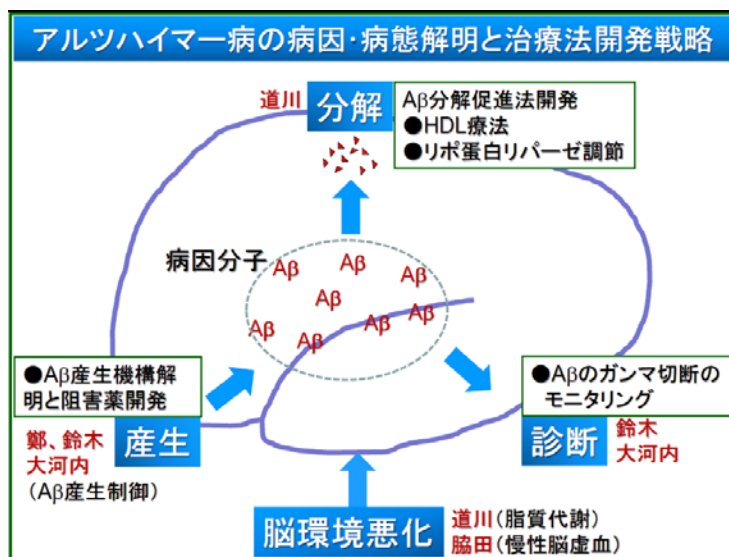


アルツハイマー病の病因、病態究明に関する研究（23-5）

主任研究者 道川 誠 独立行政法人 国立長寿医療研究センター  
アルツハイマー病研究部（部長）

研究要旨

アルツハイマー病の分子病態を駆動する病因分子はamyloid  $\beta$ -蛋白質(A $\beta$ )であると考えられる。従って、真に有効な予防・治療法開発には、A $\beta$ の産生、重合、分解、除去などA $\beta$ 代謝機構を解明し、それらを基盤にした新たな標的の攻略による治療薬開発が必要となる。特に既知の情報を基盤にした治療薬開発が行き詰まっている現状を打破するには、新たな科学的事実・治療標的の発見や、今まで検討されていない視点からのアプローチが必要となる。本研究班では、病因・病態解明に直結するAPP（A $\beta$ の前駆体蛋白質）ならびにA $\beta$ 分解除去に焦点を当てた研究を行った。また、APPに類似した分子の代謝産物定量によりA $\beta$ 産生状況を把握し、A $\beta$ 代謝動態の理解と診断法への応用を検討した。これらの目的達成の為に、それぞれユニークで独創的なアプローチが可能な研究者を分担研究者として参加してもらい班構成した。各班員の担当課題と相互関係は、下図に示す。



研究者を分担研究者として参加してもらい班構成した。各班員の担当課題と相互関係は、下図に示す。

A $\beta$  は分解される以外に血液脳関門(BBB)を介して排出される。AD や ApoE 欠損マウスでは BBB 機能障害が知られるが、分子機構は不明である。今年度は、内皮、周皮、アストロサイト細胞から成る BBB 培養モデルを作り、BBB 形成を評価した。ApoE4 ノックイ

ン(KI)マウスから培養した BBB モデルでは ApoE3 に比して BBB 形成が不良であった。また ApoE3-, ApoE4-KI マウスの BBB 透過性をエバンスブルー法で定量した結果、ApoE4 型マウスでは BBB 透過性亢進が認められた。以上から、ApoE4 型脳では、BBB 機能障害により A $\beta$  搬出低下を起こし AD 発症を早めている可能性がある。血液側からのアプローチで BBB 機能を向上させる治療法の可能性が考えられる（新規治療標的）。また、ある microRNA が培養アストロサイトで ApoE, HDL 産生増加させることを確認した。化合物とは異なる創薬の可能性もある。脳内に存在するリポタンパクリパーゼ(LPL)が、新規 A $\beta$  結合分子であり、A $\beta$  の細胞内取り込みと分解を促進することを発見した。LPL の代謝調節は治療標的になると考え（特許出願済）、次年度以降に動物モデルでの検討に備え LPL トランスジェニックマウスを作成した。Ab は ApoE-HDL に結合して分解されるもの、LPL に結合して分解されるもの、ならびに BBB を介して脳外へ排出されるものがある。現在 AD 治療法としてワクチン療法や抗体療法が試みられているが、BBB を介した脳内への抗体移行の効率が悪い。仮に BBB を介した脳内への抗体移行の効率を促進される方法が開発されれば、使用する抗体量を減らすことが可能といなり、大きな財政的な貢献ができる。本年度我々は、A $\beta$  抗体修飾による脳内移行促進させる薬剤開発を開始し、いくつかの候補化合物が抗体の脳内移行効率を高めることを明らかにした。

