

## 様式3

## 神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成29年 4月20日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 熊本大学・大学院生命科学研究部  
職 名 准教授  
研究代表者名 関 貴弘

下記のとおり平成28年度の共同利用研究成果を報告します。

## 記

(課題番号:281007)

1. 共同利用研究 課題名	脊髄小脳変性症 14 型の治療薬の探索			
2. 共同利用研究 目的	脊髄小脳変性症 14 型によって引き起こされる変異 PKCgamma の凝集体に対して、阻害効果のある薬剤の探索を行い、治療薬の開発を目指す			
3. 共同利用研究 期間	平成 28 年 7 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 関 貴弘	熊本大学大学院生命科学研究部	准教授	共同研究者として実験を行う	
(分担研究者)				
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル機能制御研究 部門分子薬理研究分野	氏 名	足立 直子

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:281007)

#### 6. 共同利用研究計画

脊髄小脳変性症 14 型は小脳の顕著な委縮と、それに伴う運動失調を主な症状とする遺伝性神経変性症である。現在までに根本的な治療法は見つかっておらず、運動失調症状の緩和を目的とした対処療法に留まる。これまでに、我々は、原因遺伝子として同定された変異型 PKC $\gamma$  が細胞内で凝集体を形成し、細胞毒性を発揮することで細胞死を引き起こすことを発見し報告している。

今回、我々は、胎児マウスの小脳より分離・培養したプルキンエ細胞に変異型 PKC $\gamma$  を特異的に発現させ、細胞内の凝集体の量を指標として凝集体阻害効果のある薬剤のスクリーニングし、治療薬の探索を行う。また一方で、内在性のヒートショックタンパク質を誘導する薬剤(セラストロール)が他の神経変性症に有効であることが報告されていることから、脊髄小脳変性症 14 型におけるセラストロールの効果を検証し、さらに、責任ヒートショックタンパク質の同定を行う。

#### 7. 共同利用研究の成果

ICR 系マウス胎児から小脳を単離し、初代培養を行った細胞にアデノウイルスベクターを用いてプルキンエ細胞に特異的に変異型 PKC $\gamma$ -GFP (G128D)を発現させたところ、変異 PKC $\gamma$ -GFP を発現する約 50%のプルキンエ細胞で変異 PKC $\gamma$ -GFP の凝集体が観察された。内在性のヒートショックタンパク質発現を増大させることが分かっているセラストロールやガラニルガラニルアセトン(GGA)を処置すると、変異 PKC $\gamma$ -GFP の凝集体を有するプルキンエ細胞は約 20%と有意に減少した。また、セラストロールや GGA を処置した初代培養細胞を免疫染色したところ、ヒートショックタンパク質のうち、Hsp70 と Hsp40 がプルキンエ細胞で発現していることが観察された。以上の結果より、セラストロールや GGA は Hsp70 や Hsp40 をプルキンエ細胞に誘導することで変異 PKC $\gamma$  の凝集体形成を抑制することが明らかとなった。さらには、セラストロールを腹腔内投与した後、小脳でのヒートショックタンパク質の増大をウエスタンブロットにより検証したところ、Hsp70 は増大していたが、Hsp40 の増大は観察されなかった。プルキンエ細胞には、もともと Hsp40 が多く発現している一方で、Hsp70 の発現は限定的であり、セラストロールにより Hsp70 の発現を増大させることが、変異 PKC $\gamma$ -GFP の凝集体形成を抑制するのではないかと考えられ、セラストロールは *in vivo* の SCA14 モデル動物に対しても治療効果を示す可能性は十分である。

本研究結果はセラストロールが SCA14 の治療薬として有用であることを強く示唆する結果であり、今後は *in vivo* モデルにおける検討が必要となるであろう。

#### 8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

1. 中園 葵、高橋英之、足立直子、濱田大三、関 貴弘、酒井規雄、上山健彦、齋藤尚亮  
変異 PKC $\gamma$  による脊髄小脳失調症 14 型の薬物治療法の探索  
第 90 回 日本薬理学会年会 2017 年 3 月 15 日-17 日(長崎市)

#### 9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

特になし