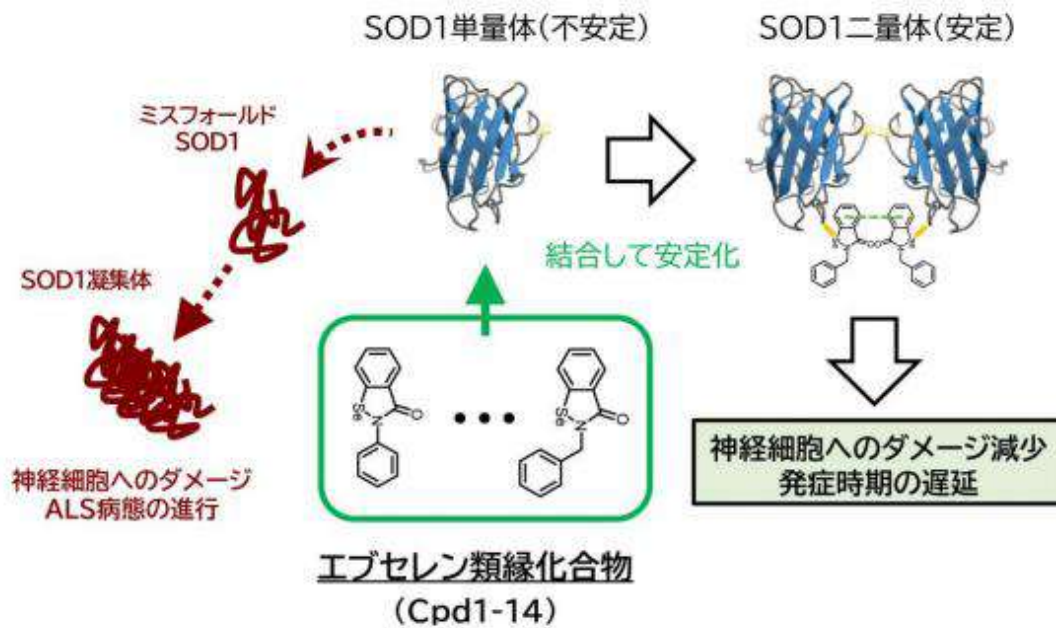


## 神経難病 ALS の治療薬候補となる エブセレン類縁化合物の開発に成功

名古屋大学環境医学研究所/医学系研究科の渡邊征爾助教、山中宏二教授、英国・リバプール大学の Samar Hasnain 教授らの国際共同研究グループは、化合物エブセレンを基に神経難病ALS(筋萎縮性側索硬化症)の治療薬候補となり得る化合物の開発に成功しました。



ALS は大脳や脊髄にある運動神経細胞に原因不明の細胞死が起こり、全身の筋肉の麻痺や萎縮を生じる神経難病です。ALS の一部は遺伝性に発症し、そのうち SOD1(注 1)遺伝子の異常が大きな割合を占めています。これまでに Hasnain 教授のグループは、ALS 患者由来の異常なSOD1 タンパク質(異常化 SOD1)にエブセレン(注 2)と呼ばれる化合物が結合して、その異常化を抑制することを見出していました。そこで今回、研究チームはエブセレンをベースにして、より強力かつ特異的に SOD1 の異常化を抑制する ALS の治療薬候補となりうる化合物の開発を目指しました。

エブセレンの構造を様々に改変し、試験管内で異常化 SOD1 に対して抑制効果の高い化合物を選抜し、実際に候補化合物が異常化 SOD1 と結合している立体構造を解析しました。さらに、異常化 SOD1 を発現する神経細胞に候補化合物を添加して、細胞を異常化 SOD1 の毒性から保護できるか検証を行い

ました。この結果、エブセレンより細胞保護効果の高い複数の化合物を得られました。また、それら候補化合物の細胞保護効果は、現在、ALS 治療薬として使用されているエダラボンと比較して、より優れていることが判明しました。

本研究成果は、エブセレンをベースにして異常化 SOD1 に対する細胞保護効果がさらに高い化合物を開発することに成功したものです。今後、生体における安全性や病態改善効果の確認がまず必要であり、ALS のモデルマウス(注 3)を用いて検討を行い、将来の有望な治療薬候補として開発を進める計画です。

## 研究背景

ALS は大脳と脊髄の運動神経細胞が徐々に傷害されて死に至る、原因不明の神経難病であり、本邦では約 9000 人が闘病しています。思考や認知に関わる能力は保たれたまま、全身の筋肉の麻痺や萎縮が進行し、多くの患者さんは数年以内には人工呼吸器なしには生存できなくなります。そのため、ALS 発症原因の解明と治療法の開発が強く期待されています。

