

人生120年時代へ向けた、サステイナブルな老化制御への試み

慶應義塾大学医学部 眼科学教室

特任講師 稲垣 絵海

(共同研究者)

慶應義塾大学医学部 生理学教室 教授 岡野 栄之

慶應義塾大学医学部 生理学教室 講師 前田 純宏

慶應義塾大学医学部 生理学教室 講師 石川 充

慶應義塾大学医学部 眼科学教室 教授 根岸 一乃

慶應義塾大学医学部 眼科学教室 名誉 坪田 一男

はじめに

人生100年時代を目前として本邦では国策として健康寿命の延伸のため、加齢性疾患の病態解明を行うことが急務である。NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) は近年加齢で減少するためNADの中間前駆体の補完が着目されている。研究では多くの加齢性疾患に共通するメカニズムとしてNADに着目し、外部からNAD濃度を調整することでin vitroで生理的な老化を模倣した老化研究基盤を構築し、HTSを用いたドラッグスクリーニングを実施することでNADを増強し、蛋白凝集を抑制する新たな機序の老化予防薬を開発することを目的とした。

結 果

初期スクリーニングとしてHEK293細胞を用いたNAD合成系に特化してスクリーニング方法を構築した。Z'値は、アッセイのシグナルとバックグラウンドシグナルの変動に基づいて計算され、スクリーニングの品質を評価するための指標であり下記のように計算される。 $Z' = 1 - (3 * (\sigma_p + \sigma_n) / |\mu_p - \mu_n|)$ (ここで、 σ_p :陽性コントロール(ポジティブコントロール)の信号の標準偏差、 σ_n :陰性コントロール(ネガティブコントロール)の信号の標準偏差、 μ_p :陽性コントロールの平均信号、 μ_n :陰性コントロールの平均信号) Z'は0.50以上であれば適切とされるが、本構築した系では0.80前後を担保した。またCV値(Coefficient of Variation): CV値は、アッセイの信号の変動度を評価する指標であるがこちらも $CV = (\sigma / \mu) * 100$ のように計算される。(σ:信号の標準偏差 μ:信号の平均値) CV値は10%以下が適切とされるが本系では3%以下であった。ATP、NAD検出はルシフェラーゼ法を用い実施した。そのなかで候補薬を選定した。得られた候補薬にはカウンターアッセイを実施し、候補をより選定した。このように一次、二次スクリーニングを実施

した。

さらにこれらの候補薬剤を健常者由来iPSC株(201B7株)、AD患者由来iPSC株(PS1株と APPSwe株)にNgn2 及び microRNA9/9*/124を導入し神経細胞に分化誘導した当該細胞への添加回収実験を実施した。これらの細胞に細胞死誘導性の刺激を実施すると当該薬剤で介入効果がみられた。検証した。また、神経突起の伸長への効果を持つことも確認するとともに細胞内NAD濃度、ATP濃度において担保することを見出し有用な結果を得た。

考 察

共同研究者から提供されて既存薬プレートに含有される1232の候補薬からドラッグスクリーニングを実施し、奏功する薬剤Xを見出した。候補薬XはiPS細胞由来誘導神経細胞において細胞内NAD低下による細胞死を抑制する効果を有していた。これらの知見は当該薬剤が認知症の治療につながる可能性を示唆している。

要 約

人生100年時代を目前として、本邦では国策として健康寿命の延伸のため、加齢性疾患の病態解明が急務である。NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) は近年加齢で減少するためNADの中間前駆体の補完が着目されている。研究では多くの加齢性疾患に共通するメカニズムとしてNADに着目し、外部からNAD濃度を調整することでin vitroで生理的な老化を模倣した老化研究基盤を構築し、HTSを用いたドラッグスクリーニングを実施することでNADを増強し、蛋白凝集を抑制する新たな機序の老化予防薬を開発することを目的とした。初期スクリーニングとしてHEK293細胞を用いたNAD合成系に特化したスクリーニング方法を構築した。Z'値は、0.80前後を担保しCV値(Coefficient of Variation)も本系では3%以下であり非常に有望である。ATP、NAD検出はルシフェラーゼ法を用い実施した。そのなかで候補薬を選定した。得られた候補薬にはカウンターアッセイを実施し、候補をより選定した。このように一次、二次スクリーニングを実施した。さらにこれらの候補薬剤を健常者由来iPSC株(201B7株)、AD患者由来iPSC株(PS1株と)にNeurogenin2 及び microRNA9/9*/124を導入し神経細胞に分化誘導した当該細胞への添加回収実験を実施した。これらの細胞に細胞死誘導性の刺激を実施すると当該薬剤で介入効果がみられた。また、神経突起の伸長への効果を持つことも確認するとともに細胞内NAD濃度、ATP濃度において担保することを見出し有用な結果を得た。候補薬XはiPS由来誘導神経細胞において細胞内NAD低下による細胞死を抑制する効果を有していた。これらの知見は当該薬剤が認知症の治療につながる可能性を示唆している。この研究は、加齢性疾患の病態解明と新たな老化予防薬の開発に向けた有望なステップを示唆しており、将来的に健康寿命の延伸に貢献する可能性があることを示した。

文 献

現在最終実験を実施中であり結果がでしだい論文投稿するため鋭意推敲中である。