The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Benefit of valproic acid in suppressing disease progression of ALS model mice
Author(s)	須貝, 文宣
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45407
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【1】

氏　　名	須貝文宣（すがい ふみのぶ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　19095　号
学位授与年月日	平成17年1月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Benefit of valproic acid in suppressing disease progression of ALS model mice （筋萎縮性側索硬化症モデルマウスにおけるバルプロ酸の症状進行抑制効果）
論文審査委員	（主査） 教　授　佐古田三郎 （副査） 教　授　武田　雅俊　　教　授　谷口　直之

論文内容の要旨

［　目的　］

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、緩徐進行性に上位および下位運動神経数が減少し、四肢のみならず嚥下・会話・呼吸に関する筋力も低下し、日常生活機能が著しく損なわれる致死性神経変性疾患である。神経系のグルタミン酸の産生および再取り込みを調節するリルゾールのみが現時点で唯一認可された治療薬であるが、ALSの進行をわずかに遅延させるだけであり、より有効な治療法が求められている。以前より抗てんかん薬として長期間服用されているバルプロ酸は、躁病などに対する気分安定薬としての効果も有し、heat shock protein 70やBcl-2蛋白の誘導およびglycogen synthase kinase-3βやhistone deacetylaseの抑制などを介し神経保護効果作用があるとする知見が蓄積されつつある。バルプロ酸のALS治療薬としての可能性について、in vitro（マウス脊髄組織培養法）およびin vivo（ALSモデルマウス）の二つのALSモデルを用いて検討した。

［　方法ならびに成績　］

(1)　マウス脊髄組織培養法におけるバルプロ酸の効果の検討

生後2日のマウス（C57BL/6）脊髄腰膨大部を剖出しtissue chopperにて厚さ350μmの脊髄切片（水平断）を作成した。培養膜上で、25%ウマ血清含有培地にて培養した。培養開始14日後にグルタミン酸取り込み阻害剤であるL-trans pyrrolidine 2,4-dicarboxylic acid（PDC、100μM）を培養液中に添加し、グルタミン酸毒性仮説に基づくin vitro ALSモデルを作成した。PDC添加10日後の脊髄切片を、脱リン酸型neurofilamentを認識する抗体（SMI-32）で染色し脊髄前角細胞数を計測した結果、後角の小型神経細胞は保持されたままSMI-32陽性脊髄前角細胞のみがPDC非投与群に比べ有意に減少した。この系に対しバルプロ酸を培養開始7日後に添加すると（1、10μM）、脊髄前角細胞死が有意に抑制された。

(2)　ALSモデルマウスにおけるバルプロ酸の効果の検討

ヒトALS患者と同様の症状を呈するG93A変異型ヒトsuperoxide dismutase 1（SOD1）遺伝子を過剰発現させ

たマウス（low copy 型）を用いた。発症前の生後 45 日目より純水に溶解したバルプロ酸（0.26% w/v）を投与した。投与群（オス９匹）では非投与群（同８匹）に対し、発症時期は変化せず終末期（270.5 日→291.0 日、P＝0.0336）および罹病期間（19.0 日→55.0 日、P＝0.0112）が有意に延長した。更に発症後投与実験として同濃度のバルプロ酸を個々のマウスの発症時期より投与した。投与群（オス 11 匹）では非投与群（同８匹）に対し、罹病期間が有意に延長した（27.5 日→37.0 日、P＝0.0132）。

［　総括　］

従来ラットで行われてきた in vitro ALS モデルとしての脊髄組織培養法が正常マウスでも可能であることを示し、この系でバルプロ酸がグルタミン酸毒性による脊髄前角細胞死に対し神経保護効果を有することを証明した。今後変異 SOD1 マウスの脊髄を使用した ALS 治療薬のスクリーニングが可能になると考えられる。更にバルプロ酸が ALS モデルマウスの発症時期を変えずに罹病期間を有意に延長させることを証明した。同マウスに対する薬剤投与実験の報告は数多いが、発症後投与にて罹病期間の有意な延長を示したものは極めて少なく、発症前治療がほぼ不可能なヒト ALS 患者でもバルプロ酸の症状進行抑制効果が期待できると考えられた。

論文審査の結果の要旨

抗てんかん薬あるいは気分安定薬として処方されるバルプロ酸は、Bcl-2 蛋白の誘導や glycogen synthase kinase-3 β の抑制などを通じて神経保護作用を発揮するという知見が蓄積されつつある。

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は上位および下位運動神経細胞が障害される致死性神経変性疾患であり、本研究では二つの ALS モデルにおけるバルプロ酸の効果を検討した。

まず in vitro モデルとして正常マウスを用いた脊髄組織培養法を確立し、バルプロ酸はグルタミン酸毒性による培養組織中の脊髄前角細胞死を有意に抑制した。

次に in vivo モデルである、G93A 変異型ヒト superoxide dismutase 1 遺伝子を過剰発現させたマウスに対し、バルプロ酸は発症時期を変えずに罹病期間のみを有意に遅延させた。

このような作用を示す薬剤は、発症前の治療開始が極めて困難な ALS 患者に対しても有効であると期待できる。本研究は、現時点では根治が極めて困難な神経変性疾患に対し、新たな治療法の可能性を示すものであり、学位の授与に値すると考えられる。