

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 31 年 4 月 17 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30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 30 年 4 月 1 日 ~ 平成 31 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6~9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6~9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(SCA14)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、細胞毒性を發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、胎児もしくは新生児ラットの小脳より分離・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。これまでに、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)が変異型 PKC $\gamma$  の凝集体形成を抑制することを示している。そこで、アデノ随伴ウイルスベクターによる脳内遺伝子導入により SCA14 モデルマウスを作製し、この薬剤が in vivo の SCA14 モデル動物に治療効果を示すかを行動薬理的及び組織学的解析により検討する。

## 7. 共同利用研究の成果

静脈内投与で脳内に遺伝子導入が可能なアデノ随伴ウイルスベクター (AAV-PHP.eB) を用いて、C57BL/6J マウスの小脳プルキンエ細胞に SCA14 変異 PKC $\gamma$ -GFP を発現させることで、SCA14 モデルマウスの作製が可能かを検討した。ICR マウスの尾静脈から GFP、野生型 PKC $\gamma$ -GFP 及び SCA14 変異 PKC $\gamma$ -GFP をそれぞれ発現させる AAV-PHP.eB を投与し、マウスの運動機能評価を行ったが、変異 PKC $\gamma$ -GFP を遺伝子導入したマウスは他のマウス同様に運動機能は保たれたままであった。また、小脳での GFP 発現を確認したところ、全く発現していないということではないが、発現細胞数は予想よりもかなり少なかった。最近の報告で、AAV-PHP.eB による脳内への遺伝子導入はマウスの系統に大きく影響を受けることが明らかとなった。よって、ICR マウスでは十分な遺伝子導入ができなかったと予想される。今後は AAV-PHP.eB での強い遺伝子導入が報告されている C57BL/6J マウスを用いて検討を行っていく必要がある。

## 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. Pharmacological induction of heat shock proteins ameliorates toxicity of mutant PKC $\gamma$ in spinocerebellar ataxia type 14.

Nakazono A, Adachi N, Takahashi H, Seki T, Hamada D, Ueyama T, Sakai N, Saito N:  
J Biol Chem, 293:14758-14774 (2018)

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。