HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on therapeutics of prion diseases : Establishment of novel screening method for anti-prion compounds and cell therapy model [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	単, 智夫
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第12617号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65651
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Zhifu_Shan_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：単　智　夫

審査委員	主査　教授	堀　内　基　広
	副査　教授	澤　　洋　文
	副査　准教授	小　林　篤　史
	副査　東北大学教授	堂　浦　克　美

学位論文題名

Studies on therapeutics of prion diseases - Establishment of novel screening method for anti-prion compounds and cell therapy model -
（プリオン病の治療法に関する研究　−抗プリオン薬新規スクリーニング法と細胞治療モデルの確立−）

プリオン病はヒトおよび動物の致死性神経変性疾患である。プリオンの増殖は，正常型プリオンタンパク質 (PrP^{C}) から異常型プリオンタンパク質 (PrP^{Sc}) への構造転換と密接に関連している。従って，PrP^{Sc} の産生を阻害する薬剤はプリオン病の治療法への応用が期待される。また，変性した神経組織の修復や神経保護作用が期待できる再生医療・細胞治療もプリオン病の治療法の候補と考えられる。しかし，現在まで有効な治療法は確立されていない。そこで本研究では，プリオン病の治療法の開発を目的として，新規の抗プリオン薬スクリーニング法の確立，および間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells, MSCs) を用いたプリオン病の治療モデルの確立を行った。

プリオン感染細胞は，PrP^{Sc} の検出を指標に抗プリオン薬のスクリーニングに使用されてきた。PrP^{Sc} の検出には，タンパク分解酵素 (Proteinase K, PK) 処理により PrP^{C} を除去する必要がある。しかし，PrP^{Sc} には PK 感受性の PrP^{Sc} (PrP^{Sc}-sen) と PK 抵抗性の PrP^{Sc} (PrP^{Sc}-res) があり，PrP^{Sc}-sen に高い感染性と構造転換活性が付随している。従って，PrP^{Sc} を検出する際に PK 処理を行うと，PrP^{C} とともに PrP^{Sc}-sen が分解されて検出できず，薬剤の効果を過小評価する可能性がある。そこで第 1 章では，抗 PrP モノクローナル抗体 (mAb) 132 を用いて，プリオン感染細胞から PK 処理を行わずに直接 PrP^{Sc} を検出できる cell-ELISA を確立した。MAb 132 は PrP^{Sc}-sen と PrP^{Sc}-res の両方を検出可能であり，cell-ELISA による PrP^{Sc} 検出は 10^{1} オーダーの直線定量域を有していた。PrP^{Sc} 検出の直前に細胞活性測定の操作を加えても PrP^{Sc} の検出に影響しなかった。従って，本研究で確立した cell-ELISA は，細胞培養から，細胞活性測定，および PrP^{Sc} 検出に至る全ての工程を一枚のプレートで完結できる。

PK 処理を必要としない簡便な PrP^{Sc} 検出系は，新規の抗プリオン薬スクリーニング法として有用と考えられる。

プリオン病の治療法のもう一つの方向性は，神経組織の保護である。脳梗塞や脊髄損傷の患者に自己の MSCs を移植した場合，機能回復や症状改善が報告されている。そこで第 2 章では，プリオン感染マウスに対するマウス MSCs の効果を検討した。マウス緻密骨から回収した MSCs を緻密骨由来 MSCs (Compact bone-derived MSCs, CB-MSCs) として用いた。プリオン Chandler 株接種後 120 日のマウスの海馬に CB-MSCs を移植したところ，マウスの生存期間が有意に延長した。CB-MSCs の移植は中枢神経系における PrP^{Sc} の蓄積には影響しなかったが，ミクログリアを更に活性化させた。遺伝子発現解析の結果から，ミクログリアは M2 タイプの活性化状態にシフトしていると考えられた。以上の結果から，MSCs の自己移植はプリオン病の治療法の候補となること，またミクログリア活性化状態の調節は神経変性疾患の治療標的となることが示唆された。

本研究では，プリオン病の治療薬のスクリーニングに有用な新規の cell-ELISA を確立した。また，MSCs がプリオン病の治療に応用可能であることを示した。これらの結果は，プリオン病の治療法の確立を目指す研究を一層進展させるものであり，博士の学位を授与するに相応しい研究成果と考えられる。

よって，審査委員一同は，上記学位論文提出者　単　智夫　氏の学位論文は，北海道大学大学院獣医学研究科規程第６条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。