

## P-13

### 既存薬による SOD1 転写を標的とした筋萎縮性側索硬化症新規治療法の開発

<sup>1</sup> 京都大学大学院医学研究科臨床神経学、

<sup>2</sup> 京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA)、

<sup>3</sup> (株) リプロセル、<sup>4</sup> 幹細胞創薬研究所、

<sup>5</sup> 京都大学物質-細胞統合システム拠点 (WPI-iCeMS)、

<sup>6</sup> 京都大学化学研究所生体機能化学研究系

○村上 学<sup>1</sup>、井上 治久<sup>2</sup>、月田香代子<sup>2</sup>、伊東 秀文<sup>1</sup>、  
浅井 康行<sup>3</sup>、天貝 裕地<sup>4</sup>、饗庭 一博<sup>5</sup>、下川 浩輝<sup>6</sup>、  
上杉 志成<sup>6</sup>、中辻 憲夫<sup>5</sup>、高橋 良輔<sup>1</sup>

【目的】家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS) の原因タンパク質、変異 superoxide dismutase 1 (SOD1) の転写を抑制する低分子化合物及び既存薬を同定する。FALS 原因タンパク質の転写制御による治療法開発を目的とする。

【方法】変異 SOD1 ゲノムを用い、内在性 promoter 制御下に分泌型ルシフェラーゼを発現するベクターを構築する。ヒトアストロサイト由来細胞株に導入し恒常的に発現するクローンを樹立し、ハイスループットスクリーニング (HTS) を行い変異 SOD1 転写を抑制する低分子化合物及び既存薬を同定する。WST-1 アッセイで非特異的細胞毒性の可能性を除外後、ELISA、ウェスタンブロッティング (WB) で SOD1 発現量の減少、特異性を確認する。変異 SOD1 トランスジェニックマウスに投与し効果を確認する。ヒット化合物の作用機序を解析し、SOD1 転写調節メカニズム及び治療分子標的を同定する。

【結果】9,600 種類の低分子化合物及び既存薬の HTS 及び ELISA、WB を完了し、ヒット化合物及び既存薬を数種見出した。ヒットした既存薬の作用機序の解析から、SOD1 転写調節を司る分子標的候補の同定を行っている。

【結論】FALS 新規治療法開発をめざし、HTS システムを確立し、ヒット化合物及び既存薬を抽出し、SOD1 転写調節メカニズムの解析を行った。既存薬は速やかな臨床適用も可能であり、詳細な作用機序の解析から新たな治療分子標的を見出すことも可能と考えられる。

## P-14

### 環境化学物質のアポトーティックトランスクリプトームとパスウェイ解析

国立環境研究所・環境リスク研究センター

○石堂 正美

近年、環境に存在する化学物質の発達期中枢神経系への影響についての動物実験の報告が相次いでおり、その小児健康リスク評価法の体系的整備が必要になってきている。

そのための実験的アプローチとしては、環境化学物質の神経幹細胞の系譜に及ぼす影響に関する知見の蓄積が重要になってくる。私たちはこれまでに様々な環境化学物質はアポトーシスを誘導し、神経系の発達障害をもたらすことを報告するとともに、*In vitro* neurosphere 法を確立し、環境化学物質の神経発生毒性を簡便に感度よく定量することを可能にした。そこで、本研究では *In vitro* neurosphere 法を用い、環境化学物質によるアポトーシス誘導時のトランスクリプトームを明らかにした。

ラット胎生 16 日の中脳砲より神経幹細胞を Weiss らの方法に準じ neurosphere として単離した。数個の neurosphere をアミンで加工した培養プレートに播種し、3 時間後に環境化学物質を曝露後、24 時間培養を続けた。環境化学物質で処理した神経幹細胞は、対照細胞と比較しながらアポトーシス誘導を確認し、DNA アレイ解析に供した。

最初に、環境化学物質としてトリブチルスズを培養神経幹細胞に曝露すると、ミトコンドリア障害、カスパー 3/7 の活性化を伴ったアポトーシスが誘導された。この時の DNA アレイ法の解析では、Ca<sup>2+</sup> 動員関連遺伝子、レチノール酸シグナル関連遺伝子、Wnt ファミリー遺伝子の発現が有意に変動した。これらの結果を Gene Set Enrichment 解析すると、サイトカインネットワークが付随的に活性化されることも示唆された。

同様の解析を他の環境化学物質についても検討し、若干の知見を得たので併せて報告する。