ALS の約 10%は遺伝性に発症し、その原因として多くの遺伝子の異常が知られています。なかでも、SOD1 遺伝子の異常は、本邦では最も頻度が高く、遺伝性 ALS の約 20%を占めます。名古屋大学グループと英国・リバプール大学グループは、神経科学とたんぱく質の構造生物学という異分野国際共同研究により、ALS の病態研究を進めてきました。リバプール大学の Samar Hasnain教授のグループは、化合物エブセレンが異常化した SOD1 タンパク質に結合して、その毒性を軽減することをこれまでに報告しました(Cappar et al. Nat Commun 2018)。そこで、本研究ではエブセレンを基点に、より効果の高い化合物の開発を目標としました。

## 研究成果

本研究では、英国チームがエブセレンの構造から異常化 SOD1 との結合に必須でない部分を様々に改変し、多数の候補化合物を作製しました(図 1)。その結果、異常化 SOD1 への結合と安定化の効果がエブセレンより優れた化合物が複数得られました。また実際に、その結合状態を立体構造解析によって明らかにもしました。そこで、名大チームは得られた候補化合物が実際に神経保護効果を発揮するか、まず異常化 SOD1 を発現する神経培養細胞を用いて検討しました(図 2)。その結果、エブセレンが細胞を保護できる濃度(1  $\mu\text{M}$ )よりも

はるかに低い濃度(0.1  $\mu\text{M}$ )で強力に細胞を保護できる有望な化合物であることが分かりました。また、それらの化合物はエブセレンよりも細胞に対する毒性も低く安全であることが分かりました。さらに化合物の保護効果は、現在、ALSの治療薬として利用されているエダラボンより優れていました。以上のことから、本研究で得られた新たな化合物は異常化 SOD1 の毒性から細胞を保護して ALS の病態を改善するうえでエブセレン以上に有効であると考えられます。

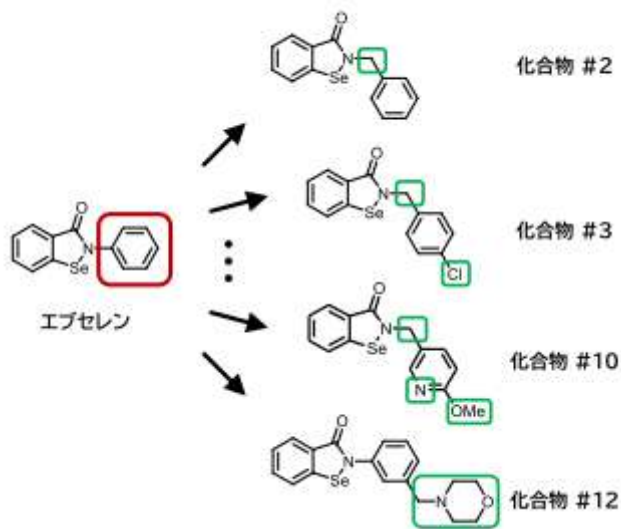


図 1 エブセレンの類縁化合物への展開  
エブセレン(左)の赤い部分を標的に様々な化学的改変(緑)を行い、候補化合物を得た。

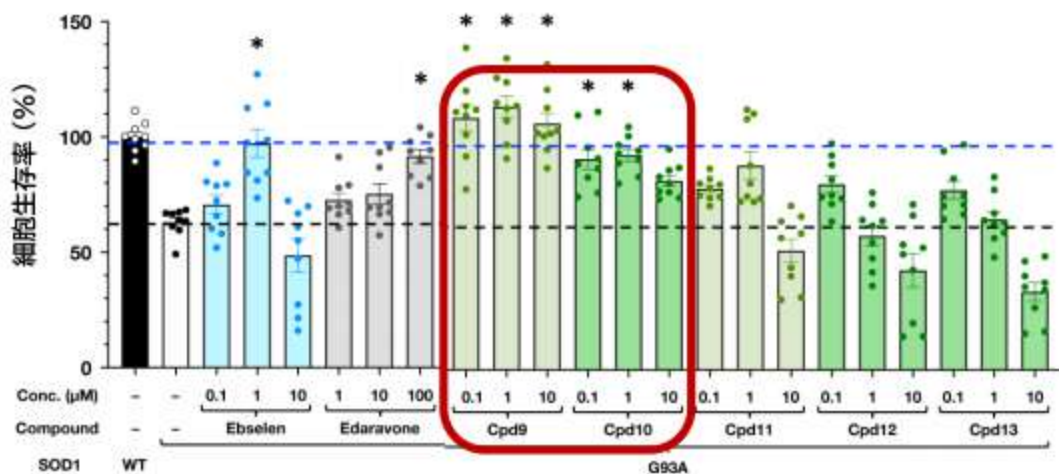


図 2 異常化 SOD1 を発現した神経細胞における候補化合物の保護効果

縦軸が生存率を表し、値が大きいほど細胞保護効果が高いことを表す。開発した化合物のなかでも、化合物#9 と#10(Cpd9, Cpd10)が非常に高い細胞保護効果を示した(赤枠内)。また、両化合物はエダラボン(Edaravone, 灰色)より低濃度で効果があり、その効果も優れている。青破線は毒性のない状態での細胞生存率(陽性対照)、黒破線は化合物を加えない状態での細胞生存率(陰性対照)を示す。