A $\beta$  産生機構解明と阻害剤開発ならびに診断法への応用ならびに A $\beta$  のガンマ切断のモニタリングに関する研究では、アルツハイマー患者 CSF 中における p3-Alc $\alpha$  の解析を行い、 $\gamma$  切断の変化を探索した。p3-Alc $\alpha$  は、Alc $\alpha$  が  $\gamma$  切断を受けて分泌する非凝集性ペプチドである。3 コホートの解析を行い 2 コホートで、MCI(CDR 0.5)および AD (CRD 1)患者 CSF 中で  $\gamma$  セクレターゼのマイナー切断産物であり p3-Alc $\alpha$ 38 が増加していた。これは、PS の遺伝子変異を持たない孤発性患者においても  $\gamma$  切断が変化している事を示す成果として発表した(Ann. Neurol. [2011] 69, 1026)。また、APLP1 および APLP2 の S3/ $\epsilon$  切断部位を同定した。具体的には、*in vitro*  $\gamma$ -secretase assay および cell-free  $\gamma$ -secretase assay を用いて  $\gamma$  切断を再現した。その結果、新規産生 AICD の N 末端を決定した。また、APLP1 および APLP2 でも  $\beta$ APP の  $\gamma$  切断と同様に  $\epsilon$  切断部位を同定した。それらは  $\beta$ APP の  $\epsilon$  切断と同じように複数の alternative 切断部位から成り立っていた。また、APL2 $\beta$  の定量系を確立した。APL2 $\beta$  がアルツハイマー病のバイオマーカーとなる可能性を目指して、患者 CSF や血液を対象に LS/MS/MS 系を用いて APL2 $\beta$  各分子種の定量系を作成することに成功した。脂質成分などの内因性成分が A $\beta$ 42 やそれに対応する APL1 $\beta$ 28, APL2 $\beta$ 38 の産生にどのように関わっているかの検討を開始した。鄭らは、APP の新規結合蛋白質としてホメオティック因子 ATBF1 を同定し、その発現上昇が A $\beta$  産生を増加させることを発見した。APP 代謝及び A $\beta$  産生における ATBF1 の機能を解析するため、ATBF1 遺伝子のエクソン 9 を破壊した ATBF1 ノックアウトマウスを作製した。ATBF1 ヘテロ (+/-)マウス同士を交配して ATBF1 欠損 (-/-)マウスを作成したところ、生後直後に死亡することが分かった。胎生 12.5~18 日の胎仔の形態解析により、脳および全身サイズが小さく、脳の形成不全があることが分かった。ATBF1 ヘテロ (+/-)と APP トランスジェニックマウスの交配マウス作製を開始し、次年度にはこのマウスを用いて A $\beta$  量と AD の分子病態に関連する分子群の発現量解析を行なう予定である。脳環境悪化とアルツハイマー病分子病態に関する研究では、Tau-Tg マウス(5 か月齢の P301L)に対して 2 ヶ月間慢性的脳循環障害を加えところ、虚血負荷群では記憶機能障害発症が早まり、リン酸化タウに増加が認められる事を明らかにした。また、タウの免疫組織化学では、対照群では大脳皮質、線条体の神経細胞体が陽性となったが、

虚血群ではさらに軸索にタウが検出され、細胞内局在が異なる事が明らかとなった。

#### 主任研究者

道川 誠 独) 国立長寿医療研究センター・アルツハイマー病研究部 部長

#### 分担研究者

道川 誠 独) 国立長寿医療研究センター・アルツハイマー病研究部 部長

鄭 且均 独) 国立長寿医療研究センター・アルツハイマー病研究部 室長

鈴木利治 北海道大学大学院薬学研究院・神経科学 教授

脇田英明 藤田保健衛生大学 医学部 内科 准教授

大河内正康 大阪大学大学院・医学系研究科・精神医学 講師

#### A. 研究目的

**必要性：** 認知症に関する中期目標・中期計画に策定された中心的課題には、(1) 認知症とくにアルツハイマー病の本態解明、(2) 予防、診断、治療法の開発、がある。本研究班では、上記課題の内、特に基礎研究に力点をおいた研究(上記(1))を行う。従って本研究課題の遂行は、当センターの中期目標と中期計画の中心課題に密接に関連し、その攻略は当センターの果たすべきミッションに合致する。またアルツハイマー病制圧という厚生労働行政施策の重要性から考えて必要な研究課題である。

**研究目的：** アルツハイマー病の予防及び治療法開発の基盤となるアルツハイマー病の病因、病態解明に関する研究を行う。研究標的として、APP ならびに A $\beta$  代謝（産生・重合・分解・除去）に焦点を当てる。

#### B. 研究方法

**道川：**

(1) 危険因子 ApoE4 は HDL 産生能が ApoE3 より劣っている。近年 ApoE-HDL は A $\beta$  と結合し、その分解・除去に働くことが明らかになった。そればかりでなく A $\beta$  の除去に働く血液脳関門の機能維持に ApoE-HDL が重要であることを見いだした。以上のように A $\beta$  の除去分解機能を多様な作用点で支える ApoE-HDL の分子機構を解明する。また、ApoE4 の機能増強を目的に HDL 産生を増加させる薬剤探索を完了させ、リード化合物を同定する。(2) 脳内にリポ蛋白リパーゼが豊富に存在するがその役割は不明であった。リポ蛋白リパーゼが新規 A $\beta$  結合分子であることを発見し、A $\beta$  の分解・除去を促進する作用があることを明らかにした。その機能解析を行い、機能制御法を明らかにすることで、新たな治療標的として確立する。

**鈴木：**

発現量の高い Alc $\alpha$  と Alc $\beta$  に由来する p3-Alc $\alpha$  と p3-Alc $\beta$  を CSF 中で解析する。(1) 22 年度までの委託研究で開発した p3-Alc $\alpha$ 、p3-Alc $\beta$  を定量する sELISA 法を用いて、SAD 患者と対照健常人の CSF・血液中の p3-Alc を定性・定量し、切断サイトの変化（質的変動）と量的変化から  $\gamma$  セクレターゼの機能変化を確証する。

