The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Benefit of a combined treatment with trientine and ascorbate in familial amyotrophic lateral sclerosis model mice
Author(s)	Nagano, Seiichi
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3169264
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【96】

氏　　名	長　野　清　一（ながの せいいち）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15301　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学　位　論　文　名	Benefit of a combined treatment with trientine and ascorbate in familial amyotrophic lateral sclerosis model mice （変異SOD 1による銅毒性の検証－家族性筋萎縮性側索硬化症モデルマウスを用いた研究－）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　武田　雅俊 （副査） 教　授　岡田伸太郎　　教　授　祖父江憲治

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は原因不明の運動神経変性疾患であるが、その約10%が家族性（FALS）であり、そのうちの一部家系でCu, Zn－superoxide dismutase（SOD 1）遺伝子の変異が見つかっている。ヒト変異SOD 1を過剰発現したトランスジェニックマウスでFALS同様の神経症状がみられることより、変異SOD 1がもつ何らかの毒性が運動神経の変性に寄与するものと考えられる。この点で我々は以前、細胞内での変異SOD 1からの銅イオンの放出がその毒性の要因である可能性を示した。

主に肝臓で細胞内遊離銅沈着を起こすウィルソン病のモデル動物（LECラット）では、銅キレート剤であるトリエンチンおよび抗酸化剤であるアスコルビン酸が肝障害抑制に効果を持つ。またLECラットの肝臓では遊離銅およびそれによる酸化的ストレスの除去に働くメタロチオネイン（MT）ⅠⅡが増加している。そこで上記仮説を説明するため、FALSモデルマウスでのトリエンチン・アスコルビン酸混合投与の効果、MTの発現動態およびMT発現の減少による症状への影響を検討した。

【方法】

1）　Glycine93→Alanine変異を持つヒトSOD 1トランスジェニックマウス（B 6×SJL）を用い、治療群には0.8 %w／w濃度でアスコルビン酸を含む標準試料と0.2 %w／v濃度でトリエンチンを含む精製水を生後45日より投与した。対照群には標準試料と精製水のみを与えた。マウスを尻尾で持ち上げた際、1肢にわずかな伸びの異常がみられた時点を発症、両後肢が完全に麻痺した時点を末期とした。統計解析はMantel－Cox法により行った。$p<0.05$を有意とした。

2）　生後120日の上記G93Aマウス（B 6×SJL）、正常ヒトSOD 1トランスジェニックマウス（B 6×ICR）、正常マウス（B 6×SJL、B 6、ICR）それぞれの腎臓、脳、脊髄のMTⅠⅡ量を抗ラットMTⅠ抗体を用いたradioimmunoassay法により測定した。次にG93AマウスをMTⅠⅡノックアウトホモマウス（B 6）と交配しG93A；MT＋／－マウスを作製、さらにこれをホモマウスと交配しG93A；MT＋／－およびG93A；MT－／－マウスを作製した。G93A；MT＋／＋マウスとして上記G93Aマウスを用い、3群間の症状の差異を比較した。統計解析はMT量についてはStudent t検定により、生存分析については分散分析法により行った。$p<0.05$を有意とした。

【成績】

1）　発症は対照群の生後195.4±11.3日に対し、治療群では211.8±12.2日と有意の延長がみられた。同様に末期に至る時点は対照群で244.3±20.5日、治療群で269.7 ±19.3日と治療により有意に延長した。治療群のマウスの平均体重は対照群よりも良好な増加を示し、かつ対照群でピークに達した後もしばらく増加が続いた。飲水量から推測されるトリエンチンの投与量は125－170mg／kg体重／日であった。治療群で薬剤による明らかな副作用はみられなかった。

2）　G93Aマウスの脊髄におけるMT量は、正常ヒトSOD 1マウスおよび正常マウスに比べ約2倍と有意に増加していた。腎臓および脳では増加はみられず、また正常ヒトSOD 1マウスおよび正常マウスの各群間ではいずれの臓器でも有意差はみられなかった。G93A；MT－／－マウスはG93A；MT＋／－およびG93A；MT＋／＋マウスに比べ有意に発症が早くかつ寿命が短く、またG93A；MT＋／－マウスはG93A；MT＋／＋に比べ有意に発症が早かった。

【総括】

FALSモデルマウスで変異SOD 1由来と考えられる銅イオンおよびそれによる酸化的ストレスが発症に重要な役割を果たしていること、およびMTⅠⅡがそれに対し保護的に働いていることをin vivoで初めて示した。

細胞内銅イオンはSOD 1など多くの蛋白の活性に必要であるが、過剰量になると細胞に毒性を示す。Cu^{2+}は細胞内で容易にCu^{1+}に還元され、それが過酸化水素と反応しヒドロキシラジカルを生成する。ヒドロキシラジカルは脂質膜や蛋白、核酸を酸化して細胞を傷害する。体内に広く発現するSOD 1の変異がなぜ運動神経の傷害を惹起するのかは不明であるが、MTの脊髄での特異的な増加は、酸化的ストレスに対する脊髄の脆弱性を反映しているものと考えられる。

FALSモデルマウスで、抗酸化剤であるビタミンE投与により発症が遅れる、あるいは銅キレート剤であるペニシラミンの強制投与により発症と寿命両方が延びることが報告されており、これは上記結果と一致する。本実験のトリエンチン投与量はより臨床用量に近く、副作用が少ない点から臨床応用が期待できる薬剤と考えられる。

論文審査の結果の要旨

家族性筋萎縮性側索硬化症（FALS）の一部においてCu、Zn－superoxide dismutase（SOD 1）遺伝子の変異が発見されて以来、その発症機序として酸化的ストレスの関与を示す知見が得られているが、その詳細については明らかではなかった。本研究では変異SOD 1由来の遊離銅がその本体であるという仮説に基づき、FALSモデルマウスを用いてトリエンチン・アスコルビン酸による治療効果を検証するとともにメタロチオネインが病変進行に対し保護的に働いていることを初めて証明した。これはFALSの病態解明に大きな糸口を与えるだけでなく、実際のFALS治療への応用をも期待されるものであり、学位の授与に値するものと考えられる。