

京都大学	博士 (医科学)	氏名	加瀬直也
論文題目	Pluripotent stem cell-based screening identifies CUDC-907 as an effective compound for restoring the in vitro phenotype of Nakajo-Nishimura syndrome (多能性幹細胞を用いたスクリーニングによる、中條・西村症候群の in vitro 表現型回復に有効な化合物としての CUDC-907 の特定)		
(論文内容の要旨) プロテアソーム関連自己炎症性症候群 (Proteasome-associated autoinflammatory syndromes: PRAAS) は、プロテアソーム関連因子の変異により発症する近年定義された疾患群である。PRAAS は全身性の自己炎症性症状に加え、神経発達障害や脂肪・筋萎縮を併発することが報告されているが、いずれも詳細な発症機序は明らかでない。中條・西村症候群 (Nakajo-Nishimura Syndrome: NNS) は免疫プロテアソームのサブユニット $\beta 5i$ をコードする <i>PSMB8</i> 遺伝子にホモ接合性の点突然変異 (p.G201V) を持つことで発症する PRAAS の一種である。現行の治療は全身性ステロイドによる抗炎症療法であるが、脂肪・筋萎縮には効果がなく、しばしば重大な副作用が認められるため、新規治療薬の開発が切望されている。 NNS の詳細な病態生理の解明及び新規治療薬の探索のため、多能性幹細胞 (pluripotent stem cell: PSC) 由来の NNS 疾患モデルが以前に確立された (Honda-Ozaki, Stem Cell Rep 2018)。この疾患モデルは、 <i>PSMB8</i> 遺伝子 (p.G201V) を有する PSC を単球に分化及び株化させたものであり、炎症性ケモカインである monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) や interferon gamma-induced protein 10 (IP-10) の過剰産生など、いくつかの疾患表現型を再現している。またこの疾患モデルは、単球の状態で著しい増殖能力を有しており、大量に細胞が必要となる網羅的な治療薬候補の探索への応用が期待されていた。 本研究では、この PSC 由来 NNS 疾患モデルを用いて、有効な治療薬候補を見つけるためにハイスループットスクリーニング (high-throughput screening: HTS) を行った。既に生理活性作用が報告されている化合物 5,821 種において、MCP-1 及び IP-10 の産生阻害率の評価による HTS を行なったところ、化合物濃度 100 nM において両者の産生を 80% 以上阻害するヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase: HDAC) 阻害剤 3 種を絞り込むことに成功した。3 種の濃度依存的な MCP-1 及び IP-10 阻害効果と細胞毒性を解析した結果、そのうちの 1 種 CUDC-907 は最も高効率な阻害活性を示し、且つ細胞への短期的な投与では、阻害活性の有効濃度範囲内でほとんど細胞毒性を示さなかった。また、その高効率な阻害効果及び最小限の細胞毒性は、患者由来線維芽細胞に対しても発揮された。CUDC-907 の MCP-1 及び IP-10 産生阻害における作用機序を明らかにするために、CUDC-907 処理後における MCP-1 及び IP-10 の遺伝子発現並びに細胞内タンパク質量を定量したところ、その遺伝子発現は CUDC-907 の処理によりむしろ増加したが、細胞内タンパク質量は減少していたため、CUDC-907 の産生阻害効果は、少なくともそれらの転写後に発揮されることが示された。 以上の結果により、PSC 由来の疾患モデルを用いた HTS は、NNS などの自己炎症性疾患に対する治療薬候補の探索に有効なアプローチであることが示された。さらに、本研究で特定された化合物である CUDC-907 は、NNS の疾患表現型である MCP-1 及び IP-10 の過剰産生を効果的に阻害することが明らかとなり、今後その作用機序を詳細に解析することで、NNS の治療戦略の前進が期待される。			

(論文審査の結果の要旨)

中條・西村症候群 (Nakajo-Nishimura Syndrome: NNS) は、*PSMB8* 遺伝子のホモ接合性点突然変異により発症する自己炎症性疾患である。全身性ステロイドの投与が部分的に有効だが、継続的な治療により重篤な副作用を生じる。以前の研究で、炎症性ケモカインである monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) や interferon gamma-induced protein 10 (IP-10) の過剰産生など、炎症表現型を再現する多能性幹細胞 (pluripotent stem cell: PSC) 由来 NNS 疾患モデルが確立された。本研究では、この PSC 由来 NNS 疾患モデルを用い治療薬候補を特定するため、ハイスループットスクリーニング (High-throughput screening: HTS) を行った。その結果、CUDC-907 を MCP-1 及び IP-10 の産生を効果的に阻害する化合物として特定した。CUDC-907 の短期投与は、治療濃度内で細胞死を引き起こさず、患者由来線維芽細胞に対しても有効であった。さらに、その産生阻害効果は少なくともそれらの転写後段階であることが示された。以上の研究は、自己炎症性疾患に対する創薬として PSC 由来疾患モデルを用いた HTS が有効なアプローチであることを示し、他の自己炎症性疾患に対する創薬の土台として寄与することが期待される。

したがって本論文は、博士 (医科学) の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 2 月 13 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降