(2) 細胞系およびマウスを用いて、PS 遺伝子変異に依存しない  $\gamma$  セクレターゼの機能変化を Alc を基質として解析する。疾患モデルマウスおよび脂質代謝変異細胞は、一部、主任研究者から供与された。

**脇田：**

アルツハイマー病の発症因子に対する虚血、循環障害の影響を解明するため、H22 年度までに検討した Tau 遺伝子改変マウスに加えて、他の発症因子 (APP, ApoE 等) の遺伝子改変マウスに、同様の慢性虚血を負荷する。虚血負荷の記憶機能への影響を行動から調べ

る。また、アルツハイマー病関連因子や神経細胞死について、生化学的解析を行う。同定された因子について、脳内分布の変化を組織学的に解析し、虚血、循環障害の影響の分子機構を解明する

鄭 :

APP代謝及びA $\beta$ 産生機構におけるATBF1の機能解析を、(1)ATBF1ノックアウトマウス、(2)ATBF1トランスジェニックマウス、(3)ATBF1ノックアウトマウスとAPPトランスジェニックマウスの交配マウス、(4)ATBF1トランスジェニックマウスとAPPトランスジェニックマウスの交配マウスを用いて明らかにする。また、これらのマウスでの脳内A $\beta$ 沈着量、老人斑形成量、認知機能テスト等を行い、ATBF1のAPP代謝及びA $\beta$ 産生への影響を*in vivo*で調べる。

大河内 :

アルツハイマー病A $\beta$ 産生に関わる $\beta$ APPの膜内蛋白分解の多様性の仕組みについて、 $\beta$ APPと同じ仕組みで分解される他の基質について検討・比較することで理解を深める。今研究の結果はアルツハイマー病A $\beta$ 42の産生の仕組みの謎に迫り、脂質などの生体成分が如何にしてそこに関わっている明らかにする。また、将来の薬剤として期待されている $\gamma$ セクレターゼ修飾薬の作用の仕組みをより明らかにすることにも繋がる

(倫理面への配慮)

動物実験、遺伝子組換え実験およびヒト由来試料を用いる実験については、研究計画申請をそれぞれの研究施設の審査機関（倫理委員会または実験動物倫理委員会等）に提出し、その内容について法令（下記を参照）に定められた基準への適合性について審査を受け、承認を得て行う。また、当該施設において扱う動物、化学物質、微生物、医薬品、およびヒト材料等が法令に遵守して適正に使用・管理されるよう規制し、実験従事者および取扱者の安全確保に関しては、積極的な指導のもとに行う。

動物実験については、国際医科学評議会（CIOMS）によって策定された「医学生物学領域の動物実験に関する国際原則」などの動物福祉の基本原則と、わが国における「動物の愛護及び管理に関する法律」、「厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知における基本指針」、「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」、「動物の処分方法に関する指針」等の遵守、また遺伝子組換え実験においては、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」、ヒト由来試料を用いる実験においては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」などの法令等を遵守して研究を行う

## C. 研究結果

プロジェクト 1) A $\beta$  分解・除去促進機構の解明ならびにその機能調節による予防・治療法開 :

主任研究者：道川 誠：(1) ApoE によって産生される HDL が A $\beta$  と結合し、A $\beta$  分解を促進させることが知られている。このことから ApoE-HDL 量の増加は予防治療になる可能性があると考え、HDL 量を増加させる化合物探索を行い、候補化合物 3 種類を同定した。(2) 一方、A $\beta$  搬出のもう一つの主要な経路として、血液脳関門(BBB)を介した排出系が知られている。興味深いことに AD 脳では BBB の機能障害（透過性の亢進）が指摘されているがその理由は不明である。また ApoE 欠損マウス脳においても BBB の透過性亢進が指摘されているが、その分子機構は不明であり、また ApoE のアイソフォーム特異性についても検討されていない。今年度、内皮細胞、周皮細胞、アストロサイトの 3 種類の培養細胞からなる BBB モデルを確立し、ApoE3, ApoE4 の違いによる BBB 形成を tight junction 形成による電気抵抗値上昇を指標として評価した。その結果、

ApoE4 型アストロサイトの供培養系では ApoE3 に比して抵抗値は低値であった。また *in vivo* における BBB 透過性をエバンスブルー法により行ったところ、ApoE4 型マウスでは BBB 透過性の亢進が認められた。以上から、ApoE4 型脳では、BBB の機能障害（脆弱性）があることが示され、これが A $\beta$  搬出低下などと関連して AD 発症を早めている可能性がある (J. Biol. Chem. 286(20): 17536-17542, 2011)。(3) 脳内に存在するがその機能は不明であったリポタンパクリパーゼが、新規の A $\beta$  結合分子であり、A $\beta$  の細胞内取り込みとその後の分解を促進することを発見した (J Biol Chem, 286: 6393-6401, 2011)。LPL の代謝調節は治療標的になり得ると考えられる。

