                                MSA c PD ¥$4KS
 (a)
                                                                                                                                                                                              -<sup>3</sup>/<sub>4</sub>
                         -syn>#68MG#284661
  MSA b$#d0bKZ2A$\(\)j\(\)j\(\)z\(\)}\(\)j\(\)
                                                                       -synb(ýs@9I
                                                                                                                                                     -syn b7/c
x<u>M</u>₭$4KS
                                                                                                                                                                                          PD &
                                                                                                                                                         oligodendrocyte, OLG>
Z&(9bM[
                                                                               MSA C
 (₽b}
                                       Glial Cytoplasmic Inclusion& GCI&
                                                                                                                          MSA btó/6ik
  GCI c& ( 1/2 WZ) b~
 & Wenning GK et al., Ann Neurol. 2008
                                                                                                                MSA 88S
                                                                                                                                                            PD 87/$
 -syn $xbb4/
 DM$ckB
  MSA <u>E</u>∰‰£Ibc}
                                                                                                                                                            -syn -sKS
 PD b$6$2M&BA7KS&
                                                                                                                                                                                       6#1
 b$áx$63agC®
  OLG c By BKw9 $6234MTE (2) $86 &
                                                                                                                                                                                                       NF'>
                                                                                                                 Wilkins A et al., J Neurosci. 2003> MSA
 @MG)&1<u>&</u>28&
                                                                         NF $21X/6664081/6
b&ö7GKS
 & Fellner L et al., Acta Neuropathol. 2011> Wallc
                                                                                                                                 MSA <u>⊾</u>
                                                                                                                                                                    0LG (
 (¼6ŏMì\W
                                                                          &KSvb>
  0LG c₩
                                                                                                                                                                            MSA剖検脳のGCI
                                            正常なOLGと神経細胞の関わり
                                                                                                                      多系統萎縮症脳のOLG
                                             活動電位の伝達
 "S 9Q(ý+
 & oligodendr
ocyte
precursor
cell > @(
                                                                                                                                                                          リン酸化α-syn抗体による染色
スケールは20μm
ВM
                                                                                                                                            神経栄養因子の産生低下
                                                                              神経栄養因子の分泌
G 🎾
             OPC cB
 ⊬y⁄o
                                                                                                                                                OPC (OX MG)
 ₩Ø
                                   OLG b#es&
                                                                                             Levine JM et al., Trends Neurosci. 2001> 🚜
                                   -syn 7wM
                                                                             OPC 82
                                                                                                                 monocarboxylate transporter 1 (MCT1)x
 } c3"
insulin-like growth factor-1 (IGF-1) &WS &11/b #MG K
S& Kaji S et al., Stem Cell Reports. 2018SZ
                                                                                                                                                            -syn 7/
                                                                                                                                                                                      qBKS
                             OLG 3KX
OLG cG^
                                                               myelin basic protein& MBP№A. Ñö©
BYENG WENGESGID) Y
                                                                                                                                                   -syn 7/wM
                                                                                                                                                                                                 OLG _
87/81/b#@G@
                                            263(£G)
OLG [#6] MG[Db/BKOXb]&1/
Ib)s0
                                                                 MSA bsvbs
                                                                                                                                                         4#b686%
Вt
                                            -syn b⊠
                                                                            OPC b (768 c Nav bb)&
$6<u>₹</u>8j}
                                                              non-cell autonomous 86KZGr%2@S
& Ettle B et al., Mol Cell Neurosci. 20142c)Y6
               OLG %(\(\forall b\) P\(\forall b\) P
ΚZ
6₹
0> %2b% $
  %2cS3kb
                                            GCI bgB 8 8 6 8 8 B
KS$K#$ZZMG[
                                                                                                       MSA b$0$6 $bMG@
%
```

&B

Ab#7

AXZDXZ



```
pre-OLG 🍇
                                Wg!
                                           bsľ<u>$</u>1M/6Gb/
%Z
         MSA WBZ
                                äß
                                           -syn 7b⊠
                                                             pre-0LG Xb%&61
MADKS
                            rSÉBrScÞ1%$
                       ÄB
₩¥S
                                  -syn bØ
                                              Image J ≬Ò
                                                                         0i 5l 8'
  5KS
2> %2BÝ
(1)
       -syn 7w
                         0LG b(®b(x)) (∕
                                                                 Ngfí Fgf1 🏚
                                                                                     4 ′
    d∂&&d%d88
                              mRNA 🗯
                                                KZG@KS
    ) $6b$W&@) YuSGb$6b
                                                                            p<u>c</u>M[
    3rSc364$<u>P</u>M/$b@@/
                                                          OPC \ OLG b∰
    pbvbvp2S264#bce
    D
                         -syn 7 wMGN
                                                   mRNA $$$$$66:
                     OPC ₩
    U 2816i lċ
                               0LG <u>8</u>Z
                                            SEEG WS
    1d) 76G (1HG 80 (1) 1800
(2) Drug X baò
    G(4KOS&1&0[?
