

長寿医療研究開発費 2024年度 総括研究報告

アミロイドβ前駆体タンパク質分解促進による新規アルツハイマー型認知症治療薬剤の開発
(24-12)

主任研究者 今井剛 国立長寿医療研究センター ケミカルバイオロジー研究部長

研究要旨

抗アミロイド斑抗体は全て、失敗に終わった。考えられる理由は少なくとも二つ。

- 1 アミロイドβ前駆体タンパク質 (APP, Amyloid precursor protein) の細胞内ドメイン (AICD, app intracellular domain, APP724-770) はアミロイド斑には含まれないが家族性アルツハイマー型認知症変異が存在する (K724N, K724M, H730P)。
- 2 Lecanemab は 1.5 年かかって、アミロイド斑を約半分しか減少しないことである。

そのため、APP を短期間 (1 週間以内) に分解する低分子化合物群 (NPs, Neuroprotector) を同定した。NPs は培養細胞系にて 0.1 nM, マウス生体では 1mg/kg で数日で APP を分解した。NPs は経口投与、腹腔内・尾静脈・皮下注射可能である。アルツハイマー型認知症モデルマウスとして 5XFAD 及び humanAPP YAC マウスについて NPs を投与して、Rotarod, Open Field, Novel Object Recognition test, Morris Water Maze を行なった。それら全てで、NPs は AD モデルマウスを改善した。これらテストは前述のマウス版 Lecanemab は有意に改善しておらず。目標通り、AD 治療薬になる可能性が示唆された。

主任研究者

今井 剛 国立長寿医療研究センター ケミカルバイオロジー研究部長

分担研究者

里 直行 国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部長

篠原 充 国立長寿医療研究センター 分子基盤研究副部長

A. 研究目的

抗アミロイド斑抗体は全て、失敗に終わった。考えられる理由は少なくとも二つ。

1 アミロイド β 前駆体タンパク質 (APP, Amyloid precursor protein) の細胞内ドメイン (AICD, app intracellular domain, APP724-770) はアミロイド斑には含まれないが家族性アルツハイマー型認知症変異が存在する (K724N, K724M, H730P)。

2 Lecanemab は 1.5 年かかって (Donanemab は 1 年)、アミロイド斑を約半分しか減少しないことである。

実際、Lecanemab のマウス版 (Mab158) は 5XFAD マウスに投与した。その結果、アミロイド斑は減少したが、Open Field、Morris Water Maze は有意に治療効果がなかった (Nature Vol 593, 2021, 255)。よって、ヒト患者で失敗することは予想できたはずである。

そのため、本研究目的は APP 全体を分解し、AD モデルマウスに投与し、Open Field test・the Morris Water Maze test 等を改善する低分子化合物を同定することを目的とする。

B. 研究方法

B1. APP 分解促進化合物 (NPs) の同定 : HEK293 細胞に化合物を投与して、APP タンパク質量を測定した。化合物を培地に 0.1nM-1uM 程度段階的に投与した。将来的なマウス・ヒト投与を考えると、1nM 以下で半分以上分解しなければならない。

B2. NPs のアルツハイマー型認知症モデルマウスへの投与 : NPs をアルツハイマー型認知症モデルマウスに投与し (1 週間)、脳内の APP 及びアミロイド斑を IHC で測定する。

B3. NPs のアルツハイマー型認知症モデルマウスの治療効果 : NP 投与したアルツハイマー型認知症モデルマウスに Rotarod, Open Field, Novel Object Recognition test, Morris Water Maze test を行なった。

(倫理面への配慮)

NCGG において、ヒト患者は行なっていない。動物実験・遺伝子組換えは委員会に承認を得ている。

C. 研究結果

C1. APP 分解促進化合物 (NPs) の同定 :