さらに、候補化合物の臨床応用を念頭に、エブセレンによる ALS モデルマウスにおける病態改善効果について併せて検討しました。その結果、エブセレンを経口摂取させた群では、発症時期が有意に遅くなりましたが、生存期間の延長効果は不十分でした(図3)。従って、エブセレンの異常化 SOD1 に対する神経保護効果はモデルマウスでも有効であるものの、十分でない可能性が考えられます。本研究で、新たに開発した化合物はエブセレンよりも個体に対する効果が高いと期待されるため、今後、実験によって検証する予定です。

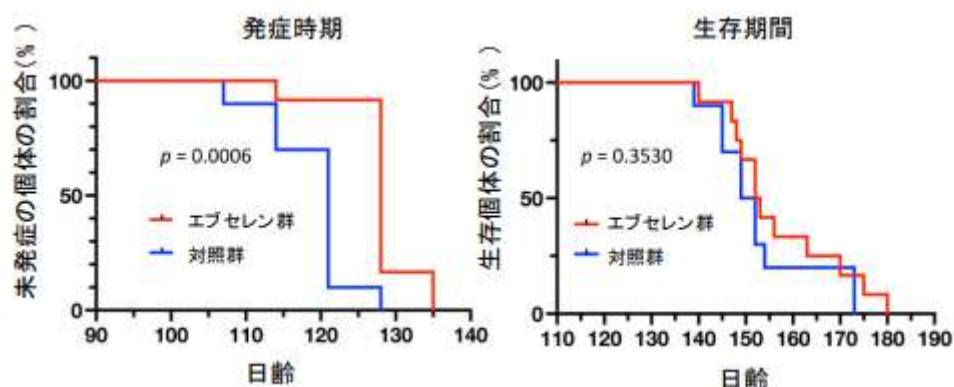


図 3 ALS モデルマウスにおけるエブセレン投与の効果

エブセレン粉末を餌に混ぜて 70 日齢から ALS モデルマウスに投与した。体重が減少に転ずる時点を”発症時期”と定義して、発症時期と死亡までの生存期間を観察した。エブセレン投与群では、有意に発症時期の遅延が生じることが確認できた。

## 用語説明

### 注 1. SOD1

Cu/Zn スーパーオキシドジムスターゼのことで、体内の活性酸素を除去する酵素のひとつです。正常な SOD1 タンパク質は安定な二量体構造をとります

が、ALS の原因となる遺伝子変異が生じると、不安定な単量体が増加します。単量体の SOD1 タンパク質は構造が崩れた状態(ミスフォールド SOD1) になりやすく、ミスフォールド SOD1 が増加すると容易に凝集して神経細胞を傷害します、つまり神経細胞に対して毒性を持つようになります。そのため、不安定な単量体の SOD1 やミスフォールド SOD1 を減少させることが SOD1 による運動神経変性を抑制するために重要と考えられています。

#### 注 2. エブセレン

エブセレンは、抗炎症作用・抗酸化作用を持つ合成有機セレン薬物分子です。本邦でも過去に急性脳梗塞に対する保護作用を期待して臨床試験が行われましたが、承認には至りませんでした。現在、双極性障害の治療薬候補として、海外で臨床研究が進められています。

#### 注 3. ALS モデルマウス

遺伝性 ALS の原因遺伝子 SOD1 に ALS 患者由来の変異を導入した変異ヒト SOD1 遺伝子をマウスに導入したモデルマウスであり、ALS の特徴である運動神経細胞死、筋麻痺を再現し、広く研究に使用されています。本研究では、SOD1 の 93 番目のアミノ酸であるグリシンがアラニンに置き換わった変異型ヒト SOD1(G93A 変異)をもつマウス(B6.Cg - Tg(SOD1\*G93A)1Gur/J) を使用しました。

#### 論文情報

タイトル: Novel Selenium-based compounds with therapeutic potential for SOD1-linked Amyotrophic Lateral Sclerosis

雑誌: EBioMedicine

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102980>

#### 日本語原文

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_J/research/pdf/EBio\\_Me\\_200828.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_J/research/pdf/EBio_Me_200828.pdf)