                                                             c drug X %T% K MSA $
                                                    263}
    .K⊠w¥a∕
                        in vitrolin vivo Z QM5KS
                                                                           -syn 7/w
                                                                   rΝ
                 OPC _ (11111/1_1)
    M68eê
                                                                   0LG <u>B</u> M86ä
                                             drug X K¶
                  MBP/ -actinb$
    7 ¥ b][
                                         3KZSK
                                                            druX K886Q
                                                 1}
    MBP/ -actin ≸
                        b₩cwDIS
                                                           drug X 🗐 S
    OLG b($4686)($4
                                         cell viability& WST QOD>
                                                                          no cell 310
                                           OLG (18/8x1)XY
                                                                          no cell 310
    ₩5K
                   S@
                       drug X8∑b
                                                                           drug X b₹
    Zij 1u₩SrS
                                  MAP2 NeuN D
                                                    WB Li§a√
    &(1<del>6</del>)&
                       <u>6</u>4%KS
    Gþ∳¥£3¢
                                         MSA 🕦
    -syn 4₩®
                     ¥b
                               drug X Z%#ŽE)FKZ
(3) MSA $#½(ì
                             OLG bOÒ
                                            MSA b∰84¥
    S8-%₿AÑ
                          pre-OLG (%c
    ØKSWPic\SM[
                                                MSA €
                                                         pre-OLG bg
    GTR pre-OLG OPC bg8KiS
                                              early pre-OLG 442sX@
                                                                              3 WB
                                                  4 ¥281₹16Ü
                                                                          4B -syn 7
                    l ate pre-0LG&#2sX@
    !" OLG <u>8</u>1KiS
    / 183% & 610 (COS (D) Ý
                                                MSA (B) WIB
                                                                         -syn Ø late
   pre-0LG (**b62/b
                             %84 6MAG8≪KS
                                                                WWg⊳
                                     pre-OLGマーカー抗体(弱拡大)
              リン酸化α-syn
                                                                  pre-OLGマーカー抗体(強拡大)
  MSA-症例①
                                                          100 µm
                            100 µm
  MSA-定例②
                                                          100 pr
                                                      黒矢頭; late-stage pre-OLG、白矢頭; early-stage pre-OLG
```

MSA∌ pre-OLG∄Ü

```
-syn 7gö 7/$#G\v&l.2€/<u>c</u>9<u>¥</u>E
                                                                Caspase-9@
                          WS Caspase-9 c Caspase-3 bgö BBZ
    ₩G\%
                        GCI VMG VOOR 1 Z
                 MSA ₽
                                                              (Kawamoto et al.
    Neurosci Lett. 2016)
    Gþ)ýr MSA <u>8</u>Z älß -syn bs(Bpb
                                                             pre-OLG PK₹
    <u>*</u>
                         OPC b(B<u>L</u>
                                             OLG page CS
    G@ MSA b&ökk§ø€S
                           MSA ¥<u>\</u>
    363($6(b)"
                                             686ê
                                                    pre-OLG 4G)sn
                       8Z OLG b(7@26Z
    < -syn ₩0
                                                              in vitro b0{
   ! № <del>É</del>β
3 >z$1=e ′...
□ □ 06
(1) " 59 G ¥&) ÛÛj-
                    G Misfolding and Accumulation of Endogenous
   Alpha-Synuclein in Primary Oligodendrocyte Precursor CellsG 1/_____ $ %$
   Ted Dawson*
           9x3\ 2018/05/23-26
(2) " 12 G Movement Disorder Society of Japan F 68€($\hat{\phi}\hat{\phi}\phi)$\#\
            g G <u>1/</u> %§ØØ⊗\
                                                 2018/07/05-07
₩&
        0£0ó >
ØØ
             06
Ñ$6£
             06
ВÚ
Ď.
4> %2))°
(1)%2(*
            8K
 (2)%2 *
            8K
                                                     %2 b x %2BÝ b ¶†.. _
M∨bMQ
                                              bSu
```

%2BÝ _ 6₁ M 0b0 x 2₁ c %2¶

X8₹ \ b 0[3'... _ ö YCvb[cCb