

神経変性疾患FTLD、ALSの治療薬開発を目指す スクリーニング技術と治療薬候補化合物

技術概要

1/2

1. 患者脳で見られるTDP-43の凝集を再現する細胞モデル
 2. 細胞モデルでスクリーニングされた治療候補化合物
- ⇒ 治療候補化合物の効率的なスクリーニングを行うことが可能

筋萎縮性側索硬化症 (ALS)

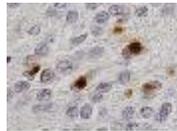
- 主として初老期（40～65才）に発症する認知症であり、前頭葉・側頭葉に限局して進行性の変性が生じる。初老期では、アルツハイマー病に次いで頻度が高い認知症である。国内の患者数は、推定2,000～3,000人。

前頭葉側頭葉変性症 (FTLD)

- 筋肉の動きを支配する運動ニューロンが変性することにより、筋肉の萎縮、筋力低下を来す神経変性疾患。進行が早く、約半数が発症後3～5年で呼吸筋麻痺を起こして死亡する難病である。多くは、認知症を伴わない。発症年齢は、50～74才の年齢層に多く見られ、その中でも65～69才がピークとなっている。患者数は、7,000～8,000人。

FTLD・ALS患者脳に見られる細胞内封入体

FTLD
細胞質封入体



ALS
スケイン様封入体



病理学的特徴

- 患者脳の変性部位に、ユビキチン陽性の細胞内封入体が出現する。
- その主要な構成タンパク質は**TDP-43**である (Arai et al, 2006 & Neumann et al, 2006)。

TDP-43 (TAR DNA-binding protein of 43 kDa)



- 核に局在する核リボヌクレオチドタンパク質
- RNAスプライシングに関与
- 孤発性および家族性ALS患者の遺伝子解析により、TDP-43遺伝子に多数のミスセンス変異が同定され、TDP-43の異常がFTLDやALSの発症と密接に関連することが示された。

神経変性疾患FTLD、ALSの治療薬開発を目指す スクリーニング技術と治療薬候補化合物

凝集体形成細胞モデル

2/2

欠損変異体（2種類）を作製。
神経芽細胞SH-SY5Yに発現させ、局在を観察。

1 μ gベクター +
3 μ L FuGENE 6
3日間培養

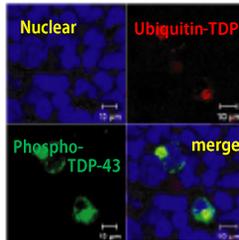


・抗リン酸化TDP-43抗体
・抗ユビキチン抗体

共焦点レーザー顕微鏡による観察イムノプロット解析

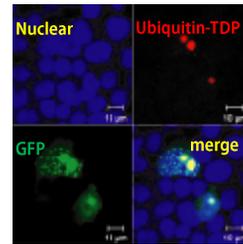
タイプ1：
GFP Δ 78-84 Δ 187-192

核移行シグナル及び核移行シグナル様
配列の2か所を欠損



タイプ2：
GFP 162 414

患者脳内で見られるのと同じ長さのC末断片



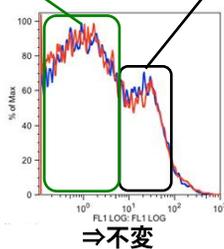
患者脳内で見られる凝集体同様、リン酸化・ユビキチン化を確認。

治療薬候補化合物の探索

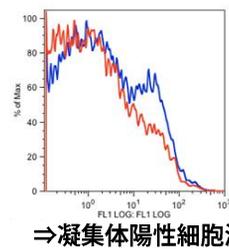
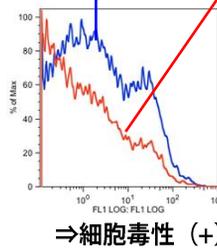
既存薬ライブラリー（Prestwick Chemical; 特許
切れ医薬品1191種類）からTDP-43凝集体形成
抑制薬剤をスクリーニング。

● FACSによるスクリーニング

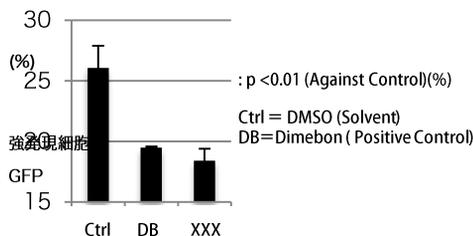
TDP-43発現・凝集体
未形成の細胞 凝集体形成細胞



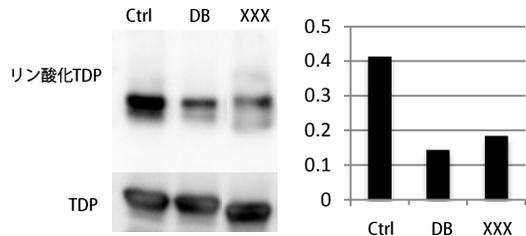
対照（未処理の細胞） 化合物で処理した細胞



● Positive controlとの比較（FACS）



● WB法による確認



凝集抑制能を持つ化合物を複数発見

