

# 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) FS ステージ (シーズ顕在化) 事後評価報告書

プロジェクトリーダー (企業責任者) : ケイ・ハーベスト合同会社

研究責任者 : 京都大学 伊東 秀文

研究開発課題名 : iPS 細胞と剖検脳を用いた筋萎縮性側索硬化症に対する新規治療法の開発

## 1. 研究開発の目的

本課題の最終目的は、致死的神経変性疾患である ALS の根本的治療法に繋がる異常 OPTN 制御蛋白を同定し、それらをマーカーにした新薬を開発することである。具体的には、ALS において運動ニューロン細胞死に直接関与している OPTN 関連因子を同定し、その機能を制御する候補化合物を発見することを目指す。NF- $\kappa$ B が有力なターゲットのひとつであり、本課題では NF- $\kappa$ B 阻害剤を治療候補化合物として評価する。方法としては、ALS 患者剖検組織を材料にして免疫組織化学的手法を用い機能・局在異常に陥っている OPTN 制御蛋白を同定する。また、遺伝子改変した培養細胞や、共同研究者の川上らが樹立した ALS 患者由来 iPS 細胞を運動ニューロンに分化誘導し、上記治療薬候補を作用させその効果を評価する。

## 2. 研究開発の概要

### ①成果

- 1) OPTN 変異を伴う FALS 患者の剖検脳を神経病理学的に検討し、運動ニューロンのゴルジ装置が断片化していること、細胞質内に TDP-43 封入体が認められることを明らかにした。
- 2) 孤発性 ALS 患者から iPS 細胞を樹立し、神経細胞への分化には成功したが、いくつかのマーカーを指標に評価したところ、運動ニューロンとしては未完成であった。そこで、siRNA を用いて内在性 OPTN をノックダウンした Neuro2a 細胞において OPTN 関連蛋白の局在を検討したところ、ゴルジ装置の断片化が認められた。
- 3) 内在性 OPTN をノックダウンした Neuro2a 細胞では NF- $\kappa$ B の過活性化と細胞死の増加がみられた。この細胞死は NF- $\kappa$ B 阻害化合物である Withaferin A によって抑制された。

### ②今後の展開

- 1) OPTN ノックダウン細胞における神経細胞死のメカニズムの検討
- 2) Withaferin A 以外の NF- $\kappa$ B 阻害化合物の有効性についての検証
- 3) OPTN ノックダウン細胞をもちいた OPTN 変異による TDP-43 凝集体の形成機序の検討
- 4) OPTN 遺伝子を改変したモデル動物の行動観察と神経病理学的検討
- 5) OPTN 遺伝子を改変したモデル動物に対する NF- $\kappa$ B 阻害化合物の投与実験

## 3. 総合所見

成果が得られず、イノベーション創出は期待されない。

OPTN 変異による毒性発現の機序解明が期待したほど進展していない。また、企業の関与もほとんど認められない。

今後、ALS 細胞死経路の解明による特異的な薬剤標的の発見が必要である。