



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

氏 名	ながの せい いち 長 野 清 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 3 0 1 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ストレスの除去に働くメタロチオネイン (MT) I II 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 MT I II 量を抗ラット MT I 抗体を用いた radioimmunoassay 法により測定した。次に G93A マウスを MT I II 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 MT I II 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。Cu²⁺ は細胞内で容易に Cu¹⁺ 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。