プロジェクト 2) A $\beta$  産生機構解明と阻害剤開発ならびに診断法への応用ならびに A $\beta$  のガンマ切断のモニタリング：(1) 分担研究者：鈴木利治：アルツハイマー患者 CSF 中における p3-Alc $\alpha$  の解析を行い、 $\gamma$  切断の変化を探索した。p3-Alc $\alpha$  は、Alcadein $\alpha$  が  $\gamma$  切断を受けて分泌する非凝集性ペプチドである。3 コホートの解析を行い 2 コホートで、MCI(CDR 0.5)および AD (CRD 1)患者 CSF 中で  $\gamma$  セクレターゼのマイナー切断産物であり p3-Alc $\alpha$ 38 が増加していた。これは、PS の遺伝子変異を持たない孤発性患者においても  $\gamma$  切断が変化している事を示す成果として発表した (Ann. Neurol. [2011] 69, 1026)。また p3-Alc $\alpha$  の血中測定の方法を開発し論文発表した (Mol. Neurodegen. [2011] 6 76.)。患者でみられた  $\gamma$  切断変化の分子機構を解明する目的で、Alcadein $\alpha$  の  $\gamma$  セクレターゼによる膜内切断機構を検討した。その結果、APP と異なり、膜内の最初の  $\epsilon$  切断は  $\gamma$  切断サイトを必ずしも規定しないことが明らかになった。現在、Alcadein $\beta$  および Alcadein $\gamma$  での解析を進めている。(2) 分担研究者：大河内正康：1) 大河内は APLP1 および APLP2 の S3/ $\epsilon$  切断部位を同定した。具体的には、*in vitro*  $\gamma$ -secretase assay および cell-free  $\gamma$ -secretase assay を用いて  $\gamma$  切断を再現した。その結果、新規産生 AICD の N 末端を決定した。また、APLP1 および APLP2 でも  $\beta$ APP の  $\gamma$  切断と同様に  $\epsilon$  切断部位を同定した。それらは  $\beta$ APP の  $\epsilon$  切断と同じように複数の alternative 切断部位から成り立っていた。2) APL2 $\beta$  の定量系の確立。APL2 $\beta$  がアルツハイマー病のバイオマーカーとなる可能性を目指して、患者 CSF や血液を対象に LS/MS/MS 系を用いて APL2 $\beta$  各分子種の定量系を作成することに成功した。しかし現在の系の感度では CSF 中のペプチド測定は可能だが、血液中の APL2 $\beta$  の定量は難しく、より高感度な LC/MS/MS を用いて定量系確立の作業を進めている。3) また、脂質成分などの内因性成分が A $\beta$ 42 やそれに対応する APL1 $\beta$ 28、APL2 $\beta$ 38 の産生にどのように関わっているかの検討を開始した。12 月中には LC/MS/MS 装置に加えて GC/MS/MS 装置による解析を開始する。アルツハイマー病患者脳成分の両装置での分離・同定・定量を行い、長さの長い A $\beta$ -like peptide の産生比率の変化に関連する物質の単離を行う。(3) 分担研究者：鄭 且均：鄭は、APP の新規結合蛋白質としてホメオティック因子 ATBF1 を同定し、その発現上昇が A $\beta$  産生を増加させることを発見した。APP 代謝及び A $\beta$  産生における ATBF1 の機能を解析するため、ATBF1 遺伝子のエクソン 9 を破壊した ATBF1 ノックアウトマウスを作製した。ATBF1 ヘテロ (+/-) マウス同士を交配して ATBF1 欠損 (-/-) マウスを作成したところ、生後直後に死亡することが分かった。胎生 12.5~18 日の胎仔の形態解析により、脳および全身サイズが小さく、脳の形成不全があることが分かった。今後、胎生 12.5~18 日の ATBF1 欠損 (-/-) マウスの脳を用いて A $\beta$  量と AD 分子病態に関連する分子群の発現量解析を行なう予定である。また、ATBF1 ヘテロ (+/-) と APP トランスジェニックマウスの交配マウス作製を開始し、次年度にはこのマウスを用いて A $\beta$  量と AD の分子病態に関連する分子群の発現量解析を行なう予定である。

プロジェクト 3)：脳環境悪化とアルツハイマー病分子病態：(1) 分担研究者：脇田英明：昨年度までに、Tau-Tg マウス(5 か月齢の P301L)の右総頸動脈の結紮により 2 ヶ月間慢性的脳循環障害を加えて、新規物品認識試験により記憶機能を経時的に評価した。対照群（偽手術群）では 2 ヶ月後に記憶機能障害を発症したが、虚血負荷群では 1 か月後か

