

報道機関 各位

熊本大学

## 遺伝性の神経難病「脊髄小脳失調症」に対する 新たな治療薬候補の発見

### (ポイント)

- 哺乳類の生体内では合成されないD体アミノ酸<sup>\*1</sup>であるD-システインが脊髄小脳失調症の治療薬候補となることを発見しました。
- 3種類の脊髄小脳失調症モデル細胞を用いた実験により、初代培養<sup>\*2</sup>小脳プルキンエ細胞<sup>\*3</sup>の形態異常がD-システインの処置で抑制されることを明らかにしました。
- 脊髄小脳失調症1型のマウスモデルを用いた実験により、進行性の運動障害、小脳組織の異常がD-システインの慢性投与で抑制されることを明らかにしました。
- D-システインが様々な原因遺伝子で発症する脊髄小脳失調症の共通の治療薬・予防薬として活用されることが期待されます。

### (概要説明)

熊本大学大学院生命科学研究部の関貴弘准教授、香月博志教授らの研究グループは、群馬大学大学院医学系研究科の今野歩講師、平井宏和教授との共同研究により、D-システインを投与することで、遺伝性の神経難病である脊髄小脳失調症（Spinocerebellar ataxia、SCA）の細胞モデル及びマウスモデルにおいて病態改善効果を示すことを発見しました。

SCAは様々な遺伝子変異により発症する神経変性疾患であり、小脳萎縮とそれに伴う小脳性運動失調を主な症状とします。原因遺伝子の違いによりSCA1からSCA48まで分類され、原因遺伝子由来のタンパク質の機能が多種多様であり、共通の発症機序は解明されていません。本研究により、D-システインが複数のSCA原因タンパク質を発現するモデル細胞で共通の治療効果を示したため、SCA共通の治療薬・予防薬となることが期待されます。なお、本研究は文部科学省科学研究費補助金の支援を受けて行われました。本研究結果は、令和3年6月19日に学術雑誌Experimental Neurologyのオンライン版に公開されました。

### [背景]

脊髄小脳失調症（SCA）は遺伝子変異を原因とする神経変性疾患であり、小脳神経変性による小脳萎縮とそれに伴う小脳性運動失調が共通の症状として現れます。SCAは原因遺伝子の違いによりSCA1からSCA48まで分類されて

います。SCA原因遺伝子由来のタンパク質は、小脳で多く発現しているという共通の特徴がありますが、機能の共通性は見出されておらず、共通の発症機序は解明されていません。

硫化水素は火山ガスに含まれる有毒ガスの一種として有名ですが、生体内でも微量に産生され、抗酸化作用を示すことで注目を集めています。哺乳類の生体内ではアミノ酸の一つであるL-システインを原料に硫化水素が産生されますが、最近、哺乳類の生体内では産生されないD体アミノ酸であるD-システインからも硫化水素を産生する経路が同定されました。その経路にはD-アミノ酸酸化酵素 (DAO) が関わっており、DAOは脳内では小脳に強く発現することがわかっています。そのため、D-システインを投与すると、DAOのはたらきにより、脳内では小脳だけに硫化水素が産生されます。

以上の背景から、小脳選択的に硫化水素産生を引き起こすD-システインはSCAの治療に有効ではないかと考えました。本研究ではSCAの細胞モデルとマウスモデルを用いて、D-システインの治療効果を検証しました。

#### [研究の内容]

小脳の神経細胞の一つであるプルキンエ細胞は発達した樹状突起\*4を持ち、小脳機能に非常に重要です。そこで、初代培養小脳プルキンエ細胞にSCA原因遺伝子により産生される変異型タンパク質を発現させ、SCAモデル細胞の作製を試みました。3種類のSCA(1,3,21)について、変異型タンパク質を発現させた初代培養小脳プルキンエ細胞では、それぞれの野生型タンパク質を発現させた細胞と比べて、共通に樹状突起の発達低下が観察されました (図1中央)。一方、変異型にD-システインを処置したところ、3種類のSCAモデル細胞全てにおいて、樹状突起の発達低下が有意に抑制されました (図1右)。