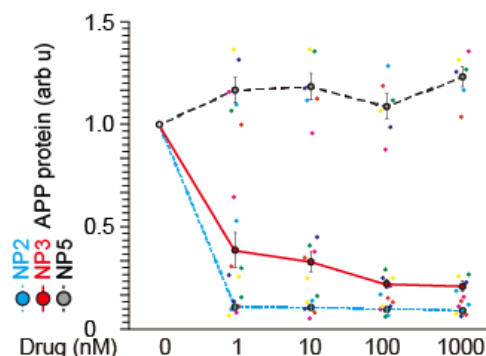


Fig 1 NP2 NP3 による APP 分解

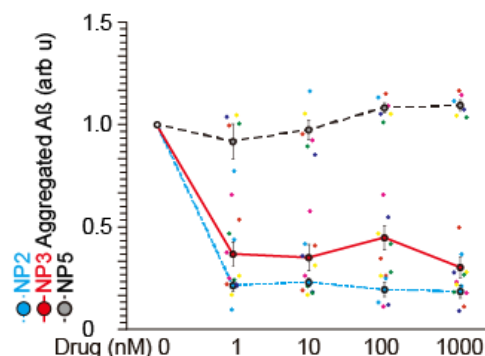


Fig 2 NP2 NP3 によるアミロイド斑減少

HEK293 細胞に化合物 (NP1-8) を投与して、APP タンパク質量を測定した。化合物を培地に 1nM-1uM 段階的に投与した。将来的なマウス・ヒト投与を考えると、1nM 以下で半分以上分解しなければならない。その結果 NP2, NP3 が同定できた。また、Fig 1 は AICD に対する抗体で検出しているため、AICD は分解している。また、Fig2 ではアミロイド斑が減少しているため、Aβ も分解していることが推測される。また、APP-N 末抗体でも同様な結果が得られている (データ示さず)。

よって、Lecanemab の欠点 1 である APP-AICD も分解できた。

また、Lecanemab の利点であるアミロイド斑の減少は継承された。

C2. NPs のアルツハイマー型認知症モデルマウスへの投与 :

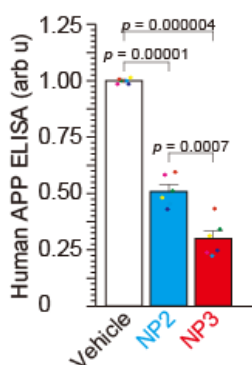


Fig 3 APP 減少 by ELISA

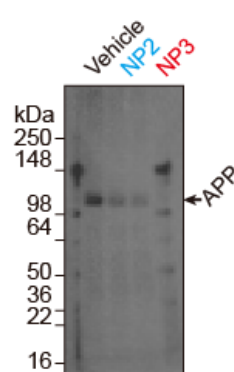


Fig 4 APP 減少 WB

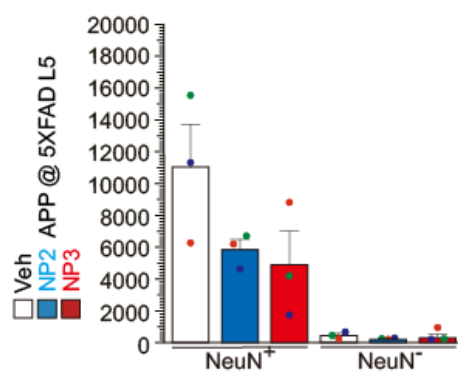


Fig 5 APP 減少@Layer5 neuron

NPs をアルツハイマー型認知症モデルマウスに投与し (1 週間)、脳内の APP を測定した。その結果 ELISA (Fig 3)、WB (Fig 4)、IHC (Fig 5)の全てで APP は分解していた。よって、Lecanemab の欠点 2 である遅効性は改善された。

C3. NPs のアルツハイマー型認知症モデルマウスの治療効果：



Fig 6 Open Field における Freeze 減少 Fig 7 Hidden platform Fig 8 No platform

NP2 投与したアルツハイマー型認知症モデルマウスに Rotarod, Open Field, Novel Object Recognition test, Morris Water Maze test を行なった。その全てで、NP2 により機能が回復した。

D. 考察と結論

※「D. 考察」、「E. 結論」としても差し支えないこと。

1 NPs>>>Lecanemab

1a) Lecanemab はアミロイド斑を 1.5 年以上かけて半分程度減らす。しかし NPs は 1 週間程度でアミロイド斑を減らした。

よって、NP は即効性である。

1b) Lecanemab と同様に NP はアミロイド斑を減らす

1c) Lecanemab は AICD には関与しない。ちなみに AICD には C31 という apoptosis を誘導する部分 peptide が含まれている。APP (AICD) から C31 を切り出すのは活性化 Caspase3 である。もちろん apoptosis 誘導因子である。実際 C31 は apoptosis を誘導するため、NP は ACID/C31 も分解する。よって Lecanemab より優れている。

E. 健康危険情報

なし

※班のすべての健康危険情報について記載すること。このため、分担項目に係る情報で

あっても分担研究報告ではなく、こちらに記載すること。該当がない場合には「なし」と記載すること。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 該当なし

※発表誌名、巻号・頁・発行年等も記載すること。

2. 学会発表

1) 該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

※予定を含めて記載すること。該当がない場合には「なし」と記載すること。