ら記憶機能障害を発症し、虚血により記憶機能障害を発症させる病態が促進する事、リン酸化タウ、とくにAT8抗体を用いたPHF タウに増加が認められる事を明らかにした。本年度は虚血負荷を加えた Tau-Tg マウスの記憶機能障害の促進に伴うリン酸化タウ増加の分子メカニズムを解析した。虚血群ではセリン 396 のリン酸化タウが増加し、非リン酸化タウは減少した。従来の報告では虚血による GSK3 $\beta$  活性化とリン酸化タウの増加が示されているが、セリン 202、396 をリン酸化する活性型 GSK3 $\beta$  の増加は認められず、GSK3 $\beta$  活性化を伴わないリン酸化タウの増加が虚血により誘導される可能性が示された。また、タウの免疫組織化学では、対照群では大脳皮質、線条体の神経細胞体が陽性となったが、虚血群ではさらに軸索にタウが検出され、細胞内局在が異なる事が明らかとなった。リン酸化タウは、対照群では神経細胞体のみが弱く染色されるのに対して、虚血群では大脳皮質の神経細胞体、軸索ともに強く染色され、さらに、核内でも検出された。酸化ストレス、熱ストレスなどによりタウが核内に移行し DNA を保護する作用も報告されていることから、虚血によりタウの核内移行が促進される保護機転が同時に働いている可能性も考えられた。(2)主任研究者：道川 誠：脳環境悪化の因子として脳血流低下、脂質代謝変動、高血圧などが脳内 AD 分子病態に及ぼす影響を解析した。脳血流低下マウス脳において、ACE (アンギオテンシン変換酵素)、IDE (インスリン分解酵素)レベルの低下、APP、ApoE レベルの増加がみられた。アストロサイトをを用いた実験から低酸素により ApoE レベルの上昇がみられた。以上から脳血流低下によって上記分子の変化がもたらされたが、その中で ApoE レベルの上昇は低酸素による変動であると考えられた(論文作成中)。また、血圧調節にレニンアンギオテンシン系は重要な役割を果たしているが、今回 ACE の過剰発現マウスの解析から、ACE 過剰発現では APP、ApoE レベルの減少がみられた。アンギオテンシン II 処理ならびにアンギオテンシン AT2 受容体アゴニスト処理でもアストロサイトにおいて同様の変化がみられた。以上から、ACE の高発現によりアンギオテンシン II 量が増加し、AT2 受容体を介して APP、ApoE レベルを上昇させた可能性が考えられた(2011 年米国神経学会で発表)。今後、上記 2 つの観測結果が、AD 病態にどのような影響を与えるかを解析する予定である。

#### D. 考察と結論

(1) ApoE4 型アストロサイトの供培養系では ApoE3 に比して抵抗値は低値であった。また in vivo における BBB 透過性をエバンスブルー法により行ったところ、ApoE4 型マウスでは BBB 透過性の亢進が認められた。以上から、ApoE4 型脳では、BBB の機能障害(脆弱性)があることが示され、これが A $\beta$  搬出低下などと関連して AD 発症を早めている可能性がある(J. Biol. Chem. 286(20): 17536-17542, 2011)。BBB 形成および機能維持には ApoE-HDL が重要と考えられることから、血液側からの HDL 供給による BBB 機能改善の有効性がでてきた。このことは脳内への薬剤開発より容易となることが期待される。(3) 脳内に存在するがその機能は不明であったリポタンパクリパーゼが、新規の A $\beta$  結合分子であり、A $\beta$  の細胞内取り込みとその後の分解を促進することを発見したが、このことは、LPL の代謝調節は治療標的になり得ると考えられる。(4) アルツハイマー患者 CSF 中における p3-Alc $\alpha$  の解析を行い、 $\gamma$  切断の変化を探索した結果、PS の遺伝子変異を持たない孤発性患者においても  $\gamma$  切断が変化している事を示す可能性が明らかになった(Ann. Neurol. [2011] 69, 1026)。また、APP と異なり、膜内の最初の  $\epsilon$  切断は  $\gamma$  切断サイトを必ずしも規定しないことが明らかになった。現在、Alc $\alpha$  および Alc $\alpha$ in $\beta$  の解析を進めている。(5) APLP1 および APLP2 の S3/ $\epsilon$  切断部位を同定した。また、新規産生 AICD の N 末端を決定した。さらに APLP1 および APLP2 でも  $\beta$ APP の  $\gamma$  切断と同様に  $\epsilon$  切断部位を同定した。それらは  $\beta$ APP の  $\epsilon$  切断と同じように複数の alternative 切断部位から成り立っていた。(6) 脂質成分などの内因性成分が A $\beta$ 42 やそれに対応する APL1 $\beta$ 28、APL2 $\beta$ 38 の産生にどのように関わっているかの検討を開始した。LC/MS/MS 装置に加えて GC/MS/MS 装置による解析により、長さの長い A $\beta$ -like peptide の産生比率の変化に関連する物質の単離を行う。(7)

ATBF1 遺伝子のエクソン 9 を破壊した ATBF1 ノックアウトマウスを作製した。ATBF1 ヘテロ (+/-) と APP トランスジェニックマウスの交配マウス作製を開始し、次年度にはこのマウスを用いて A $\beta$  量と AD の分子病態に関連する分子群の発現量解析を行なう予定である。(8) Tau-Tg マウスの右総頸動脈の結紮により 2 ヶ月間慢性的脳循環障害を加ると記憶機能障害を短期間で発症し、リン酸化タウの亢進が認められた。脳虚血による認知機能障害の 1 つのメカニズムであると考えられた。

E.健康危険情報  
なし。

## F.研究発表

### 1. 論文発表

Nishitsuji K, Hosono T, Uchimura K, Michikawa M. Lipoprotein lipase is a novel A $\beta$ -binding protein that promotes glycosaminoglycan- dependent cellular uptake of A $\beta$  in astrocytes.

**J. Biol. Chem.** 286: 6393-6401, 2011.

Nishitsuji K, Hosono T, Nakamura T, Bu G, Michikawa M. Apolipoprotein E regulates the integrity of tight junctions in an isoform-dependent manner in an in vitro blood-brain-barrier model.

