

| | | | |
|---|---|-----|-------|
| 京都大学 | 博士 (医学) | 氏 名 | 南山素三雄 |
| 論文題目 | Efficacy of oligodendrocyte precursor cells as delivery vehicles for single-chain variable fragment to misfolded SOD1 in ALS rat model (ALS モデルラットにおけるミスフォールド SOD1 に対する一本鎖抗体の送達手段としてのオリゴデンドロサイト前駆細胞の有効性) | | |
| <p>(論文内容の要旨)</p> <p>筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態に生理構造を逸脱したミスフォールドタンパク質の蓄積が深く関わると考えられ、抗体治療は異常構造のみを除去する分子標的戦略として有望である。家族性 ALS の 20-30%において <i>superoxide dismutase 1 (SOD1)</i> 遺伝子の突然変異を認め、病原 SOD1 タンパク質に対する様々な治療抗体の投与が ALS モデルに対して試みられた。しかし、有効性は限定的であり、抗体のデザインに加え、デリバリーシステムの改善により、治療効果を改善できる可能性がある。そこで、近年 ALS での機能低下が注目され、増殖能と非腫瘍原性を兼ね備えるオリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) に治療抗体産生・分泌能を付与し、移植するという新たな治療方法の有効性を検討した。まず、G93A 変異 SOD1 組み換えタンパク質で免疫したマウスからハイブリドーマを作製し、アポ型野生型 SOD1 と反応し、ホロ型と反応しない上清を ELISA によりクローニングした。加えて免疫細胞染色法、免疫沈降法、G93A SOD1 トランスジェニック(Tg)マウスと患者脊髄の免疫組織化学法によりによりモノクローナル抗体 D3-1 を選抜した。まず、H46R SOD1 Tg ラットに全長 D3-1 抗体を浸透圧ポンプを用いて 4 週間髄腔内投与したところ、有意な発症遅延と寿命延長効果を認めた。次に D3-1 ハイブリドーマ由来の cDNA から可変領域をクローニングし、リンカーペプチドで連結させた一本鎖抗体 (scFvD3-1) を作成、増殖能を欠落させたボルナ病ウイルスベクターに組み込み、野生型ラット脳由来の初代培養 OPC に感染させた。形質転換させた OPC は変異 SOD1 特異性を維持した cFvD3-1 を安定的に分泌した。H46R SOD1 Tg ラットに OPC scFvD3-1 を単回髄腔内投与したところ、全長抗体の持続髄腔内投与に比較して著明な発病の遅延と寿命の延長を認めた。さらに脊髄の免疫組織解析により、運動神経細胞の減少とミクログリア、アストロサイトのグリオシスを有意に抑制し、前脛骨筋の神経筋結合部の解析では脱神経が有意に抑制された。特殊抗体を用いた腰髄ライセートのウェスタンブロット定量解析により、OPC scFvD3-1 はミスフォールド SOD1 の蛋白質量を有意に低下させた。効果の分子機序を検討するため、腰髄組織の cDNA マイクロアレイを行ったところ、酸化低密度リポタンパク質受容体 1 である Olr1 などの炎症性遺伝子の転写が有意に抑制された。以上より OPC は抗体の有効性を改善させる送達手段であり、さらに自己複製能と薬剤制御が可能なボルナ病ウイルスベクターは増殖型細胞に安全かつ有効に用いられることが示された。治療抗体を発現させる OPC は、ミスフォールドタンパク質が発症に関与している ALS に対する新しい選択肢となると考えられる。</p> | | | |

| |
|--|
| <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態に構造異常タンパク質の蓄積が深く関わると考えられ、それを除去する抗体治療は分子標的治療として有望である。しかし、有効性は限定的であり、デリバリーシステムの改善により、治療効果を改善できる可能性がある。そこで、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) に治療抗体産生・分泌能を付与し、移植する治療方法の有効性を検討した。まず、変異 SOD1 に特異的に反応するモノクローナル抗体 D3-1 を作製し、H46R SOD1Tg ラットに 4 週間髄腔内投与したところ、有意な発症遅延と寿命延長効果を認めた。D3-1 から可変領域をクローニングし、一本鎖抗体 (scFvD3-1) を作製、ボルナ病ウイルスベクターに組み込み、ラット初代培養 OPC に感染させた。感染した OPC は変異 SOD1 特異性を維持した scFvD3-1 を安定的に分泌した。H46R SOD1Tg ラットに OPC scFvD3-1 を単回髄腔内投与したところ、全長抗体の持続髄腔内投与に比較して著明な発病の遅延と寿命の延長を認めた。さらに病理学的、生化学的にも改善および、炎症性遺伝子の転写が有意に抑制された。以上より、治療用抗体を発現する OPC 移植の ALS 治療への可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究はオリゴデンドロサイト前駆細胞の治療用抗体の送達手段としての有用性の検証に貢献し ALS に対する抗体治療の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 6 月 29 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。</p> |
| <p>要旨公開可能日： 年 月 日 以降</p> |