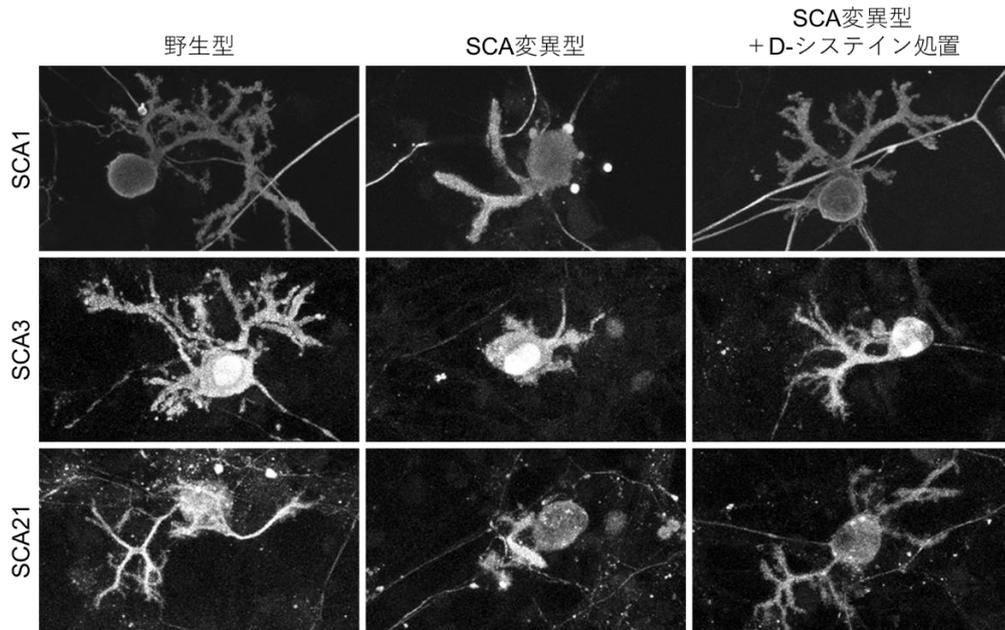


図1 SCAモデル細胞に対するD-システインの効果  
SCA1 (上段)、SCA3 (中段)、SCA21 (下段) の野生型タンパク質及びSCA変異型タンパク質を発現させた初代培養小脳プルキンエ細胞の画像。野生型に比べ、SCA変異型では樹状突起の発達低下が見られた。また、SCA変異型にD-システインを処置すると樹状突起の発達低下が抑制された。

続いて、マウスモデルに対するD-システインの効果を検証するため、SCA原因タンパク質をアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター<sup>\*5</sup>を用いて小脳神経に発現させることでSCA1モデルマウスを作製し、コントロールマウス（正常なマウス）との比較実験を行いました。運動機能は、それぞれのマウスに丸い棒の上を歩かせバランス能力を評価するbeam walking testにより評価しました。SCA1モデルマウスに運動障害発症前から生理食塩水またはD-システインの慢性投与を行ったところ、D-システインを投与したSCA1モデルマウスでは、運動機能障害の発症が有意に抑制されました（図2）。当該モデルマウスの小脳の組織解析を行った結果、D-システインは小脳プルキンエ細胞の減少やグリア細胞<sup>\*6</sup>の活性化などの小脳組織の異常を有意に抑制していることがわかりました（図3）。