**J. Biol. Chem.** 286(20): 17536-17542, 2011.

Yasuno F, Tanimukai S, Sasaki M, Hidaka S, Ikejima C, Yamashita F, Kodama C, Mizukami K, Michikawa M, Asada T. Association between cognitive function and plasma lipids of the elderly after controlling for apolipoprotein E genotype.

**Am. J. Geriatr. Psychiat.** in press

Takamura A, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Murayama S, Ihara Y, Abe K, Shoji M, Michikawa M, Matsubara E. The dissociation of A $\beta$  from lipoprotein in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease accelerates A $\beta$ 42 assembly.

**J. Neurosci. Res.** 6: 815-821, 2011

Takamura A, Okamoto Y, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Mouri A, Nabeshima T, Sun H, Abe K, Shoji M, Yanagisawa K, Michikawa M, Matsubara E.

Extracellular and intraneuronal HMW-A $\beta$  oligomers represent a molecular basis of memory loss in Alzheimer's disease model mouse. **Mol. Neurodegener.** 2011; 6: 20.

Akatsu H, Ogawa N, Kanesaka T, Hori A, Yamamoto T, Matsukawa N, Michikawa M. Higher activity of peripheral blood angiotensin-converting enzyme is associated with later-onset of Alzheimer's disease. **J. Neurol. Sci.** 2011; 300: 67-73.

Marutani T, Maeda T, Tanabe C, Zou K, Araki W, Kokame K, Michikawa M, Komano H. ER-stress-inducible Herp, facilitates the degradation of immature nicastrin.

**Biochim. Biophys. Acta.** 1810: 790-8, 2011.

Hosono-Fukao T, Ohtake-Niimi S, Nishitsuji K, Hossain M, van Kuppevelt TH, Michikawa M, Uchimura K. RB4CD12 epitope expression and heparan sulfate disaccharide composition in brain vasculature. **J. Neurosci. Res.**, 89: 1840-8, 2011.

Jung C-G, Uhm K-O, Miura Y, Hosono T, Horike H, Khanna K K, Michikawa M.

- Beta-amyloid increases the expression level of ATBF1 responsible for death in cultured cortical neurons. **Mol Neurodegener**, 6: 47, 2011.
- Hoshino, T., Murao, N., Namba, T., Takehara, M., Adachi, H., Katsuno, M., Sobue, G., Matsushima, T., **Suzuki, T.**, and Mizushima, T. (2011) Suppression of Alzheimer's disease-related phenotype by expression of heat shock protein 70 in mice. **J. Neurosci.** 31, 5225-5234.
- Hata, S., Fujishige, S., Araki, Y., Taniguchi, M., Urakami, K., Peskind E., Akatsu, H., Araseki, M., Yamamoto, K., Martins, N. R., Maeda, M., Nishimura, M., Levey, A., Chung, K. A., Montine, T., Leverenz, J., Fagan, A., Goate, A., Bateman, R., Holtzman, D. M., Yamamoto, T., Nakaya, T., Gandy, S. and **Suzuki, T.** (2011) Alternative  $\gamma$ -secretase processing of  $\beta$ -secretase substrates in common forms of mild cognitive impairment and Alzheimer disease: Evidence for  $\gamma$ -secretase dysfunction. **Annal Neurol.** 69, 1026-1031.
- Cheung, K. L., Ko, JMY, Lung H-L., Chang K-W., Stanbridge, E. J., Zabarovsky, E. R., Tokino, T., Kashima, L., **Suzuki, T.**, Kwong, D L-w., Chua, D., Tsao, S. W., Lung, M. L. (2011) Cystein-rich intestinal protein 2 (CRIP2) acts as a repressor of NFkB-mediated pro-angiogenic cytokins transcription to suppress tumorigenesis and angiogenesis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 108, 8390-8395
- Saito, Y., Akiyama, M., Araki, Y., Sumioka, A., Shiono, M., Taru, H., Nakaya, T., Yamamoto, T. and **Suzuki, T.** (2011) Intracellular trafficking of amyloid $\beta$ -protein precursor (APP) regulated by novel function of X11-like. **PLoS ONE** 6, e22108.
- Cui, H., Hung, A. C., Klaver, D. W., **Suzuki, T.**, Freeman, C., Narkowicz, C., Jacobson, G. and Small, D. H. (2011) Effects of heparin and enoxaparin on APP processing and A $\beta$  production in primary cortical neurons from Tg2576 mouse. **PLoS One** 6, e23007.
- Konnno, T., Hata, S., Hamada, Y., Horikoshi. Y., Nakaya, T., Saito, Y., Yamamoto, T., Yamamoto, T., Maeda, M., Sam Gandy., Akatsu, H., **Suzuki, T.** and J-ADNI (2011) Increased p3-Alc $\alpha$ , a peptide generated from Alcadein  $\alpha$  by  $\psi$  secretase: Quantitative analysis with a new ELISA system. **Mol. Neurodegen.** 6:76.
- Dental pulp derived CD31-/CD146- side population stem/progenitor cells enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats. Sugiyama M, Iohara K, Wakita H, Hattori H, Ueda M, Matsushita K, Nakashima M. **Tissue Engineering Part A.** 17(9-10): 1303-1311, 2011
- Watershed infarcts in a multiple microembolic model of monkey. Maki T, Wakita H, Mase M, Itagaki I, Saito N, Ono F, Adachi K, Ito H, Takahashi R, Ihara M, Tomimoto H. **Neuroscience Letters** 499(2): 80-83, 2011

## 2.学会発表

### 1) Michikawa M.



Isoform-dependent functions of apolipoprotein E and Alzheimer disease Invited speaker, the department seminar at Mayo Clinic

June 8, 2011, Jacksonville, FL, USA

2) Michikawa M.

