

氏名	原田 晃名		
学位の種類	博士(生物科学)		
学位記番号	博甲 第 8575 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on the Therapeutic Potential of Phosphodiesterase 10A-Specific Inhibition for Huntington's Disease (ホスホジエステラーゼ 10A の特異的阻害によるハンチントン病治療の可能性に関する研究)		
主査	筑波大学教授	博士(理学)	中田 和人
副査	筑波大学教授	博士(医学)	千葉 智樹
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	桑山 秀一
副査	筑波大学教授	博士(農学)	三浦 謙治

論 文 の 要 旨

ハンチントン病 (Huntington's disease: HD) は、ハンチンチン遺伝子の突然変異により産生される変異型ハンチンチンタンパク質 (mHtt) を原因とする遺伝性の神経変性疾患であり、舞踏運動と呼ばれる進行性の運動障害、認知機能の低下、および精神症状を特徴とする。発症率は西欧諸国で高く、およそ10万人に5-6人と言われている。希少疾患であるが、末期には歩行も食事もできなくなり、発症後15-20年で死に至る。このようなHDの重篤な機能障害は患者だけでなく家族や介護者に大きな苦痛と負担を与えるが、現在、本症に対する有効な治療薬は存在しない。HDの舞踏運動に対する薬剤としてテトラベナジンが唯一承認されているが、この薬剤による治療も対症療法にすぎず、HDの進行を抑止する薬剤の開発が待ち望まれている。線条体神経細胞の約95%を占める中型有棘細胞 (medium spiny neurons: MSNs) が、HDにおける神経変性に対して最も脆弱であることが知られている。このことから、線条体を中心とする脳萎縮がHDの病理学的特徴であると推測されているが、このような選択的な脆弱性が起こる機構は明らかとなっていない。

細胞内情報伝達物質であるcAMPは、cAMP response element-binding protein (CREB) を活性化し、MSNsの活性と生存に重要な脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF) 等の遺伝子発現を促進する。HD発症の分子メカニズムについては様々な仮説が存在するが、MSNsにおいてmHttがcAMP/CREBシグナルを障害し、BDNF等の発現低下を介してMSNsの変性を引き起こす可能性が提案されている。したがって、MSNs選択的にcAMP/CREBシグナルを増強するこ

とができれば、HDの治療戦略として極めて有望な戦略となる。ホスホジエステラーゼ10A (phosphodiesterase 10A: PDE10A) は、細胞内情報伝達物質であるcAMPを分解する酵素であり、哺乳類の脳において線条体MSNsに選択的に発現している。PDE10Aの阻害によりMSNs選択的にcAMP/CREBシグナルを活性化することができる。そこで著者は、PDE10A阻害が有望なHD治療戦略であると考え、以下の実験を行った。

まず著者は、ハイスループットスクリーニングと化学的修飾を活用して、特異的PDE10A阻害剤 Compound A (Cmpd-A) を見出し、その阻害活性、結合親和性、および選択性について詳細な検討を行った。ヒト組換えPDEsを用いた酵素阻害実験により、Cmpd-Aはヒト組換えPDE10Aに対して50%阻害濃度 (IC₅₀) 0.30 nMの強い阻害活性と、PDE10A以外の組換えPDEsに対する15,000倍以上の高い選択性を示した。ラット脳切片を用いたオートラジオグラフィ解析においても、³Hで標識したCmpd-AはPDE10Aの高発現部位に選択的に集積する結果を得ている。さらに、¹⁴Cで標識したCmpd-Aを経口投与したラットの頭部オートラジオグラフィ解析を行ったところ、 [¹⁴C]Cmpd-Aは脳内でPDE10A発現部位に選択的に集積していた。これらの結果から著者は、Cmpd-Aは組換えPDE10Aだけでなく内因性のPDE10Aに対しても高い結合親和性と特異性を示し、かつ、良好な脳移行性を有すると結論した。

次に著者は、生体内で特異的にPDE10Aを阻害するCmpd-Aを利用することで、種々のHD症状に対する特異的PDE10A阻害の有効性を予測することができると考え、HDモデル動物として広く知られるR6/2マウスの各種表現型に対するCmpd-Aの薬理学的作用を評価した。Cmpd-AをR6/2マウスに連続投与したところ (0、0.5、5.0 mg/kg/day)、R6/2マウスにおける線条体BDNF量の低下が用量依存的に有意に抑制される結果を得た。R6/2マウスでは、T字型水路迷路試験時の水中浸漬によって引き起こされるてんかん発作の顕著な増加が認められる。しかし、Cmpd-Aの連続投与によりこのてんかん発作の増加は用量依存的に減少した。さらに、R6/2マウスはHDモデルマウスに特徴的な行動異常であるクラスピング行動を示したが、Cmpd-Aの連続投与はこの行動異常の進行を用量依存的に抑制した。オープンフィールド試験では、R6/2マウスの水平方向の移動距離および垂直方向の立ち上がり頻度が共に有意に低下していたが、Cmpd-Aの連続投与によりこれらの運動障害は共に用量依存的に改善した。T字型水路迷路試験の獲得試行では、R6/2マウスにおいて手続き学習能力の有意な低下が認められたが、この障害はCmpd-Aの連続投与により用量依存的に改善した。これらの解析結果から著者は、MSNs選択的なPDE10Aの阻害がcAMP/CREBシグナルの増強を介してHDの進行抑制に有効であると結論した。

審 査 の 要 旨

ハンチントン病の主因である線条体の変性は、変異型ハンチンチンタンパク質の蓄積によって線条体中型有棘細胞のcAMP/CREBシグナルが障害されることに起因すると考えられている。本論文において著者は、線条体中型有棘細胞に特異的に発現し、cAMPを分解する酵素であるホスホジエステラーゼ10Aに対して阻害効果を発揮する化合物を合成することに成功した。さらに、合成したホスホジエステラーゼ10A阻害剤をハンチントン病モデルマウスであるR6/2マウスに投与すると、ハンチントン病の表現型である運動機能障害および認知機能の低下が抑制されることを実験的に立証した。これらの成果は、中型有棘細胞のホスホジエステラーゼ10Aの阻害によってcAMP/CREBシグナルが増強され、ハンチントン病の表現型を抑制できることを示している。本論文は、ハンチントン病の分子生物学的な理解だけでなく、当該疾患の進行抑制に重要な知見を提案しており、学問的な価値がきわめて高い。

平成30年1月30日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。