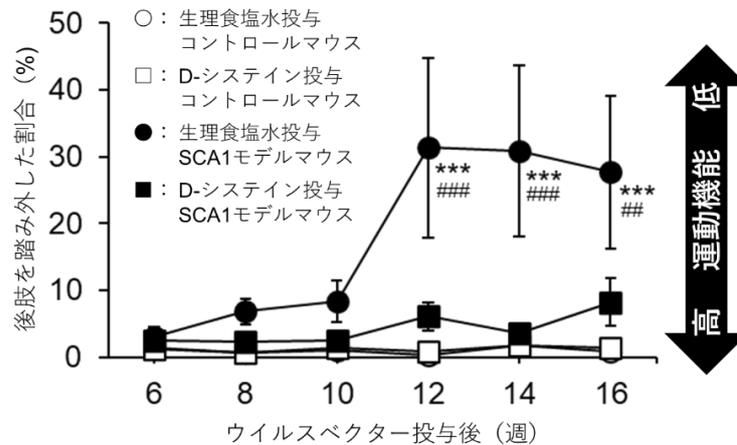


図2 SCA1モデルマウス運動機能障害に対するD-システインの効果  
D-システインを投与したSCA1モデルマウスは、運動機能障害の発症が有意に抑制された。

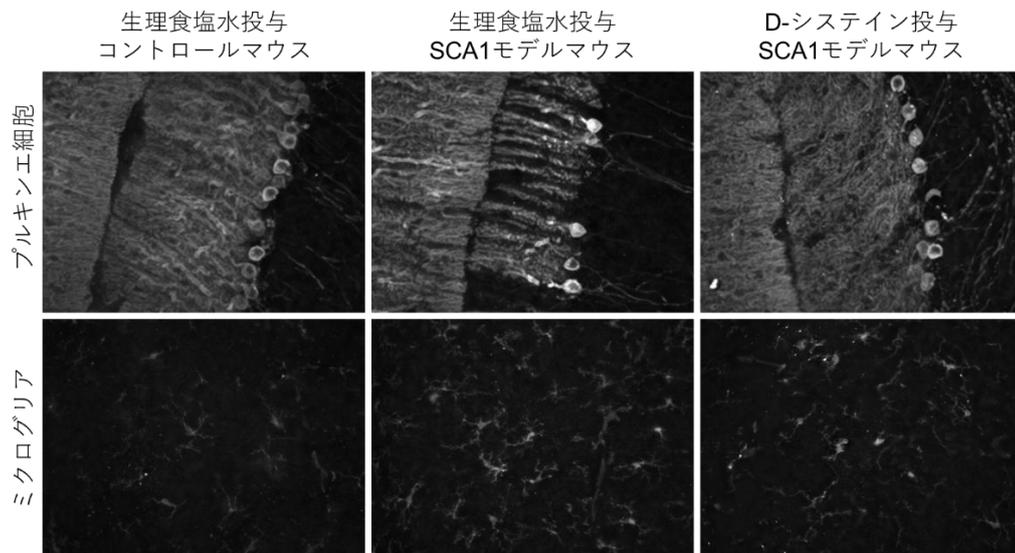


図3 SCA1モデルマウス組織異常に対するD-システインの効果  
AAVベクター投与後16週目のコントロール及びSCA1モデルマウスの小脳切片におけるプルキンエ細胞（上段）とグリア細胞の一種であるミクログリアの画像（下段）。生理食塩水投与SCA1モデルマウスで観察されたプルキンエ細胞の減少とミクログリアの増大がD-システイン投与SCA1モデルマウスでは抑制された。

## [成果]

本研究は、D-システインがSCAの細胞モデル及びマウスモデルの両者に対し、治療効果を示すことを解明しました。これまでの研究で、D-システインを初代培養小脳プルキンエ細胞に処置すると、樹状突起の発達を促進することが解明されています。この効果はDAO及び硫化水素産生を介していることがわかっているため、本研究でのSCAモデルに対する治療効果もDAO及び硫化水素産生を介していると想定されます。また、3種類のSCA原因タンパク質を発現させた細胞モデルのいずれでも治療効果を示したため、D-システインは原因遺伝子の違いによる様々なタイプのSCAに共通に有効な治療薬となることも期待されます。

## [展開]

本研究では、3種類のSCAモデル細胞へのD-システイン投与により、いずれの細胞の形態異常も軽減できたことから、SCA共通の治療薬の開発につながることを期待されます。硫化水素は、抗酸化作用、抗炎症作用、細胞保護作用を示すことが報告されているため、D-システインのほかにも硫化水素を産生させる薬物は様々な疾患治療薬としての応用が期待されています。しかし、硫化水素は様々な生理機能にも影響を及ぼすため、全身で硫化水素を産生させる薬物は多くの副作用が懸念されます。一方、D-システインはDAOが高発現する小脳、腎臓、肝臓でのみ硫化水素を産生させるため、臓器特異的で副作用の少ない硫化水素産生薬として有用であると期待されます。実際に、D-システインの慢性投与時の全身毒性は生体内に存在するL-システインと同レベルであるとの報告もあり、安全性は高いと考えられます。

また、SCAは遺伝性疾患であるため、遺伝子診断により将来発症するリスクの有無を判定することが可能です。しかし、遺伝子診断により原因遺伝子を保有していると判定されても、現状では発症を防ぐ方法は存在しません。本研究では、運動障害が発症する前の時点からSCA1モデルマウスにD-システインを慢性投与することで、SCAの発症を有意に遅らせることができました。安全性の高いD-システインをSCA原因遺伝子保有者が発症前から慢性的に服用することで、SCA発症予防薬としての応用も期待されます。

## [用語解説]

### \*1：D体アミノ酸

グリシンを除くアミノ酸は右手と左手の関係のように鏡に映すと同一になる構造の異性体（鏡像異性体）が存在し、それぞれをL体及びD体と呼びます。タンパク質合成に使われるアミノ酸はほとんどがL体ですが、D-セリンなど一部D体のアミノ酸も生体内に存在し、L体とは異なる生理活性を持つことが知られています。

### \*2：初代培養

生体から採取した組織や細胞をバラバラに分散して培養する実験手法のことです。生体から採取されて時間が経過していないため、その生体と同様な挙動を示すことが期待されます。神経細胞の形態や機能のある程度保った状態で培養できるため、神経研究で頻用されます。

**\*3：小脳プルキンエ細胞**

小脳の中の小脳皮質という部分に存在する神経細胞です。この小脳皮質から情報を出力する唯一の細胞であるため、小脳機能に非常に重要です。SCA患者では小脳プルキンエ細胞の脱落が観察されるため、SCAの病態において重要であると考えられています。

**\*4：樹状突起**

神経細胞には軸索と樹状突起という2種類の突起が存在しています。軸索は他の神経細胞に情報を伝えるための突起ですが、樹状突起は他の神経細胞から情報を受け取るための突起です。小脳プルキンエ細胞は非常に発達した樹状突起を持つという特徴を有しています。

**\*5：アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター**

病原性のほとんどないウイルスであるアデノ随伴ウイルスの感染力を利用し、目的遺伝子をウイルスゲノムに組み込むことで遺伝子導入を行うために用いられています。現在は実験動物や培養細胞への遺伝子導入に頻用されていますが、将来的には遺伝子治療への応用も期待されています。

**\*6：グリア細胞**

脳内に存在する神経細胞以外の細胞の総称。オリゴデンドロサイト、アストロサイト、ミクログリアの3種類が存在し、神経細胞の保護や機能調節、脳内の免疫機能などを担っています。SCAなどの神経変性疾患ではミクログリアやアストロサイトが炎症性の活性化を引き起こし、神経変性に繋がることが分かっています。

**(論文情報)**

論文名：Therapeutic potential of D-cysteine against in vitro and in vivo models of spinocerebellar ataxia

(和訳) 脊髄小脳失調症の生体外及び生体モデルに対するD-システインの治療有効性

著者：Tomoko Ohta, Yuri Morikawa, Masahiro Sato, Ayumu Konno, Hirokazu Hirai, Yuki Kurauchi, Akinori Hisatsune, Hiroshi Katsuki and Takahiro Seki

掲載誌：Experimental Neurology 343: 113791 (2021)

doi：https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113791

URL：https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014488621001990

**【お問い合わせ先】**

熊本大学大学院生命科学研究部 (薬)

担当：准教授 関 貴弘

電話：096-371-4182

e-mail：takaseki@kumamoto-u.ac.jp