Isoform-dependent and -independent functions of apolipoprotein E and Alzheimer disease The International Conference of Korean Society for Gerontology, July 9, 2011, Busan, Korea.

3) Michikawa M., Hosono T, Mouri A, Nishitsuji K., Nakamura T., Jung C.G., Kontani M., Tokuda H, Kawashima H, Kiso Y, Nabeshima T.

Arachidonic acid diet prevents memory impairment and brain Abeta deposition in Tg2576 mice.

Symposium: PUFA and its derivatives- brain, neuroprotective agents for senescence, ISN-ESN, Athens, Greece, Aug 30, 2011.

4) Michikawa M.

ApoE dependent and independent Abeta clearance pathways in the brain. Mount Sinai University, School of Medicine, January 6, 2012, New York, NY, USA

5) Zou K, Liu J, Watanabe A, Liu S, Tanabe C, Maeda T, Oba R, Michikawa M., Komano H. Two active domains of ACE are essential for Abeta43-converting activity. ISN-ESN, Athens, Greece, Aug 31, 2011.

6) 道川 誠

アルツハイマー病分子病態ならびに認知機能障害に対する不飽和脂肪酸経口摂取の影響 日本基礎老化学会第 34 回大会 シンポジウム「脳機能と健康食品、漢方」2011 年 6 月 17 日、東京

7) Liu JJ, Liu S, Watanabe A, Tanabe C., Maeda T, Michikawa M, Zou K, Komano H.

Abeta43-converting activity requires two active domains of ACE  
日本生化学会大会 2011 年 9 月 23 日、京都

8) 道川 誠

Isoform-dependent functions of apolipoprotein E in cholesterol transport and Alzheimer disease.  
日本生化学会大会 シンポジウム "Cholesterol in brain diseases"  
2011 年 9 月 23 日、京都

9) 星野瞳、新美しおり、細野知美、道川 誠、神奈木玲児、内村健治  
セレクチンリガンド形成に関わる硫酸転移酵素は生後マウス発達脳における 5D4 ケラタン硫酸糖鎖抗原の発現を制御する  
日本生化学会大会 2011 年 9 月 23 日、京都

10) 新美しおり、星野瞳、細野知美、道川 誠、内村健治  
アルツハイマー病モデルマウス脳に発現するコンドロイチン硫酸グリコサミノグリカンの構造解析  
日本生化学会大会 2011 年 9 月 23 日、京都

11) 道川 誠

アルツハイマー病研究の進歩—特に脂質代謝と関連して  
第 19 回東北老年期認知症研究会

平成23年11月26日 仙台

12) 新美しおり、星野瞳、細野友美、

道川誠、内村健治

アルツハイマー病モデルマウス脳に発現する細胞外マトリックスコンドロイチン硫酸糖鎖の構造解析

日本認知症学会、平成23年11月11日、東京

13) 安野史彦、谷向知、佐々木恵、日高真、池嶋千秋、山下典生、児玉千穂、水上勝義、

道川誠、朝田隆

高齢者認知機能の経時変化に及ぼす血中脂質濃度、血圧およびApoE遺伝子多型の影響 日本認知症学会、平成23年11月11日、東京

14) 山内玲奈、ゾウクン、鄭且均、

道川誠 The renin-angiotensin system modulates APP and ApoE metabolism. 日本認知症学会、平成23年11月11日、東京

15) 吉池裕二、及川尚人、道川誠、滝川修、高島明彦、柳澤勝彦

タウ関連病態に影響をおよぼす因子の解析 日本認知症学会、平成23年11月11日、東京

16) Kamogawa, K., Kohara, K., Tabara, Y., Shinohama, N., Ochi, M., Nagai, T., Takita, R., Kawano, Y., Igase, M., Miki, T., Konno, T., Hata, S., Suzuki, T. Increased levels of soluble p3-Alcadin in plasma of patients with Alzheimer's disease. American Academy of Neurology 63rd AAN Annual meeting (April 9-16, 2011, Honolulu, HI USA).

17) Yokoji, M., Morihara, T., Hayashi, N., Okochi, M., Suzuki, T., Saito, Y., Kimura, N., Takeda, M., Kazui, H., Akatsu, H., Takamura, A., Katayama, T., Ito, N., Tasumi, S., Kato, K., Yanagida, K., Kodama, T., Tagami, S., Tanaka, N., Kudo, T. Identification of a gene which controls Abeta accumulation using APP Tg mice with mixed genetic background: Splicing variant-specific effect of kinesin light chain 1 (klc1). Alzheimer's Association International Conference 2011 (July 16-21, 2011 Paris, France).

18) Saito, Y., Inoue, T., Suzuki, T. Malfunction of HCN channels in X11/X11L doubly deficient mice. Alzheimer's Association International Conference 2011 (July 16-21, 2011 Paris, France).

19) Chiba, K., Nozawa, K., Araseki, M., Kinjo, M., Taru, H., Suzuki, T. Molecular mechanism of JIP1b-mediated APP association to kinesin-1 in APP transport and metabolic regulation. Alzheimer's Association International Conference 2011 (July 16-21, 2011 Paris, France).

20) Piao, Y., Hata, S., Suzuki, T. Alcadin epsilon-cleavage followed by gamma-cleavage. Alzheimer's Association International Conference 2011 (July 16-21, 2011 Paris, France).

21) Hata, S., Urakami, K., Taniguchi, M., Akatsu, H., Gandy, S., Suzuki, T. Alternative gamma-secretase processing in sporadic Alzheimer's disease suggested by p3-Alc peptide, metabolic product of Alcadin. Alzheimer's Association International Conference 2011 (July 16-21, 2011 Paris, France).

- 22) Kimura, A., Takei, N., Hata, S., Saito, Y., Suzuki, T. APP metabolism in brain of Alcadein alpha CTF transgenic mice. Alzheimer's Association International Conference 2011 (July 16-21, 2011 Paris, France).
- 23) Fang, J., Konno, T., Horikoshi-Sakuraba, Y., Hata, S., Saito, Y., Maeda, M., Akatsu, H., Suzuki, T. Quantification of plasma p3-Alc level with sELISA systems. Alzheimer's Association International Conference 2011 (July 16-21, 2011 Paris, France).
- 24) Suzuki, T. Intracellular trafficking and metabolism of APP regulated by novel function of X11L. Alzheimer's Association International Conference 2011 "Developing Topics" (July 16-21, 2011 Paris, France).
- 25) Guivernau, B., Tajés, M., Rubio-Moscardo, F., Ramos-Fernandez E., Bosch-Morato, M., Palomer, E., Suzuki, T., Molina, H., Miscione, GP., Villa-Fereixa, J. and Munoz FJ. Nitrotyrosination of triosephosphate isomerase by amyloid-peptide induces neuronal death. Global Alzheimer's research Summit, 2011 (September 22-23, 2011 Madrid, Spain)
- 26) Suzuki, T., Hata, S. Altered processing of gamma-secretase substrates and clearance of peptide products (Abeta and p3-Alc) as a pathogenesis of sporadic Alzheimer's disease. in "Invited Symposium 2-The pathological mechanisms underlying Alzheimer's disease" Gerontology & Geriatrics 2011 (October 23-27, 2011: Melbourne Australia) Invited Speaker
- 27) 朴 認、羽田沙緒里、鈴木利治  
アルツハイマー病における  $\gamma$  セクレターゼの機能変化を反映する Alcadein 膜内の切断機構の解析  
第 16 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会 2011 年 8 月 26~27 日 大阪
- 28) 羽田沙緒里、浦上克哉、谷口美也子、池内 健、鈴木利治  
アルツハイマー病の新たな生化学的マーカー、p3-Alc の早期診断マーカーとしての可能性の検証  
第 1 回日本認知症予防学会学術集会 2011 年 9 月 9~11 日 米子
- 29) Piao Yi(朴 認)、羽田沙緒里、鈴木利治 Alcadein の  $\gamma$  セクレターゼによる膜内切断機構の解明 第 84 回 日本生化学会大会 2011 年 9 月 21~24 日 京都
- 30) 松島隆英、鈴木利治 リン酸化による APP の膜マイクロドメインへの移行制御機構の解析 第 84 回 日本生化学会大会 2011 年 9 月 21~24 日 京都
- 31) 木村彩乃、羽田沙緒里、鈴木利治 アポリポタンパク質 E による Alcadein 代謝への影響 第 84 回 日本生化学会大会 2011 年 9 月 21~24 日 京都
- 32) 千葉杏子、野澤啓輔、荒関雅彦、齋藤有紀、金城政孝、鈴木利治  
JIP-KLC1 結合による APP 輸送の効率化  
第 84 回 日本生化学会大会 2011 年 9 月 21~24 日 京都
- 33) Tohru Yamamoto, Masahiko Araseki, Takanori Kawano, Yoichi Araki, Masataka Kinjo,

Toshiharu Suzuki 第34回日本分子生物学会 2011年12月13~16日 横浜

34) 脇田英明、足立香代、丸山和佳子

E-selectin を標的としたリポソームによる細胞接着分子阻止とグリア細胞活性化の抑制  
第52回日本神経学会学術大会、名古屋、2011年5月19日

35) Adachi K, Kunimoto S, Takeda K, Ohtani T, Watanabe A, Takikawa, Maruyama W, Wakita H

Development of prophylaxis and therapy for vascular dementia by anti-E-selectin antibody using the mouse model. Asia-Pacific Interdisciplinary Research Conference 2011, Toyohashi University of Technology, Nov17-18, 2011

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

#### 1. 特許取得

欧州特許出願 No. 04799415.7 (ドイツ、イギリス、フランス、スイス)

「アルツハイマー病のマーカーペプチド」

\* 特許付与予告通知(communication under rule 71(3) EPC) 受け取り済み。

日本特許出願完了 特願 2011-082975

「アルカデインペプチド切断物による認知症又はアルツハイマー病の診断方法  
又は予後予測方法」

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし