

国立長寿医療研究センター

認知症先進医療開発センター

年報

2013 年度

目 次

1. 脳機能画像診断開発部	1
2. 治療薬探索研究部	14
3. 分子基盤研究部	26
4. 先進医療データ管理室	34
5. N C ・企業連携共同研究部	39
6. アルツハイマー病研究部	46
7. アルツハイマー病分子病態・治療開発プロジェクトチーム	54
8. 創薬モデル動物開発研究プロジェクトチーム	58

脳機能画像診断開発部

(1) 構成員

部 長 伊藤 健吾

室 長

分子画像開発室 加藤 隆司

脳機能診断研究室 中村 昭範

病態画像研究室 文堂 昌彦

特任研究員 鈴木 正昭

流動研究員 山岸 未沙子

長寿医療研究開発費研究員

山田 貴史、加藤 公子

外来研究員

高橋 竜一、古山 浩子

宮地 俊、井上 進

倉坪 和泉、渡邊 夕紀子

客員研究員

外山 宏、河津 省司

前野 信久、田所 匡典

木村 裕一、旗野 健太郎

山口 博司、加知 輝彦

石井 英樹

研究生

田島 稔久、志田原 美保

田中 郁子、村田 彰宏

加藤 志保、松本 慶太

川嶋 将司、植木 美乃

野村 昌彦、藤原 謙

齊藤 千晶、橋爪 宣弥

岩田 香織、山岡 高章

池沼 宏、星野 恒文

杉田 幸、小丸 和希

研究補助員・事務補助員

荒井 洋子、山内 実幸

岡本 有紀、小栗 真由美

城山 みち子、本田 愛

澤戸 稚保美

(2) 平成 25 年度研究活動の概要

認知症、高齢者神経疾患、正常加齢を対象とする PET、MRI、MEG などの画像をベースとした脳研究を主要なミッションとし、臨床に直結した成果を目標としている。

平成 25 年 4 月 1 日付けで理化学研究所分子イメージング科学研究センターから鈴木が特任研究員として着任した。鈴木は、国際的にも著名な有機合成化学の権威であり、PET イメージングプローブの開発など長寿医療研究センターにおける基盤的研究の活性化や、内外の研究グループとの連携強化が期待されている。室長不在のため活動休止中の分子探索子開発室に関連する業務についても、鈴木からのアドバイスとともに病院薬剤部の協力も得て、部長の監督の下で、業務委託先の企業スタッフを中心にして治験薬 GMP の水準で PET 薬剤の製造が行われており、企業治験の受託に結びついている。

当研究部はアルツハイマー病の画像診断に関する多施設共同研究「J-ADNI」(2007 年～継続中)、「J-ADNI 2」(2012 年～継続中)において、PET コアとして研究活動を進めている。この他にも、複数の臨床研究を実施ないし計画中である。また、これらの臨床研究の実績をベースに認知症の臨床研究・治験のネットワークを構築して病院と共同で実運用によるネットワーク機能の充実と規模拡大を進めている。

分子画像開発室：加藤隆司、藤原 謙、深谷直彦、山田貴史、前野信久

PiB アミロイド PET の数値的評価法の開発、FDG PET の機種間差の補正法の検討 地域介入研究における脳糖代謝 PET の評価、MIBG 心筋シンチの検討

PiB PET 検査の実施とそのデータ解析を通じて、MULNIAD (Multimodal Neuro-imaging for AD Diagnosis)、脳血管障害性認知症、正常圧水頭症、バイオマーカー研究の支援を行った。J-ADNI PET コアとして活動するとともに、脳 PET 画像の施設間格差を補正する検討を行った。また、自立支援システム開発研究部との共同研究で、登録時および介入後の脳糖代謝変化に関する検討を行った。さらに、放射線診療部と共同して、MIBG 心筋シンチに関する方法論上の検討を行った。

1. PiB アミロイド PET の数値的評価法の開発と評価。

アミロイドイメージングにおいて、アミロイド薬剤の集積の指標として、皮質平均 SUVR (mcSUVR, mean cortical standard uptake value ratio)がよく用いられる。公開されている Brain Atlas に用いて関心領域を設定し mcSUVR 値を得る方法を開発し、その診断成績等を単施設(長寿医療研究センター)および多施設(J-ADNI)のデータセットを用いて検討した。視覚判定に対応するカットオフ値と診断成績(AUC)は、単施設(1.26、AUC 1.00)、J-ADNI(1.23、AUC 0.983)と高い診断成績を示した。データセットをかえてもそのカットオフ値はほぼ一致した。また、本法の mcSUVR 値は、J-ADNI PET コアから提供される皮質平均 SUVR 値と高い相関性を示した。本方法による PiB PET の

mcSUVR 値は、安定的なカットオフ値を示し、かつ良好な陽性/陰性の判定成績を示した。アミロイド集積の数値指標として、利用可能であると考えられた。

本法によって得た mcSUVR および関心領域値を、PiB を用いる各臨床研究に提供した。

2. 脳糖代謝 PET の施設間格差の補正

ホフマンファントムの撮像から得た FDG PET 画像を基に、施設間の画像を変換するパラメータを求めた。これを各施設の画像に適用して補正を試みたところ、補正前と比較し、補正後では異なる機種間の差が軽減された。

3. 運動介入前後での安静時脳糖代謝変動の検討

白質病変と加齢、認知・運動機能と地域の軽度認知障害の被検者を対象として、運動介入が安静時脳活動に及ぼす効果を、脳糖代謝 PET を用いて検討した。本研究の MCI では、脳糖代謝が、アルツハイマー病/レヴィ小体型認知症型を示した割合は、8.6%と非常に低かった。アルツハイマー病の有病率が低いことが推測された。非進行型の糖代謝変化を示した MCI に限定して、介入の前後で脳糖代謝の変化を検討したところ、統計学的に有意な変化として検出されたのは、運動群における鉤回(紡錘状回)の増加だけだった。運動介入は、安静時の局所脳活動を賦活させる効果が期待される。

脳機能診断研究室：中村昭範、山岸未沙子、加藤公子、岩田香織、倉坪和泉
Alzheimer 病に伴う大脳皮質興奮性の変化と局所アミロイド蓄積との関連の検討

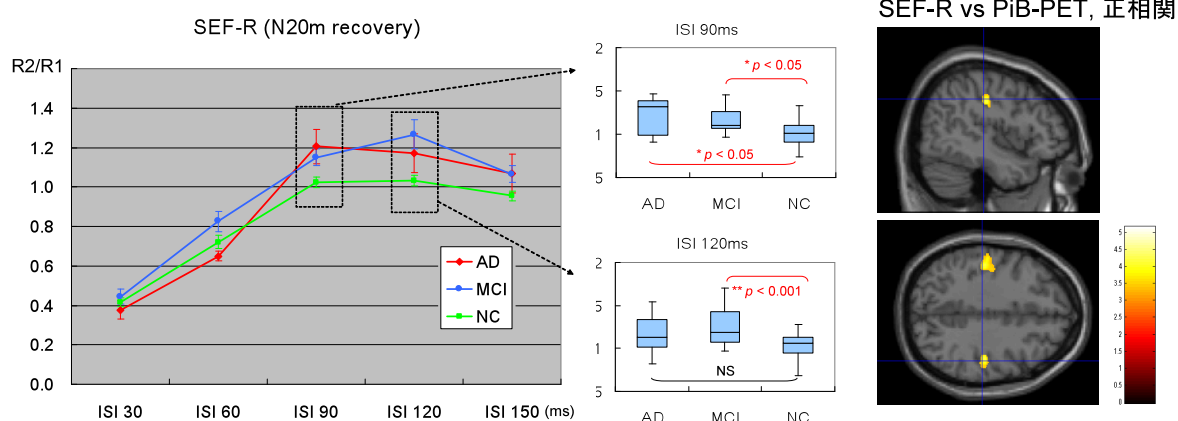
【目的】Alzheimer 病(AD)でてんかん発作や脳波異常の頻度が高いことは古くから知られていたが[1]、近年、マウスモデルでもてんかんが誘発され、amyloid plaque 近傍で神経細胞の興奮性が高まっているとの報告[2]が行われたことにより更に注目が高まっている。本研究は、PiB-PETによるamyloid imagingと、MEGを用いた体性感覚誘発反応の回復曲線(SEF-R)による皮質興奮性の評価を組み合わせ、ADに伴うamyloid 病理と局所の機能変化との関連を明らかにすることを目的とした。

【方法】対象は、PiB-PETにより amyloid 蓄積が陽性と判定された AD7 名、MCI 6 名、健常高齢者(NC+) 7 名、及び、陰性判定の健常高齢者(NC-) 26 名。SEF-R は、右正中神経に刺激間隔(ISI)の短い 2 連発電気刺激を与え、ISI を 30, 60, 90, 120, 150 ms の 5 段階でランダムに変化させながら体性感覚誘発脳磁場反応を測定。1 発目の刺激に対する反応(R1)と、2 発目に対する反応(R2)の振幅比(R2/R1)を求めて評価した。

【結果】SEF-R は、NC 群では ISI が 90 及び 120 ms の時 R2/R1 が約 1 になるような回復曲線が得られたが、AD 及び MCI 群ではこの値が NC 群よりも有意に大きく、一次体性感覚野の興奮性が増大していることが示された(下図、左)。なお、NC+ と NC- の両群には有意な差を認めなかった。この R2/R1 値を covariate に、PiB-PET SUVR 画像との回帰分析を行ったところ、両側の一次運動感覚野の PiB 集積度は、R2/R1 値(SEF-R で評価した皮質興奮性)と有意な正の相関があることが示された(下図、右)。【結語】今回の結果は局所のアミロイド蓄積がその部位の皮質の電氣的興奮性を高めることを示すもので、AD の治療モニタリングの候補のひとつと期待されるだけでなく、AD の病態生理を把握する上でも重要な知見であると考えられた。

【参考文献】

1. Hauser WA, et al. **Neurology**. 36: 1226-1230, 1986.
2. Busche MA, et al. **Science**. 321:1686-9, 2008.



非変性性認知症(特発性正常圧水頭症および脳血管性認知症)と、アルツハイマー病など変性性認知症との鑑別診断および co-morbidity に関する研究

特発性正常圧水頭症(iNPH)は、65 歳以上高齢者の 1.1%に及ぶ可能性があると言われており、高齢化が進む今日、アルツハイマー病(AD)と同様に重要な疾患である。しかし、依然として iNPH と AD との鑑別診断法は確立されていない上に、iNPH と AD の合併症例も存在し、これら疾患群間の境界線は未だ混沌としている。本研究は、特発性正常圧水頭症診療ガイドラインに定められた possible iNPH の診断基準を満たす症例群を、アミロイド PET (^{11}C -PiB PET)における β アミロイド沈着の有無により分類し、①iNPH、②iNPH と AD 合併、③AD 各群の病態学的特性を詳細に比較検討し、両疾患群の鑑別診断および合併症例の様態(co-morbidity)を解明することを目的とする。

^{11}C -PiB PET を possible iNPH73 症例に対し行ったところ 33 例(45.2%)という高率でアミロイドの異常蓄積を意味する集積亢進が確認された。その内、ガイドライン診断基準における probable iNPH の条件に当てはまる 45 症例中を PiB 陽性群(22 例)と陰性群(23 例)に分類し臨床症状、髄液所見、脳血流シンチなどの結果を比較した。iNPH 症例において、髄液バイオマーカーでは、PiB 陽性群においてアミロイド蓄積に逆相関し $\text{A}\beta 42$ 濃度の低下が認められたが、リン酸化タウ濃度は PiB 陽性群、陰性群ともに正常あるいは低下していた。臨床症状に関しては、重症度スケール(Japan iNPH grading scale)、歩行機能(3m起立歩行、20m平地歩行)、認知機能(Alzheimer Disease

Assessment scale、Trail making test、レーブン色彩マトリックス検査など)において PiB 陽性 iNPH 群が有意に重症であった。両群における重症度の差は認知障害よりも歩行障害において顕著であった。脳血流シンチでは PiB 陽性群において後部帯状回、楔前部、頭頂側頭連合野において局所脳血流の低下が認められた。同時期に物忘れ外来を受診した AD230 症例との比較では、ADAS、RCPM では PiB 陰性 iNPH 群と AD との間で有意差が認められたが、PiB 陽性 iNPH 群と AD 群の間では有意差が認められなかった。

これらの結果から、probable iNPH ではアミロイド蓄積は半数近くにおいて認められるが、髄液タウの増加が認められず、認知障害への影響が比較的軽度であることから、iNPH に合併する AD には、病期として preclinical stage あるいは mild cognitive impairment の段階にあるものが多く含まれると考えられた。しかし、そのような stage の AD であっても合併することによって iNPH の臨床症状は重症化する。さらに、アミロイド蓄積が歩行障害の悪化をもたらすことは AD では末期に起こる歩行への影響が、iNPH との合併では早期からみられることを意味しており、iNPH の臨床像に対するアミロイド蓄積はその病像の本体を構成する実質障害の要因であることが示唆された。

研究業績(脳機能画像診断開発部)

I. 論文発表

1. 原著

Suzuki T, Shimada H, Makizako H, Doi T, Yoshida D, Ito K, Shimokata H, Washimi Y, Endo H, Kato T:

A randomized controlled trial of multicomponent exercise in older adults with mild cognitive impairment.

PLoS One. 2013 Apr 9;8(4):e61483.

Yamane T, Ikari Y, Nishio T, Ishii K, Ishii K, Kato T, Ito K, D.H.S. Silverman, Senda M, Asada T, Arai H, Sugishita M, Iwatsubo T, and the J-ADNI Study Group:

Visual-statistical interpretation of 18F-FDG-PET images for characteristic Alzheimer patterns in a multicenter study: inter-rater concordance and relationship to automated quantitative evaluation.

AJNR Am J Neuroradiol. 2014 Feb; 35(2):244-9.

Ito K, Mori E, Fukuyama H, Ishii K, Washimi Y, Asada T, Mori S, Meguro K, Kitamura S, Hanyu H, Nakano S, Matsuda H, Kuwabara Y, Hashikawa K, Momose T, Uchida Y, Hatazawa J, Minoshima S, Kosaka K, Yamada T, Yonekura Y; J-COSMIC Study Group. Prediction of outcomes in MCI with 123I-IMP-CBF SPECT: a multicenter prospective cohort study.

Ann Nucl Med. 2013 Dec; 27(10):898-906.

Ota K, Oishi N, Ito K, Fukuyama H; the SEAD-J Study Group.

A comparison of three brain atlases for MCI prediction.

J Neurosci Methods. 2014 Jan 15; 221:139-50.

Takahashi R, Ishii K, Senda M, Ito K, Ishii K, Kato T, Makishi Y, Nishio T, Ikari Y, Iwatsubo T; Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative.

Equal sensitivity of early and late scans after injection of FDG for the detection of Alzheimer pattern: an analysis of 3D PET data from J-ADNI, a multi-center study.

Ann Nucl Med. 2013 Jun; 27(5):452-9.

Hakamata Y, Iwase M, Kato T, Senda K, Inada T,

The neural correlates of mindful awareness: a possible buffering effect on anxiety-related reduction in subgenual anterior cingulate cortex activity.

PLoS One. 2013 Oct 9; 8(10):e75526.

Nakamura A, Maess B, Knoesche T, Friederici A.

Different Hemispheric Roles in Recognition of Happy Expressions.

PLoS One. 9(2):e88628, 2014.

久保千穂, 山岸未沙子, 阿山みよし, 山羽和夫.
LED照明と蛍光灯下での色文字の可読性.
照明学会誌, 2013 March. Vol.97, No.5, pp.255-262.

2. 総説

加藤隆司, 新畑 豊, 伊藤健吾:
特集「FDG-PET のがん診療以外への応用」脳疾患への応用(認知症).
映像情報 Medical, 45(5); 393-398, 2013

伊藤健吾, 加藤隆司:
形態 MRI, 脳血流 SPECT および糖代謝 FDG-PET アルツハイマー病診断のバイオマーカー; 最近の進歩.
老年精神医学雑誌, 24:155-162, 2013

伊藤健吾, 加藤隆司, 文堂昌彦, 中村昭範:
アルツハイマー病診断の画像診断, 基礎講座: 老年精神医学と Brain Imaging.
老年精神医学雑誌, 24:707-714, 2013

伊藤健吾, 岩坪 威:
ADNI と J-ADNI における PET 関連研究の概要と進捗.
JSMI Report, 6(2): 3-7, 2013

伊藤健吾:
アルツハイマー病根本治療薬の開発とアミロイド PET.
PET ジャーナル Spring(21):3, 2013

伊藤健吾:
特集にあたって, アルツハイマー病の画像診断.
Pharma Medica, 32:7, 2014

3. 著書, Chapters

河津省司:
第I編 現象の数理 数理医学 臨床医用画像診断における形態・機能断層画像
日本応用数理学会(監修)薩摩順吉・大石進一・杉原正顕(編集).
応用数理ハンドブック, 朝倉書店, 東京, 2013, pp153

4. その他 該当なし

5. 新聞・報道等

伊藤健吾

認知症を知る 20 早期発見めざし進化する画像診断.
ロハス・メディカル 2014年1月号

中村昭範

認知症を知る 19 笑顔で介護を！ にこにこリハ.
ロハス・メディカル 2013年12月号

6. 特許申請、取得状況
該当なし

Ⅱ. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

伊藤健吾

シンポジウム1多施設共同研究の現状「認知症に関する多施設共同研究の現状」.
第 29 回 BFIC, 2013 年 9 月 7 日, 神戸.

加藤隆司

J-ADNI における PET データの評価, シンポジウム 2「J-ADNI2013」.
第 32 回認知症学会学術集会 2013 年 11 月 8-10(8)日, 長野県松本文化会館(キッセイ文化ホール), 長野県松本市.

Nakamura A.

Possible Functional Biomarkers for Alzheimer's Disease - Evaluations by Multimodal Neuroimaging.
International Society for the Advancement of Clinical Magnetoencephalography.
(ISACM) meeting 2013, August 28, 2013, Sapporo.

伊藤健吾

SEAD-Japan と J-ADNI の進捗.
日本脳神経核医学研究会脳PETワークショップ, 2013 年 4 月 11 日(金), 横浜.

伊藤健吾

もの忘れセンターにおける画像診断の実践と最新情報.
第 2 回沖縄認知症ネットワーク研究会, 2013 年 5 月 11 日, 那覇.

伊藤健吾

研修医セミナー 期待が集まる脳 PETー認知症への応用ー.
第 49 回日本医学放射線学会秋季臨床大会、2013 年 10 月 14 日、名古屋.

加藤隆司

アミロイド・イメージング -そのインパクトと最近の状況- パネルディスカッション I:ここが知り

たい認知症の画像診断.

第 49 回日本医学放射線学会秋季臨床大会, 2013 年 10 月 12-14(13)日, 名古屋国際会議場, 名古屋市.

伊藤健吾

技師教育講演3 核医学のエビデンス構築のためにやるべきこと.

第 33 回日本核医学技術学会総会学術学会, 2013 年 11 月 9 日, 福岡.

伊藤健吾

もの忘れセンターにおける画像診断の現状と今後の展望.

知多地域認知症作業部会, 2013 年 11 月 16 日, 東浦.

伊藤健吾

認知症における核医学診断の役割.

日本放射性医薬品協会講演会, 2014 年 1 月 17 日, 東京.

伊藤健吾

認知症に関する多施設共同画像研究の現状と今後の展望.

第 171 回日本核医学技術学会東海地方会, 2014 年 1 月 18 日, 名古屋.

伊藤健吾

長寿医療研究センターにおける脳核医学検査の臨床と研究.

第1回 東北認知症画像診断研究会, 2014 年 3 月 1 日, 仙台市.

文堂昌彦

特別講演「iNPH 疑い患者における β アミロイド蓄積」.

第 8 回関西 iNPH セミナー'13, 2013 年 5 月 24 日, 京都.

文堂昌彦

特別講演「特発性正常圧水頭症と β アミロイド」.

京都髄液フォーラム 2013, 2013 年 8 月 4 日, 京都.

文堂昌彦

iNPH 診療におけるアルツハイマー病の考え方.

第 72 回日本脳神経外科学会学術総会ランチョンセミナー, 2013 年 10 月 18 日, 横浜.

2. 国際学会発表

Yamaguchi H, Kuroda Y, Yamada T, Ikenuma H, Abe J, Ito K, Takahashi K :

“Study on derivatives of benperidol as imaging tracer for dopamine D3 receptor” .

The 20th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (ISRS), May 12-17, 2013, Jeju, Korea.

Fujiwara K, Kato T, Ito K Senda M, Ishii K, Ishii K, Iwatsubo T, Japanese Alzheimer's

Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI)

Correction of scanner differences in multi-center J-ADNI and US-ADNI PET studies.
Alzheimer's Association International Conference 2013, July 14, 2013, Boston,
Massachusetts, United States.

Matsumoto K, Sugiyama T, Saito C, Kato S, Kuriyama K, Kanemoto K, Nakamura A.
Behavioral Study On Perception of Emotional Speech in Individuals with Autism
Spectrum Disorders.

2013 International Meeting for Autism Research (IMFAR 2013) , May 2-4, 2013, San
Sebastian, Spain.

Kato T, Fujiwara K, Okamura N, Ito K, Ishii K, Ishii K, Kuwano R, Senda M, Iwatsubo
T, J-ADNI study group

Image interpretation **method** of [C-11] BF-227 amyloid PET in J-ADNI:

Alzheimer's Association International Conference 2013, July 13-18(15) , 2013, Boston,
Massachusetts, United States.

Ishii K, Ryuichi T, Matsuda H, Senda M, Ito K, Ishii K, Kato T, Kuwano R, Sugishita M,
Iwatsubo T.

Effects of APOE-ε4 on regional cerebral amyloid deposition and gray matter atrophy in
mild cognitive impairment with PiB-PET-confirmed amyloid pathology: Results from
J-ADNI.

Alzheimer's Association International Conference 2013, July 13-18, 2013, Boston,
Massachusetts, United States.

Nihashi T, Terasawa T, Mishima A, Ando Y, Kawai H, Kato T, Ito K.

Imaging and cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers for differentiating dementia with Lewy
bodies (DLB) from Alzheimer's disease (AD): A meta-analysis of test performance.

Alzheimer's Association International Conference 2013, July 13-18, 2013, Boston ,
Massachusetts, United States.

Kato T.

Dementia imaging: A new trend toward amyloid imaging for diagnosis of dementia.

The 12th Annual General Meeting of Asian Regional Cooperative Council for Nuclear
Medicine (ARCCNM), Dec. 12, 2013, Mumbai.

3. 国内学会発表

齊藤千晶、中村昭範、松本慶太、小長谷陽子

認知症高齢者との心の通ったコミュニケーションの実現に向けて -音声認知に焦点を当てた
新たな取り組み-

第 14 回日本認知症ケア学会大会, 2013 年 6 月 1 日, 福岡.

山下英美、中村昭範、齊藤千晶、岩元裕子、上野菜穂、小長谷陽子

「にこにこリハ」「いきいきリハビリ」の普及を目的とした研修会とその評価 -研修会後のアンケート結果をとおして-

第 14 回日本認知症ケア学会大会, 2013 年 6 月 1 日, 福岡.

山岸未沙子、加藤隆司、倉坪和泉、岩田香織、加藤公子、新畑豊、伊藤健吾、MLNIAD study group、中村昭範

Alzheimer 病および軽度認知障害における「顔」記憶機能の評価.

日本認知心理学会第 11 会大会, 2013 年 6 月 29 日, 茨城.

加藤公子、木村ゆみ、吉崎一人

認知的負荷が高齢者の注意制御に与える影響.

日本認知心理学会第 11 会大会, 2013 年 6 月 30 日, 茨城.

加藤公子、木村ゆみ、吉崎一人

共行為者の課題は表象されているのか(1) 一事象関連電位による検討一.

日本心理学会第 77 会大会, 2013 年 9 月 19 日, 北海道.

木村ゆみ、加藤公子、吉崎一人

共行為者の課題は表象されているのか(2) 一事象関連電位による検討一.

日本心理学会第 77 会大会, 2013 年 9 月 19 日, 北海道.

倉坪和泉、加藤隆司、加藤公子、山岸未沙子、伊藤健吾、中村昭範

高齢者における認知機能と年齢,教育年数との関係.

第 37 回日本神経心理学会総会, 2013 年 9 月 12 日, 札幌市.

山岸未沙子

高齢者のための照明条件に関する色温度の影響.

平成 25 年度色彩学会東海支部第 2 回研究会, 2013 年 10 月 5 日, 名古屋.

文堂昌彦、加藤隆司、中村昭範、澤戸稚保美、岩田香織、中坪大輔、伊藤健吾
特発性正常圧水頭症における β アミロイド蓄積と臨床症状.

第 72 回日本脳神経外科学会学術総会, 2013 年 10 月 18 日, 横浜.

文堂昌彦、加藤隆司、中村昭範、澤戸稚保美、岩田香織、中坪大輔、伊藤健吾
 β アミロイドが蓄積した特発性正常圧水頭症とアルツハイマー病の比較.

第 32 回日本認知症学会学術集会, 2013 年 11 月 8 日, 松本.

倉坪和泉、加藤隆司、加藤公子、山岸未沙子、岩田香織、新畑豊、伊藤健吾、中村昭範

高齢者認知機能と年齢, 教育年数との関係: その変動病態の検討.

第 32 回日本認知症学会学術集会, 2013 年 11 月 8 日-10 日, 松本.

加藤公子、加藤隆司、山岸未沙子、倉坪和泉、岩田香織、新畑豊、伊藤健吾、中村昭範、
MULNIAD study group

視空間ワーキングメモリ課題による前臨床期のアルツハイマー病検出の可能性.
第 32 回日本認知症学会学術集会, 2013 年 11 月 9 日, 松本.

山岸未沙子、中村昭範、加藤隆司、加藤公子、倉坪和泉、岩田香織、新畑豊、伊藤健吾、MULNIAD study group

「顔」記憶検査を用いた Alzheimer 病に伴う記憶機能変化の検討.

第 32 回日本認知症学会学術集会, 2013 年 11 月 9 日, 松本.

加藤隆司、中村昭範、岩田香織、藤原 謙、福田耕嗣、武田章敬、遠藤英俊、新畑 豊、伊藤健吾、MULNIAD study group

アミロイドの初期蓄積段階の判定に有用な PiB-PET の SUVR カットオフ値の検討.

第 32 回日本認知症学会学術集会, 2013 年 11 月 8-10(8)日, 松本.

中村昭範、加藤隆司、山岸未沙子、岩田香織、文堂昌彦、服部英幸、桜井孝、新畑豊、伊藤健吾、MULNIAD study group

Alzheimer 病に伴う大脳皮質興奮性の変化: 脳磁図による検討.

第 32 回日本認知症学会学術集会, 2013 年 11 月 9 日, 松本.

岩田香織、中村昭範、加藤隆司、Diers Kersten、加藤公子、山岸未沙子、倉坪和泉、新畑豊、伊藤健吾、MULNIAD study group

安静時 fMRI による脳内の機能的連結の評価 — 開眼と閉眼のどちらがよい? —.

第 32 回日本認知症学会学術集会, 2013 年 11 月 9 日, 松本.

文堂昌彦、加藤隆司、桜井 孝、澤戸稚穂美、中坪大輔、伊藤健吾

iNPH 症例の A β 蓄積が認知機能障害に及ぼす影響.

大阪大学コンベンションセンター, 2014 年 2 月 1 日, 吹田市.

4. その他、セミナー等

伊藤健吾

基礎・安全管理②「PET 検査の臨床使用ガイドライン」.

第 13 回日本核医学会春季大会 PET 研修セミナー, 2013 年 4 月 27 日, 東京.

伊藤健吾

核医学指導者コース「PET 検査の臨床使用ガイドライン」.

第 13 回日本核医学会春季大会核医学専門医教育セミナー, 2013 年 4 月 28 日, 東京.

中村昭範

にこにこりハの背景: 「心の通った」介護・看護実現のために.

「にこにこりハ」・「いきいきりハビリ」研修会, 2013 年 8 月 30, 31 日, ウィンク愛知 名古屋市.

伊藤健吾

認知症の診療における核医学診断の有用性と今後の展望.

藤田保健衛生大学放射線医学教室第 26 回同窓会, 2014 年 1 月 11 日, 名古屋.

伊藤健吾

もの忘れセンターにおける画像診断の実践と今後の展望.

愛知医科大学病院 平成 25 年度放射線安全管理講習会, 2014 年 2 月 26 日, 長久手市.

中村昭範

認知症の方を支える「心の通った」介護の実現を目指して.

平成25年度 知多北部広域連合介護支援専門員・サービス事業所合同研修会, 2014年2月3日, 東海市.

中村昭範、小長谷陽子、齊藤千晶、山下英美、長屋政博、松本慶太

非言語性コミュニケーションシグナルを用いた認知症高齢者介護とリハビリに関する研究

「にこにこリハ」の普及への取り組み、および健常高齢者・認知症高齢者の音声認知の特徴.

認知症介護研究・研修大府センター研究報告会, 2013 年 7 月 4 日, 名古屋.

加藤隆司

いきいきセミナー: 認知症(中日健康フェア).

2013 年 9 月 7 日, 名古屋医専, 名古屋市.

加藤隆司

いきいきセミナー: 認知症(中日健康フェア).

2013 年 9 月 8 日, 名古屋医専, 名古屋市.

Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

加藤隆司, (分担) 100万円

認知症対策総合研究事業.

アミロイドイメージングを用いたアルツハイマー病発症リスク予測法の実用化に関する多施設臨床研究.

伊藤健吾, (分担) 200万円

長寿科学総合研究事業.

介護予防プログラム開発に関する研究.

伊藤健吾, (分担) 代表一括計上

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業.

院内製造PET薬剤の合成装置を用いた核医学診断技術の臨床応用に関するレギュラトリーサイエンスの研究

伊藤健吾, (分担) 代表一括計上

認知症対策総合研究事業.

J-ADNI2プレクリニカルAD研究.

中村昭範, (分担) 140万円

老人保健健康増進等事業.

非言語性コミュニケーションシグナルを用いた認知症高齢者の介護とリハビリに関する研究.

2. 文部科学省

中村昭範, (代表) 80万円 (総額130万円)

科学研究費補助金. (基盤C)

脳磁図とアミロイドPETによる、アルツハイマー病発症前の機能的診断マーカーの探索.

加藤隆司, (分担) 10万円

科学研究費補助金. (基盤C)

脳磁図とアミロイドPETによる、アルツハイマー病発症前の機能的診断マーカーの探索.

文堂昌彦, (分担) 39万円

科学研究費補助金. (挑戦的萌芽研究)

髄液中N結合型糖鎖構造の網羅的解析技術の開発.

鈴木正昭, (代表) 870万円 (総額1,365万円)

科学研究費補助金. (基盤A)

神経保護活性漢方成分のPET分子プローブ化.

伊藤健吾, (分担) 代表一括計上

科学研究費補助金. (基盤C)

認知症に対する画像診断の有用性に関するシステマティックレビュー.

3. 財団、その他

伊藤健吾, (代表) 150.7万円

共同研究. (バイオテクノロジー開発技術研究組合)

J-ADNI2臨床研究/PETコア活動および画像技術開発研究.

中村昭範, (代表) 317万円

受託研究. (環境省、日本エヌ・ユー・エス(株))

水俣病に関する総合的研究委託.

業務高齢者の皮膚感覚機能の客観的評価法の開発.

治療薬探索研究部

(1) 構成員

部長 柳澤勝彦(併任)

室長

リード分子探索研究室 滝川 修
(併任)

医薬化合物開発室 河合昭好
長寿医療研究開発費研究員

吉見立也

山崎泰豊

及川尚人

流動研究員

岡田 健

研究技術員

高橋康一

研究補助者

石垣奈美

山岸まゆみ

川西麻未

(2) 平成 25 年度研究活動の概要

本研究部は、アルツハイマー病の発症病態生理の理解の上に、その進行を阻止する治療薬(先制治療薬)の開発を目指している。また、アルツハイマー病の脳内変化を早期に、高精度で検出する診断法の開発をも目指している。平成 25 年度の研究活動の概要は以下のとおりである。

医薬化合物開発室(室長 河合昭好)においては、平成 24 年度に引き続き、創薬化学の研究体制の整備を図り、アルツハイマー病発症の物質的基盤であるアミロイド β 蛋白ならびにタウ蛋白を標的とする治療薬開発に着手した。特にアミロイド β 蛋白を標的とする薬剤開発に関しては、国立長寿医療研究センター独自のシーズをもとに、低分子化合物探索系の構築ならびに評価、それらにより得られたヒット化合物の安全性評価、薬物動態試験等を実施した。リード分子探索研究室(室長 滝川 修)においては、老人斑とならんでアルツハイマー病の重要な神経病理学的所見である神経原線維変化の可視化を行うべく研究活動を展開した。特に、神経原線維内でその構成要素であるタウ蛋白が示す特異な重合状態を選択的に捕捉する低分子化合物の開発をめざし、ヒト脳を対象とした独自の解析系を構築し、化合物ライブラリーを対象に精力的に探索研究を推進した。

タウ凝集体 PET プローブ開発に関する研究

高齢化が急速に進む我が国では認知症患者が急増している。現在約 460 万人の認知症患者がおり、その 60% 近くを占めるのがアルツハイマー病(AD)である(平成 24 年度厚生労働省)。AD 患者には介護費用も含めて約 1 兆円の巨額の医療費が投じられている。従って、その治療法の開発が喫緊の重要課題となっており、特に、根本治療薬の開発が強く求められている。これまで「アミロイド仮説」に基づき神経変性の原因物質とされるアミロイド β ペプチド($A\beta$) の産生を抑制する β -及び γ -セクレターゼ阻害剤や神経毒性の本体とされる $A\beta$ オリゴマー形成阻害剤の開発が進められてきたが、臨床試験で有効性を示す薬剤は未だに得られていない。また、 $A\beta$ の凝集体である老人斑の蓄積と認知症状とが必ずしも相関しないケースも PET イメージングから数多く報告されており、近年、神経細胞死に直結するとされるタウ凝集体を分子イメージする PET プローブの開発が待たれている。

そこで当研究室は、タウ凝集体をイメージングする PET プローブの開発研究を平成 23 年度から進めている(長寿医療研究開発費研究: 課題番号 23-37)。本年度はイメージング質量分析装置(質量顕微鏡)で検出する独創的なスクリーニングシステムを完成した。

このシステムは、次の①から④の装置群から成る。①ロボットアームが低温空気相内で、スクリーニングに使用する脳小切片^注

¹付き小チップを搬送し、設計・製造した特殊 96 ウェル化合物プレート内に設置する。本プレートの上蓋は 3D プリンターで作製した。②この小チップ入りの化合物プレートに創薬目的の低分子化合物^{注2}を Beckman ラボラトリーオートメーションシステムで添加する。上記化合物は③化合物保管庫にて 2D バーコードを用いて保管される。化合物を添加・洗浄された小チップは再びロボットアームにて特殊ターゲットプレート上に搬送され、③特殊なナノ微粒子を使用する nano-PALDI 法を用いたイメージング質量分析装置^{注3}にて化合物とタウ蛋白質の局在・親和性の評価を行う。

本年度末までに、3090 化合物のイオン解析を行い、イオン化に適した化合物を 780 種選択した。そのうち 200 種の化合物についてイメージング質量分析装置による一次イメージスクリーニングを行い、タウが蓄積した脳小切片に高親和性を示す化合物を 1 種、中程度親和性を示す化合物を 6 種、低親和性を示す化合物を 7 種選択した。平成 27 年度に高精度な 2 次イメージスクリーニングに進み 2~3 の候補化合物に絞ったのち、構造最適化を経てタウ凝集体 PET リード化合物を得る予定である。

注1: 東京都健康長寿医療センターのブレインバンクより供与

注2: 東京大学創薬オープンイノベーションセンターにて集積された 20 万種の化合物のうちコア化合物

注3: 田中 ms3d プロジェクトの一環として島津製作所より貸与

トリプトファン代謝酵素IDOおよびTDO阻害剤の開発

AD脳ではトリプトファン代謝異常が生じており、その代謝産物である神経毒キノリン酸や3OHキヌレニンが蓄積し、神経変性に関与している可能性が高い。従って、キノリン酸産生の律速酵素であるIDOおよびTDO阻害剤はADの治療薬となることが期待されることから、当研究室では両酵素に対する阻害剤の開発を行っている。本年度はヒトIDOおよびTDOの遺伝子組換え体の精製条件の再検討を行い、さらに高純度の酵素標品を得た。これを用いてトリプトファン代謝反応の律速段階、及び反応速度について検討した結果、ヒトTDOは3量体以上のオリゴマー構造を有するアロステリック酵素であることが示唆された。今後、この高純度酵素標品を使用して化合物ライブラリーをスクリーニングしリード化合物を取得する計画である。

医薬化合物開発室:河合 昭好

医薬化合物開発研究室長の河合は平成 24 年度末に完成した合成実験用の創薬化学室の本格運用を開始した。安全衛生に気を配りつつ、実験の量・質共に高いレベルでの運用を心がけ、プロジェクトを推し進める原動力となった。携わったプロジェクトとしては以下に述べるアミロイドの種を標的とするプロジェクトと、タウ凝集を標的とするプロジェクトである。

アミロイドの“種”を標的とする治療薬の開発:

A β あるいはアミロイドを標的とした AD の根本的な治療薬開発が精力的に進められているが、未だ臨床的有用性の認められた薬剤はない。特にここ数年、有望視されていた薬剤の臨床試験からの脱落が相次いでいる。

我々は GA β (ganglioside-bound A β) が A β の異常重合の開始点として働く病的産物であり、これを標的にする薬剤開発は効率性及び安全性において他のアプローチよりはるかに優れていると考え、GA β を標的とする創薬研究を開始した。

まず GA β の分子動力学計算から 2 つの代表的な構造を抽出し、市販化合物を対象にバーチャルスクリーニング(ドッキングスタンディー)を行い、数百の化合物を選び出した。それらを試験管内(GM1 存在下アミロイド形成抑制能を ThT 反応によって定量)で評価した結果、4 つのヒット化合物を同定することができた。これら 4 つのヒット化合物の薬としての可能性を種々評価した結果、代謝安定性に問題があることが判明したため、次に代謝安定性の向上にフォーカスした構造活性相関を開始することにした。150 以上の化合物を合成し評価した結果、活性と代謝安定性を兼ね備えたリード化合物を見出すことができた。この化合物を対象に、現在

最適化を行うと同時に、病態モデルマウス (APP/PS1 Tg マウス) にて脳内アミロイド蓄積に対する抑制効果を評価中である。

タウ凝集を標的とする治療薬の開発:

アルツハイマー病の病理学特徴は老人斑と神経原線維変化であり、前者はアミロイド蛋白、後者はタウ蛋白で構成される。タウは元来、微小管結合蛋白質として同定されたが、アルツハイマー病病態ではタウと微小管との結合低下が起こった後、タウ同士で自己結合することで凝集体となり、最終的に神経原線維変化を形成すると考えられている。また、アルツハイマー病において、神経原線維変化の数は認知機能の低下に伴って増加することが知られている。さらに、前頭側頭型認知症の 1 つである Frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 患者から発見されたタウの遺伝子変異を導入したマウスでは、脳内においてタウ凝集とそれに引き続いて神経脱落が観察される。タウ凝集の亢進が認知機能障害を誘発する「鍵」となりえるゆえに、これを標的にする薬剤開発はアルツハイマー病の有効な治療薬になりうると考え創薬研究を開始した。まず東大イノベーションセンター所有のライブラリー化合物から既存のリガンドに類似した化合物をインシリコ(コンピューター)にて

選択し、試験管内で活性評価を行った。その結果構造を異にするいくつかのヒット化合物が得られた。今後はこの結果を基に同様のサイクルを数回廻すことによって、よりドラッグライクなヒット化合物を得、その後最適化を行う予定である。本プロジェクトは国立長寿医療研究センターの高島部長、及び理化学研究所の本間光貴マネージャーとの協力により行われている。

研究業績(治療薬探索研究部)

I. 論文発表

1. 原著

Tajima Y, Ishikawa M, Maekawa K, Murayama M, Senoo Y, Nishimaki-Mogami T, Nakanishi H, Ikeda K, Arita M, Taguchi R, Okuno A, Mikawa R, Niida S, Takikawa O, Saito Y.

Lipidomic analysis of brain tissues and plasma in a mouse model expressing mutated human amyloid precursor protein/tau for Alzheimer's disease.

Lipids Health Dis. 12:68-81, 2013.

Okada K, Angkawidjaja C, Koga Y, Kanaya S.

Structural and mechanistic insights into the kynurenine aminotransferase-mediated excretion of kynurenic acid.

J Struct Biol. 185:257-266. 2014 Mar.

Hong S., Ostaszewski B.L., Yang T., O'Malley T.T., Jin M., Yanagisawa K., Li S., Bartels T., Selkoe D.J.

Soluble A β oligomers are rapidly sequestered from brain ISF in vivo and bind GM1 ganglioside on cellular membranes.

Neuron 82, 308–319(2014)

Oikawa N., Hatsuta H., Murayama S., Suzuki A., Yanagisawa K.

Influence of APOE genotype and the presence of Alzheimer's pathology on synaptic membrane lipids of human brains.

J Neurosci Res. 92, 641-650(2014)

2. 総説

なし

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道等

滝川 修

プレス発表 平成 26 年 1 月 21 日、『「知の拠点あいち」重点研究プログラムにおける、1 滴の血液で簡単・迅速に病気の検査をする技術の確立について』、愛知県庁

CBCテレビ[中部日本放送]イッポウ、平成 26 年 1 月 21 日、「1 滴の血液で病気を検査する技術の確立」

東海テレビ スーパーニュース「きにナール！」、平成 26 年 2 月 10 日、「半導体で最新医療 血液 1 滴!!アルツハイマーを判定」

SBS ラジオ[静岡放送] 朝だす！ 平成 26 年 2 月 6 日、「アルツハイマー」病の検査や治療に明るい兆し」

CBC[中部日本放送]ラジオ 丹野みどりのよりどりっ！、平成 26 年 2 月、「アルツハイマー検査・早期発見の重要性」

日本経済新聞、平成 26 年 1 月 22 日、「血液 1 滴で病気検査 愛知の産官学が新技術」

読賣新聞、平成 26 年 1 月 22 日、「自宅でアルツハイマー病検査」

朝日新聞、平成 26 年 1 月 22 日、「アルツハイマー 血液 1 滴で診断」

中日新聞、平成 26 年 1 月 22 日(水)1 面トップ「血液 1 滴 30 分でアルツハイマー検査 長寿研・豊橋技科大家庭に普及期待」

中部経済新聞、平成 26 年 1 月 22 日(水)「血液 1 滴 30 分以内 国立長寿医療研究センターアルツハイマー検査容易に」

日刊工業新聞、平成 26 年 1 月 22 日、「血液・尿検査 10 分で」

日経産業新聞、平成 26 年 4 月 4 日、「テクノトレンド 半導体技術が変える医療 病気の原因物質を検出」

柳澤勝彦

CBCテレビ「イッポウ」、平成 26 年 2 月 26 日、「認知症治療薬開発の現状」

～特集:認知症最前線

6. 特許申請、取得状況

発明者:滝川修、奥野海良人、吉見立也、澤田和明、奥村弘一

発明の名称:化学・物理現象検出方法及びその装置

出願日:平成 25 年 5 月 29 日

出願番号:特願 2013-112444

出願人:独立行政法人国立長寿医療研究センター・国立大学法人豊橋技術科学大学

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

柳澤勝彦

アルツハイマー病発症におけるガングリオシドの役割.

第 32 回日本糖質学会年会,「ワークショップ “脳・神経・筋疾患と糖鎖”」

2013 年 8 月 6 日, 大阪

柳澤勝彦

血液を用いたアルツハイマー病発症前診断の可能性.

FIRST 田中 ms³d プロジェクト 一般公開シンポジウム～医療に貢献する次世代質量分析
の現状と展望～ 2014 年 1 月 26 日, 東京

滝川修、新飯田俊平、平山明由、曾我朋義

メタボロミクスによるアルツハイマー病早期発見診断マーカーの探索

第 8 回メタボロームシンポジウム、2013 年 10 月 4 日、福岡

福田美和、脇稔、浅井章良、滝川修、宮地弘幸、松野研司

Benzimidazole 構造を有する新規 indoleamine 2,3-dioxygenase(IDO)阻害剤の合成と活性
評価. 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム、2013 年 11 月 20 日、広島

2. 国際学会発表

滝川修

反応性アストロサイトによる A β 産生:アルツハイマー病のアミロイド代謝異常に関する新知見

Neuro2013、2013 年 6 月 22 日、京都

Tajima Y, Maekawa Keiko, Ishikawa M, Murayama M, Senoo Y, Nishimaki-Mogami T, Nakanishi H, Kazutaka I, Arita M, Taguchi R, Okuno A, Mikawa R, Niida S, Takikawa O, Saito Y.

Lipidomic analysis of brain tissues and plasma in a mouse model expressing mutated human amyloid precursor protein/tau for Alzheimer's disease.

The 9th Annual Conference of the Metabolomics Society, July 4, 2013, Glasgow, Scotland.

Takikawa O, Mikawa R, Okuno A, Yoshimi T, Okada K, Takayanagi A.

Implications of brain microvessel endothelial cell-derived amyloid β peptide in cerebral amyloid angiopathy associated with Alzheimer's disease.

Alzheimer's disease Association International Conference (AAIC) 2013, July 14, 2013, Boston, America.

3. 国内学会発表

三河隆太、吉見立也、奥野海良人、岡田健、高柳亜紀子、滝川修

血管内皮細胞における $A\beta$ 産生機構と脳アミロイド血管症

第 36 回日本基礎老化学会、2013 年 6 月 4 日、大阪

三河隆太、奥野海良人、岡田健、高柳亜紀子、吉見立也、滝川修

脳血管細胞による $A\beta$ 産生と脳アミロイド血管症

第 35 回神経組織培養研究会、2013 年 6 月 30 日、大阪

三河隆太、吉見立也、奥野海良人、岡田健、高柳亜紀子、滝川修

血管内皮細胞による $A\beta$ 産生調節機構：脳アミロイド血管症におけるその病態生理学的意義

第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日、横浜

岡田健、三河隆太、奥野海良人、高柳亜紀子、山岸まゆみ、吉見立也、滝川修

Kinetic and protein-ligand interaction studies of human tryptophan 2,3-dioxygenase, identified the modulation of enzymatic reactions by tryptophan.

第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日、横浜

岡田健、三河隆太、奥野海良人、吉見立也、滝川修

ヒト Tryptophan 2,3-dioxygenase のアロステリック効果による酵素反応調節機構

第 35 回日本トリプトファン研究会、2013 年 9 月 29 日、京都

大森啓充、滝川修、眞山義民、奥野海良人、山崎雅美、福場浩正、村田芳夫、松本信夫、品川友江、宮地隆史、住元了、鈴木修一、宮野前健、児玉浩子
経管栄養施行中の重症心身障害児(者)の栄養障害と免疫機能 – インドールアミン酸素添加酵素(IDO)との関連について–

第 35 回日本臨床栄養学会、2013 年 10 月 4-6 日、京都

山崎泰豊、小又尉広、鈴木枝里子、林永美、柳澤勝彦、津田玲生
ショウジョウバエを用いたアルツハイマー病治療薬の定量的評価系。
第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月 3-6 日、神戸

三河隆太、吉見立也、奥野海良人、岡田健、高柳亜紀子、滝川修
Characterization of Amyloid- β Degrading Activity in Human Serum.
第 6 回 NAGOYA グローバルリトリート、平成 26 年 2 月 14 日、東浦

福田美和、脇稔、浅井章良、滝川修、宮地弘幸、松野研司
indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) 阻害活性を有する benzimidazole 系化合物の創製
日本薬学会第 134 年会、平成 26 年 3 月 28 日、熊本

4. その他、セミナー等

柳澤勝彦

アルツハイマー病:発症機序と治療薬開発.
第 87 回 尾道地区内科会、2013 年 7 月 4 日、尾道市

柳澤勝彦

アルツハイマー病研究:私の PHEOC.
認知症研究を知る若手研究者の集まり 2013、2013 年 7 月 27 日、熱海市

柳澤勝彦

アルツハイマー病の脳内でのできごと.
老年医学サマーセミナー2013、2013 年 8 月 1 日、軽井沢

柳澤勝彦

アミロイド仮説の新展開と先制的治療薬の展望.
Neuroscience for Neurologist、2013 年 9 月 4 日、広島市

柳澤勝彦

糖鎖から探るアルツハイマー病の成立と治療薬開発.

神奈川科学技術アカデミー(KAST)教育研修講座, 2014 年 1 月 22 日, 川崎市

III. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

なし

2. 文部科学省

滝川 修 (分担) 170万円

科学技術試験研究委託事業 分子イメージング研究戦略推進プログラム

分子イメージングによるタウ凝集阻害薬開発

滝川 修 (代表) 139万円 (総額169万円)

科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金) 基盤研究(C)

アルツハイマー病におけるトリプトファン代謝異常のアミロイド代謝に及ぼす影響

吉見立也(代表) 208万円

科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金) 基盤研究(C)

ヒト脳を使用したタウ蛋白凝集体イメージングプローブの新規探索システムの開発

柳澤勝彦 (分担) 760万円

脳科学研究戦略推進プログラム

アミロイド蓄積に先行する膜脂質の変動を標的とするアルツハイマー病先制治療薬の開発

3. 財団、その他

滝川 修(分担) 430万円

保健医療分野における基礎研究推進事業(独立行政法人 医薬基盤研究所)

メタボローム情報に基づくアルツハイマー病及び脊柱管狭窄症の創薬標的の探索

滝川 修(分担) 926万円

愛知県 知の拠点(超早期診断技術開発プロジェクト)

アルツハイマー病・パーキンソン病等を早期発見する無侵襲計測システム開発

滝川 修(分担) 1,100万円

最先端研究開発支援プログラム

次世代質量分析システム開発と創薬・診断への貢献

柳澤勝彦（研究責任者） 2,420 万円

最先端研究支援プログラム

次世代質量分析システム開発と創薬・診断への貢献

分子基盤研究部

(1) 構成員

部長 高島 明彦

室長

病態モデル動物解析室 木村 哲也

標的治療開発室 住岡 暁夫

流動研究員

鈴木 真美子

脳プロ研究員

添田 義行

吉川 弥里

研究員

後藤 麻子

研究補助員・実験補助員

山本 みどり

研究補助員・事務補助員

今井 麻衣子

(2) 平成 25 年度研究活動の概要

分子基盤研究部は平成 22 年度 4 月 1 日にスタートした認知症先進医療開発センター (Center for Development of Advanced Medicine for Dementia, CAMD) に新設された研究部である。当研究部門は病態モデル解析研究室と標的治療開発研究室の 2 室で構成され、超高齢化社会を迎え急増する認知症の発症や進行を抑止するため病理学的特徴の一つである神経原線維変化に注目し、脳老化、認知症の分子機構を明らかにすることで標的分子を決定し薬剤を開発を行うことをミッションとしている。平成 23 年 5 月 1 日に病態モデル解析研究室長として理化学研究所から木村哲也が着任した。標的治療開発研究室長住岡暁夫は平成 2

4 年 4 月 1 日に米国イエール大学から着任し、研究を開始した。本年度の研究成果はそれぞれの報告に詳細してある。分子基盤研究部部長高島は理研から 23 年 5 月 1 日に着任し、これまでスクリーニングしたタウ凝集阻害剤 X1 について細胞実験、動物実験を行い、動物モデルにおいて X1 がタウ凝集とそれに伴う神経脱落、神経機能低下、行動異常が有意に抑制できることを示した。この結果を基に臨床試験の検討を行ったが安全性に対する賛同が得られなかったため、さらに毒性の少ない化合物として DX1 を開発した。DX1 は X1 と同等のタウ凝集抑制活性を有し、毒性は 1/200 以下であった。マウスモデルでの検討では濃度依存的、投与期間依存的にタウ凝集抑制を示した。作用機序の検討からタウのリピート領域と言われる部位に結合し、タウ 4 量体以上の重合体形成を阻害する。マウスでタウ凝集阻害を示す血中濃度は 64 ng/ml、脳内濃度は 10 ng/ml であった。ビーグルにおける血中動態は投与後 30 分～1 時間で最大となり 6 時間後に消失した。論文調査からヒトへの 0.2 mg/kg 経口投与で 60～160 分後に 300 ng/ml の血中濃度になることが報告されており DX1 0.2 mg/kg 投与で十分なタウ凝集抑制作用を示す脳内濃度となることが予想された。上記結果から早期に GLP 安全性試験を行い、第一相臨床試験へとつなげる予定である。

病態モデル動物解析室：木村哲也、鈴木真美子
タウの生理機能とその臨床応用に関する研究

【タウの生理的役割の解明】

本年度はタウの生理的役割の解明に関連して、以下の2ポイントに注目して解析を行った。

○ LTD 誘導によるタウの構造変化の解析 (木村、鈴木): タウがLTDに必要な機能的タンパク質であるとする昨年度の発見をさらに進めて、LTDに誘導に伴ったタウの変化を生化学的手法によって検証した。麻酔下でマウスの海馬に電極を刺入し、LTD誘導を行い、様々なタイミングで海馬を摘出し解析した。結果として、LTD刺激終了後30分以上経過するとサルコシルに不溶化したタウが蓄積することが明らかになった。さらに加齢依存性を検証し、この不溶化したタウの蓄積そのものは加齢に依存する事なく起こるものの、その程度は加齢に依存して増大する傾向が確認された。さらに電子顕微鏡による観察を行い、刺激後1時間程度で形成されたサルコシル不溶化タウは繊維状の重合体というより複数のタウの集まったオリゴマーであることが確認された。今後、この生理的タウオリゴマー形成のメカニズムを解析し、病理的タウ封入体形成との関係を明らかにする。

○NMDAR誘導型LTD形成におけるタウの役割の検討 (鈴木、木村): NMDA受容体(NMDAR)依存型LTDの形成にはタウが関与し、代謝型グルタミン酸レセプター(mGluR)依存型LTDに関与しないという昨年度の結果はタウがAMPAレセプター(AMPA)のシナプス外保持機構に関与する事で説明される。本年度はこの仮説を検証する第一歩として、細胞内外のAMPAの動態が計測可能な器官培養海馬ネットワーク標本の作製と、NMDA誘導型LTDおよびそのタウ依存性の再現実験を行った。その結果、NMDA刺激LTDの長期的維持は確かにタウ依存性であるが、初期過程はタウ非依存性である可能性が示された。今後、イメージング手法と電気生理的手法を組み合わせる事で、AMPAの細胞内トラフィックとタウの関係を明らかにし、タウの生理機能を解明する。

【その他】MnMRI 法の最適化を行い、より高いS/N比を実現するプロトコルを確定し、部内での技術移管を果たした。また、大阪市立大学医学部(富山准教授)との共同実験を幾つか行い、その内の1つの論文発表を行った。

標的治療開発室：住岡暁夫、後藤麻子
脂質膜によるタウ病変の制御

アルツハイマー病（AD）は本邦でもっとも患者数の多い認知症で、根本療法の開発が急務である。神経原繊維変化（NFT）はADの病理学的特長のひとつで、主要構成成分はタウ蛋白質の凝集体である。このタウの病変はADに見られる神経変性の原因の一つであると考えられている。そこで、**タウ病変の仕組みを明らかにして、NFT形成を阻害することが重要である。**

しかし、精製したタウは単独では非常に安定である。そのため、試験管内の凝集反応には、ヘパリン等の強い負電荷性誘導剤が必要であるが、生体内での誘導剤は不明である。そこで、私はタウ凝集・局在制御の場として脂質二重膜に注目し、**膜脂質によるタウ病変制御モデル**を提案し、この検証に取り組んでいる。

脂質によるタウ凝集制御モデルを検証するため、以下の研究目標に取り組む。

- I. タウと脂質二重膜の相互作用
- II. 脂質によるタウの凝集誘導
- III. 細胞膜によるタウの凝集制御

研究目標 I

昨年度までに、タウが特異的に結合する膜脂質成分X1を明らかにした。この結果を受けて、平成25年度は、タウと脂質二重膜の相互作用の仕組みの解明に取り組んだ。

タウ側の膜脂質との結合部位を、部分欠損変異型タウと膜脂質の相互作用を観察することで、探索した。その結果、膜脂質への

結合に必要な十分な部位を同定した。

さらに、結合部位に位置するリン酸化修飾配列に注目した。擬似リン酸化変異型タウを用いた結合実験により、リン酸化修飾が、タウと膜脂質の相互作用を調節する可能性を、明らかにした。

研究目標 II

膜脂質によるタウ凝集制御を検証するため、本年度は膜脂質存在下の精製タウの試験管系での凝集反応を観察した。

各脂質成分を配合した人工リポソームによって誘導される、精製タウの凝集形成をチオフラビンTによる染色で測定した。その結果、膜脂質成分X1はタウの凝集を誘導せず、逆にヘパリンによるタウの凝集を阻害する作用を有することが明らかした。

研究目標 III

本年度は細胞膜成分の調節と、これを確認する評価法の確立を試みた。細胞膜成分の調節法として、脂質成分X1の一過的な外部投与による調節法と、脂質成分X1の合成酵素遺伝子の導入による調節法を確立した。細胞膜成分調節の確認手段として、抗X1抗体による細胞染色法を確立した。

これらを元に来年度以降は、細胞膜脂質成分変化による細胞内タウの凝集制御を検証する。

また、これまでの研究成果を発展させ、ADにおいて膜脂質成分X1の代謝異常がタウの病変を促進し神経変性に至るという新たなモデルを検証していきたい。

研究業績(分子基盤研究部)

I. 論文発表

1. 原著

- 1) Ichihara Y, Wada T, Soeda Y, Ishii Y, Sasahara M, Tsuneki H, Sasaoka T.
SH2-containing inositol 5'-phosphatase 2 selectively impairs hypothalamic insulin signalling and regulation of food intake in mice.
J Neuroendocrinol. 2013 Apr;25(4):372-82.
- 2) Umeda T, Yamashita T, Kimura T, Ohnishi K, Takuma H, Ozeki T, Takashima A, Tomiyama T, Mori H.
Neurodegenerative disorder FTDP-17-related tau intron 10 +16C → T mutation increases tau exon 10 splicing and causes tauopathy in transgenic mice.
Am J Pathol. 2013 Jul;183(1):211-25.
- 3) Maruyama M, Shimada H, Suhara T, Shinotoh H, Ji B, Maeda J, Zhang MR, Trojanowski JQ, Lee VM, Ono M, Masamoto K, Takano H, Sahara N, Iwata N, Okamura N, Furumoto S, Kudo Y, Chang Q, Saido TC, Takashima A, Lewis J, Jang MK, Aoki I, Ito H, Higuchi M.
Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls.
Neuron. 2013 Sep 18;79(6):1094-108.
- 4) Arioka M, Takahashi-Yanaga F, Sasaki M, Yoshihara T, Morimoto S, Takashima A, Mori Y, Sasaguri T.
Acceleration of bone development and regeneration through the Wnt/ β -catenin signaling pathway in mice heterozygously deficient for GSK-3 β .
Biochem Biophys Res Commun. 2013 Nov 1;440(4):677-82.
- 5) Kimura T, Whitcomb DJ, Jo J, Regan P, Piers T, Heo S, Brown C, Hashikawa T, Murayama M, Seok H, Sotiropoulos I, Kim E, Collingridge GL, Takashima A, and Cho K.
Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus.
Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2013 Dec 2;369(1633):20130144.
- 6) Umeda T, Maekawa S, Kimura T, Takashima A, Tomiyama T, Mori H.
Neurofibrillary tangle formation by introducing wild-type human tau into APP transgenic mice.
Acta Neuropathol. (2014) 127:685–698.

- 7) Sahara N, Murayama M, Higuchi M, Suhara T, Takashima A.
Biochemical Distribution of Tau Protein in Synaptosomal Fraction of Transgenic
Mice Expressing Human P301L Tau.
Front Neurol. 2014 Mar 11;5:26.

2. 総説

- 1) Takashima A.
Tauopathies and tau oligomers.
J Alzheimers Dis. 2013;37(3):565-8.
- 2) 高島明彦
タウを標的とした認知症治療の現状と展望.
臨床神経学 2013;53(11):1040-2.
- 3) 高島明彦
タウ凝集阻害による認知症治療の可能性.
神経内科 80(3):383-389, 2014

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

高島明彦
文藝春秋 SPECIAL-認知症に勝つ-, 特集 1「予防と治療の最前線-Part1 早期発見の切り札 MCIを見逃すな」. 2014 年季刊春号 No.27

5. 新聞・報道等

なし

6. 特許申請、取得状況

発明者: 宮坂知宏、杉本八郎、時實梨衣、新崎由紀、大江洋平、太田哲男、高島明彦、
添田義行、井原康夫

発明の名称: タウ凝集阻害剤

出願年月日: 2013 年 4 月 2 日

基礎出願番号: 特願 2013-076614

出願人: 学校法人同志社、独立行政法人国立長寿医療研究センター

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

1) 高島明彦

タウ凝集を標的にしたアルツハイマー病治療薬開発について.

精神疾患の薬物治療の最前線研究会 2013 年 5 月 18 日、福岡市

2) Takashima A

Mechanism of aging brain and Alzheimer's disease.

2nd Brain Diseases & Molecular Machines Conference 2013 年 5 月 28 日、東京

3) 高島明彦

タウを標的とした認知症治療の現状と展望.

第 54 回日本神経学会学術大会 2013 年 5 月 30 日、東京

4) 住岡暁夫

補助サブユニットによるグルタミン酸受容体の機能制御.

生理学研究所研究会「シナプス恒常性維持の分子基盤とその破綻」2013 年 6 月 7 日、岡崎市

5) Takashima A

Tau aggregation and neuronal degeneration.

第 11 回世界生物学的精神医学会国際会議 2013 年 6 月 27 日、京都

6) Takashima A

Tau protein as key converter of normal brain aging to dementia.

IBRO-sponsored International Symposium : Current Aspects in Pathophysiology of Alzheimer's disease, Braga, Portugal. October 24, 2013.

7) Takashima A

Granular tau oligomer: toxic tau aggregation.

Cantoblanco Workshops on Biology : Is tau a prion-like protein? Implications for physiology and pathology, Madrid, Spain. October 28-30, 2013

8) 添田義行

抗タウオパチー療法開発、現状とその焦点

(新時代に向けたタウオパチー研究集中講座).

第 32 回日本認知症学会学術集会 2013 年 11 月 10 日、松本市

9) 高島明彦

脳の老化と認知症.

学習院大学生命科学シンポジウム-生命の秘密を解く鍵をもとめて 2013 年 11 月 16 日、東京都

10) 高島明彦

タウ凝集阻害剤の創出.

中部橋渡し研究支援シンポジウム 2014 年 3 月 6 日 名古屋市

11) 高島明彦

脳科学におけるアルツハイマー病研究.

同志社大学セミナー 2014 年 1 月 24 日, 京都府木津川市

12) 高島明彦

タウからみたアルツハイマー病発症機構と創薬

広島大学セミナー 2014 年 1 月 31 日, 広島市

2. 国際学会発表

I. sotiropoulos, J. Silva, T. Kimura, A. J. Rodrigues, P. Costa, O. Almeida, N. Sousa, A. Takashima.

Stress triggers tau aggregation through dysregulation of the chaperone-mediated degradation machinery and promotion of apoptosis.

Alzheimer's Association International Conference 2013, Boston, USA. July 13-18, 2013.

3. 国内学会発表

1) 前川素子, 木村哲也, 浜崎景, 渡辺明子, 岩山佳美, 大羽尚子, 久野泰子, 文東美紀, 岩本和也, 大西哲生, 豊島学, 大隅典子, 加藤忠史, 高島明彦, 吉川武男.

発達期の脂肪酸欠乏食投与による精神疾患関連遺伝子の発現変化.

Neuro2013 2013 年 6 月 21 日 京都市

2) 佐藤千佳, 古舘宏之, 小林哲也, 関口達彦, 木村哲也, 庄野修.

大脳基底核側坐核コアとシェルによる相補的な行動抑制.

Neuro2013 2013 年 6 月 22 日 京都市

3) 住岡暁夫

タウ結合分子.

2013 タウ研究ミーティング 2013 年 8 月 9 日 愛知県

4) 添田義行

タウ凝集阻害剤.

2013 タウ研究ミーティング 2013 年 8 月 9 日 愛知県

4. その他、セミナー等

なし

Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

なし

2. 文部科学省

1) 高島明彦, (分担) 5,115 万円

脳科学研究戦略推進プログラム.

抗タウオパチー薬の創出(動物モデルを用いた化合物スクリーニング、および神経機能障害機構解明).

2) 高島明彦, (代表) 1,170 万円

平成 25 年度科学研究費助成事業(科学研究費補助金(新学術領域研究(研究領域提案型))).

シナプス活動を介した神経原線維変化形成機構.

3) 住岡暁夫, (代表) 143 万円

平成 25 年度科学研究費助成事業(科学研究費補助金(研究活動スタート支援)).

脂質によるタウ凝集の制御.

4) 添田義行, (代表) 130 万円

平成 25 年度科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金(若手研究(B))).

タウ蛋白の毒性を抑制するアルツハイマー病治療薬の探索.

タ

3. 財団、その他

1) 住岡暁夫, (代表) 200 万円

小野医学研究財団第 26 回(平成 25 年度)研究助成.

脂質代謝異常によるタウ病変形成の制御.

2) 住岡暁夫, (代表) 200 万円

公益財団法人東京生化学研究会平成 24 年度研究助成(次年度分).

膜脂質によるタウ輸送制御の解明.

先進医療データ管理室

(1) 構成員

室長 武田 章敬

(2) 平成 25 年度研究活動の概要

認知症の人と家族を地域で支える体制の構築(研究テーマ)

① 実態調査

A. 研究目的

認知症の人が急に身体合併症を来したときにどのような診療が行われているかを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

認知症の救急医療の実態に関して、医療を受ける側として、認知症の人と家族の会会員及び国立長寿医療研究センターを通院中の認知症の人の家族を対象としてアンケート調査を行った。

また、医療を提供する側として、全国の救急告示病院を対象としたアンケート調査を実施した。

C. 研究結果

医療を受ける側を対象とした調査の結果、認知症の人が急な身体疾患を来し、医療機関を受診した場合、問題なく受診できることが多いが、「待ち時間が長くて大変だった」「医療機関の職員(医師、看護師等)から納得できないような対応をされた」「認知症を理由に診察を拒否された」「入院が必要と考えられるのに医療機関から認知症を理

由に入院を断られた」等のケースもあることが明らかになった。また、入院した場合にも、「家族の付添いを求められた」「身体抑制をされた」「入院前と比較して身体機能が低下してしまい、介護が大変になった」等の問題があることがわかった。

医療を提供する側を対象とした調査の結果、救急告示病院の多くは認知症の人であっても診療を行い、緊急入院を受け入れているが、少数ではあるが、診療を行わない病院や入院を受け入れない病院があることが明らかになった。ほとんどの病院が「認知症患者の身体救急疾患への対応が困難であると感じることがある」と回答しており、その理由として「転倒・転落の危険がある」「意思疎通が困難」「検査・処置への協力が得られにくい」等が挙げられていた。認知症患者の救急対応の現状を改善するための方法として有効と考えられるものについては、「認知症対応の研修」「精神科病院等との連携強化」「診療報酬で評価」の順で回答が多かった。

② 地域啓発活動

愛知県及び名古屋市の介護認定審査員への研修やかかりつけ医、介護支援推進員等の多職種を対象とした研修、地域住民への講演活動等、当地域の認知症に関する知識と理解の普及・連携体制の構築に努めた。

研究業績(先進医療データ管理室)

I. 論文発表等

1. 原著

なし

2. 総説

なし

3. 著書、Chapters

武田章敬、堀部賢太郎：認知症医療の将来展望.

脳とこころのプライマリケア第2巻 知能の衰え 池田 学編, シナジー, p160-169, 2013.

鳥羽研二(監修)、武田章敬、清家 理(編集)：

患者さんご家族から学ぶ「認知症なんでも相談室」, メジカルビュー社, 2013.

4. その他

なし

5. 新聞・報道等

なし

6. 特許申請、取得状況

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

Takeda A.

The Five-Year Plan for Promotion of Dementia Measures, or “Orange Plan”.

International Conference on Preventive Services and Dementia Screening for Older People, October 19, Kaohsiung, Taiwan,

2. 国際学会発表

なし

3. 国内学会発表

武田章敬、尾之内直美、鈴木亮子、清家 理、梅村 想、辻本昌史、川合圭成、山岡朗子、新畑 豊、鷺見幸彦：

地域における認知症の医療と介護の連携に関する実態調査.

第 54 回日本神経学会学術大会, 5 月 30 日, 東京.

武田章敬、梅村 想、辻本昌史、川合圭成、山岡朗子、堀部賢太郎、新畑 豊、鷺見幸彦、鳥羽研二：

もの忘れチェックリストの有効性の検討.

第 32 回日本認知症学会学術集会, 11 月 9 日, 長野.

4. その他、セミナー等

武田章敬：

認知症患者の日常生活における留意点－社会制度を最大限に活用するために－.

日本医師会生涯教育協力講座特別講演会, 5 月 11 日, 愛知.

武田章敬：

認知症疾患医療センターとは.

知多北部認知症研究会, 5 月 25 日, 愛知.

武田章敬：

認知症の人の生活を支える地域連携.

磐田市医師会認知症を考える会, 7 月 26 日, 静岡.

武田章敬：

認知症の最新知識と支援の方法.

阿久比町介護者教室講演会, 7 月 28 日, 愛知.

武田章敬：

認知症サポーターに伝えたいこと・認知症を理解する.

長久手市キャラバン・メイト養成研修, 8 月 31 日, 愛知.

武田章敬：

若年性認知症 診断～支援.

名古屋市千種区認知症地域連携の会, 9 月 19 日, 愛知.

武田章敬：

審査判定に役立つ認知症の最新情報.

愛知県平成 25 年度介護認定審査会委員現任研修, 10 月 20 日, 愛知.

武田章敬：

認知症予防と早期発見－認知力アップの挑戦－.

尾張旭市平成 25 年度認知症予防と認知症を考える講演会, 12 月 6 日, 愛知.

武田章敬：

認知症診療の実際.

平成 25 年度第 1 回認知症サポート医フォローアップ研修, 12 月 7 日, 愛知.

武田章敬：

認知症診療のポイント－初期から終末期の生活を支える－.

名古屋市中区医師会学術講演会, 1 月 23 日, 愛知.

武田章敬：

認知症の人とその家族を地域で支える－認知症診断・介護と地域包括ケア（シンポジスト）.

第 22 回東海在宅医療研究会, 2 月 15 日, 愛知.

武田章敬：

認知症になっても安心して暮らせる地域づくりと多職種連携.

NTT 東日本伊豆病院 認知症疾患医療センター 認知症医療連携研修会, 2 月 22 日, 静岡.

武田章敬：

認知症事例 Q&A.

平成 25 年度栄中日文化センター秋の連続講座, 3 月 13 日, 愛知.

武田章敬：

認知症の人とその家族の生活を地域全体で支える具体的方法.

第 23 回西区認知症研究会, 3 月 29 日, 愛知.

Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

武田章敬, (分担)80 万円

愛知県知多北部地域における認知症連携体制との比較.

病・診・介護の連携による認知症ケアネットワーク構築に関する研究事業.

2. 文部科学省
なし
3. 財団、その他
なし

NC・企業連携共同研究部(エーザイ)

(1) 構成員

部長 高島 明彦

室長

薬理学研究室 吉田 裕孝

流動研究員

吉武 淳

研究補助員・事務補助員

今井 麻衣子

(2) 平成 24 年度研究活動の概要

NC 企業連携研究部(エーザイ)は平成 24 年度 4 月 1 日認知症先進医療開発センター (Center for Development of Advanced Medicine for Dementia、CAMD)に新設された研究部である。当研究部は薬理学研究室で構成され、エーザイ(株)との共同研究を通して超高齢化社会を迎え急増する認知症の発症や進行を抑止するため神経原線維変化に注目し治療薬を開発を行うことをミッションとしている。平成24年6月1日に薬理研究室長として英国 Medical Research Council (MRC), Laboratory of Molecular Biology から吉田裕孝が着任した。本年度、細胞外タウの生化学的検討を始め、すでに細胞外に分泌されたタウの精製に成功している。今後の検討から神経原線維変化の伝播機構を明らかにし、そこから認知症進行を阻止する方法を見いだそうとしている。更に、新規のタウ蛋白修飾を流動研究員と見だし、この修飾とタウ凝集の関係を明らかにしようとしている。高島は平成24年4月1日から、分子基盤研究部と NC 企業連携研究部部長を兼任し他大学、企業との共同研究を進めている。

薬理学研究室：吉田 裕孝、吉武 淳、
タウオパチー認知症脳内に蓄積するタウ細胞封入体形成機構と
認知症発症機構の解明

NC・企業連携共同研究部(エーザイ)薬理学研究部は、室長である吉田裕孝が英国 Medical Research Council (MRC), Laboratory of Molecular Biology から着任し、平成24年度6月1日に発足した。吉田は15年にわたり海外(米国 Salk 生物学研究所と英国 MRC 分子生物学研究所)において、病理学的かつ遺伝的に認知症と最も関係のある微小管結合タンパク質タウの研究を一貫して行ない、認知症脳内病理蓄積物の解析、家族性認知症タウ変異の同定と機能解析、認知症動物モデルの開発、タウの翻訳後修飾の解析等を行ってきた。帰国後は本職着任を皮切りに、独創的なアイデアかつ普遍的な手法で認知症発症機構を独立した研究により解明していく。

タウオパチー認知症脳内には線維化した微小管結合タンパク質タウを主成分とするタウ封入体が形成され、本疾患を病理学的に特徴づける。タウ封入体の形成と蓄積は、本疾患の臨床的な所見である認知症の程度、細胞生物学的には神経細胞死ならびにシナプス変性と強く相関することが示唆されている。本研究室ではタウオパチーにおける認知症の発症機構を解明するために、タウ封入体ならびにタウ病理の形成ならびに神経の変性機構の解明を行う。

[活動内容]

平成25年度は、生化学的手法、細胞生物学手法を用いて大腸菌で発現したリコンビナント・タウ、培養細胞で発現したタウなら

びに脳マイクロダイアリシス法によりマウス脳から回収したタウ(神経細胞外のタウ)の分子動態について解析を行なった。

(1) 大腸菌発現リコンビナント・ヒトタウタンパク質の解析

大腸菌で発現し精製したリコンビナント・タウをヘパリン存在下あるいは非存在下で37℃にて48時間インキュベート後、SDS 電気泳動およびネイティブ電気泳動に供し、CBB 染色によりゲル上の移動度、泳動パターンを観察した。SDS 電気泳動ゲル上ではヘパリン存在下あるいは非存在下で処理したタウの主要なバンドは55kDa 付近にみられ、ヘパリン存在下で処理したタウはわずかながらゲルトップにも検出された。未変性状態のタウを解析した結果、ヘパリン存在下で処理したタウのほとんどはゲルトップに検出された。これに対し、ヘパリン非存在下で処理したタウは、単量体だけでなく複数のオリゴマーとしても検出された。

(2) ニューロブラストーマ SHSY5Y 細胞発現タウの解析

ヒトタウを発現するニューロブラストーマ SHSY5Y 細胞株を樹立し、これを本実験に使用した。細胞密度が80%コンフルエント時に培養液(10%FBS を含む DMEM-F12 培養液)の交換を行ない、24時間後培養液を回収し、この培養上清より生化学的に精製したタウ画分を分析に供した。培養細胞は Triton X-100(1%)を含む PBS で可溶化し、遠心後可溶性画分を回収し分析に供した。

これらの試料を(1)と同様に解析した結果、SDS 電気泳動後イムノブロット法により、細胞抽出液のみならず細胞培養液からの画分にもタウが検出され、タウが細胞外に放出されることが確認された。さらに 未変性状態のタウを解析した結果、両画分に含まれるタウはともにオリゴマー状であることが明らかとなった。

(3)マウス脳マイクロダイアリシス回収液中タウの解析

2、3および27ヶ月齢のマウスから脳マイクロダイアリシス法により得られた回収液を(1)、(2)の実験と同様の手法を用いて解析した。マウス脳マイクロダイアリシス法により回収された神経細胞外液中のタウはオリゴマー状であること、タウ量は加齢とともに増加することが明らかとなった。

新規タウ翻訳後修飾の解析

タンパク質分子内のシステイン残基の-SH基を特異的に修飾するニトログアニル化が生体内で発見され、ニトログアニル化は酸化ストレスにより誘導されることが示唆され

ている。タウオパチー認知症発症と酸化ストレスとの関連を調べるため、タウが本翻訳後修飾されるか検討を行った。大腸菌内で発現したタウとニトロ cGMP を試験管内で化学的に反応させた結果、ニトログアニル化特異抗体を用いたウェスタンブロット法によりタウが本翻訳後修飾をうける基質であることを確認した。この結果はタウが細胞内においても本修飾を受ける可能性を示唆するものである。本修飾が生物学的な酸化ストレスにより誘導されるものか、培養細胞系およびマウスをもちいて今後検討する。また本修飾がタウの機能に影響を与えるものかを、タウ凝集反応、微小管結合能を調べることでより明らかにする。

さらに、吉田はエーザイ(株)と定期的な会議に参加し、抗認知症化合物の開発、動物モデルを用いた薬剤の効果検証に関する活発な議論を行い、技術や知識情報の提供および交換を行っている。

研究業績(NC・企業連携共同研究部(エーザイ))

I. 論文発表

1.原著

- 1) Umeda T, Yamashita T, Kimura T, Ohnishi K, Takuma H, Ozeki T, Takashima A, Tomiyama T, Mori H.
Neurodegenerative disorder FTDP-17-related tau intron 10 +16C → T mutation increases tau exon 10 splicing and causes tauopathy in transgenic mice.
Am J Pathol. 2013 Jul;183(1):211-25. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.03.015. Epub 2013 May 13. PMID: 23680655
- 2) Maruyama M, Shimada H, Suhara T, Shinotoh H, Ji B, Maeda J, Zhang MR, Trojanowski JQ, Lee VM, Ono M, Masamoto K, Takano H, Sahara N, Iwata N, Okamura N, Furumoto S, Kudo Y, Chang Q, Saido TC, Takashima A, Lewis J, Jang MK, Aoki I, Ito H, Higuchi M.
Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls.
Neuron. 2013 Sep 18;79(6):1094-108. doi: 10.1016/j.neuron.2013.07.037. PMID: 24050400
- 3) Arioka M, Takahashi-Yanaga F, Sasaki M, Yoshihara T, Morimoto S, Takashima A, Mori Y, Sasaguri T.
Acceleration of bone development and regeneration through the Wnt/ β -catenin signaling pathway in mice heterozygously deficient for GSK-3 β .
Biochem Biophys Res Commun. 2013 Nov 1;440(4):677-82. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.09.126. Epub 2013 Oct 4. PMID: 24099767
- 4) Kimura T, Whitcomb DJ, Jo J, Regan P, Piers T, Heo S, Brown C, Hashikawa T, Murayama M, Seok H, Sotiropoulos I, Kim E, Collingridge GL, Takashima A, and Cho K.
Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus.
Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2013 Dec 2;369(1633):20130144. doi: 10.1098/rstb.2013.0144. Print 2014 Jan 5. PMID: 24298146
- 5) Umeda T, Maekawa S, Kimura T, Takashima A, Tomiyama T, Mori H.
Neurofibrillary tangle formation by introducing wild-type human tau into APP transgenic mice.
Acta Neuropathol. 2014 Feb 15. [Epub ahead of print] PMID: 24531886

- 6) Sahara N, Murayama M, Higuchi M, Suhara T, Takashima A.
Biochemical Distribution of Tau Protein in Synaptosomal Fraction of Transgenic Mice Expressing Human P301L Tau.
Front Neurol. 2014 Mar 11;5:26. doi: 10.3389/fneur.2014.00026. eCollection 2014.
PMID: 24653715

2. 総説

- 1) Takashima A.
Tauopathies and tau oligomers.
J Alzheimers Dis. 2013;37(3):565-8. doi: 10.3233/JAD-130653. PMID: 23948895
- 2) 高島明彦
タウを標的とした認知症治療の現状と展望.
臨床神経学 2013;53(11):1040-2, PMID: 24291873
- 3) 高島明彦
タウ凝集阻害による認知症治療の可能性.
神経内科 80(3):383-389, 2014

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

高島明彦

文藝春秋 SPECIAL-認知症に勝つ-, 特集 1「予防と治療の最前線-Part1 早期発見の切り札 MCIを見逃すな」. 2014 年季刊春号 No.27

5. 新聞・報道等

なし

6. 特許申請、取得状況

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

- 1) 高島明彦
タウ凝集を標的にしたアルツハイマー病治療薬開発について.

精神疾患の薬物治療の最前線研究会 2013 年 5 月 18 日、福岡市

2) Takashima A

Mechanism of aging brain and Alzheimer's disease.

2nd Brain Diseases & Molecular Machines Conference 2013 年 5 月 28 日、東京

3) 高島明彦

タウを標的とした認知症治療の現状と展望.

第 54 回日本神経学会学術大会 2013 年 5 月 30 日、東京

4) Takashima A

Tau aggregation and neuronal degeneration.

第 11 回世界生物学的精神医学会国際会議 2013 年 6 月 27 日、京都

5) Takashima A

Tau protein as key converter of normal brain aging to dementia.

IBRO-sponsored International Symposium : Current Aspects in Pathophysiology of Alzheimer's disease, Braga, Portugal. October 24, 2013.

6) Takashima A

Granular tau oligomer: toxic tau aggregation.

Cantoblanco Workshops on Biology : Is tau a prion-like protein? Implications for physiology and pathology, Madrid, Spain. October 28-30, 2013

7) 高島明彦

脳の老化と認知症.

学習院大学生命科学シンポジウム-生命の秘密を解く鍵をもとめて 2013 年 11 月 16 日、東京都

8) 高島明彦

タウ凝集阻害剤の創出.

中部橋渡し研究支援シンポジウム 2014 年 3 月 6 日 名古屋市

9) 高島明彦

脳科学におけるアルツハイマー病研究.

同志社大学セミナー 2014 年 1 月 24 日、京都府木津川市

10) 高島明彦

タウからみたアルツハイマー病発症機構と創薬

広島大学セミナー 2014 年 1 月 31 日、広島市

2. 国際学会発表

1) I. sotirópoulos, J. Silva, T. Kimura, A. J. Rodrigues, P. Costa, O. Almeida, N. Sousa, A. Takashima.

Stress triggers tau aggregation through dysregulation of the chaperone-mediated

degradation machinery and promotion of apoptosis.

Alzheimer's Association International Conference 2013, Boston, USA. July 13-18, 2013.

3. 国内学会発表

- 1) 前川素子, 木村哲也, 浜崎景, 渡辺明子, 岩山佳美, 大羽尚子, 久野泰子, 文東美紀, 岩本和也, 大西哲生, 豊島学, 大隅典子, 加藤忠史, 高島明彦, 吉川武男.

発達期の脂肪酸欠乏食投与による精神疾患関連遺伝子の発現変化.

Neuro2013 2013 年 6 月 21 日 京都市

- 2) 吉田裕孝

分泌性タウタンパク質の同定と解析

生理学研究所研究会「電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用」2013 年 11 月 13-14 日, 岡崎市

- 3) 吉武 淳

Effect of the novel posttranslational cysteine modification on tau aggregation.

第6回 NAGOYA グローバルリトリート 2014 年 2 月 14 日 愛知県東浦町

4. その他、セミナー等

なし

Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

なし

2. 文部科学省

なし

3. 財団、その他

吉田裕孝, (代表) 200 万円

公益財団法人長寿科学振興財団 平成 25 年度長寿科学研究者支援事業.

タウ病理伝播性細胞外タウの同定とタウを標的とした新規タウオパチー免疫学的治療法の開発

アルツハイマー病研究部

(1) 構成員

部長 柳澤 勝彦(併任)

室長

発症機序解析研究室 飯島 浩一

病因遺伝子研究室 木村 展之

流動研究員

関谷 倫子

上田 直也

研究補助員

近松 幸枝

(2) 平成 25 年度研究活動の概要

本研究部は、アルツハイマー病の成立過程、特にその中核的病理所見であるアミロイド β 蛋白重合による老人斑ならびにタウ蛋白重合による神経原線維変化の形成機序、さらにアルツハイマー病発症基盤であるシナプス機能障害や神経細胞脱落の分子機構の解明を目指している。平成 25 年度の研究活動の概要は以下のとおりである。

病因遺伝子研究室(室長 木村展之)においては、家族性アルツハイマー病の代表的原因遺伝子であるプレセニリンに焦点をあて、未だ解明が十分に行われていない同蛋白の細胞内代謝過程の詳細を明らかにすべく、動物モデルならびに細胞モデルを対象に生化学的解析を推進した。また、孤発性アルツハイマー病の発症危険因子として近年注目されている糖尿病の病的役割について、独自の動物モデルを開発し、神経病理学的ならびに神経化学的検討を開始した。発症機序解析研究室には米国より帰国した飯島浩一が室長として着任し、研究活動開始の体制整備を図った。同研究室においては、アルツハイマー病の脳内でアミロイド β 蛋白が蓄積する分子機構の解明ほか、アミロイド β 蛋白によって神経細胞が傷害される神経細胞生物学的機序の解明、さらには、それらを阻止ないしは緩和する手法の開発を推進する計画である。

病因遺伝子研究室: 木村 展之、上田 直也

老年性エンドサイトーシス障害が APP 代謝系に及ぼす影響の検索と 糖尿病によるアルツハイマー病発症リスク増加メカニズムの解明

近年の遺伝子解析研究により、アミロイド前駆体蛋白 (APP) の retromer 輸送 (エンドソームからトランスゴルジネットワークへと向かう輸送) に関与する SORL1/SorLA/LR11 の遺伝子型とアルツハイマー病発症リスクとの関連性が指摘されている。Retromer 輸送もまたエンドサイトーシスの一環であることから、老年性エンドサイトーシス障害により何らかの影響を受けている可能性が考えられる。

そこで、若齢から老齢までのカニクイザル脳組織を用いて検索を行ったところ、脳内では老化に伴い VPS35 に代表される retromer 因子や SORL1 がエンドソームに蓄積し、トランスゴルジネットワークへの局在性が顕著に低下していることが明らかとなった。

また、既に確立した老年性エンドサイトーシス障害の細胞モデル (軸索輸送モーター蛋白である dynein のノックダウンモデル) を用いた検索の結果、エンドサイトーシス障害が APP やマンノース 6 リン酸レセプターなどの retromer 輸送を阻害することが明らかとなった。これらの結果から、エンドサイトーシス障害はエンドソームとライソゾームの融合を阻害して APP の蛋白代謝を低下させるのみならず、retromer 輸送系をも阻害することでエンドソーム内に不要な APP が蓄積する

原因となることが示唆された。

一方、近年の疫学調査報告により、Ⅱ型糖尿病 (以下、糖尿病) はアルツハイマー病の発症リスクを約 1.5 倍も高めることが明らかとなった。そこで、自然発症的に糖尿病を発症したカニクイザルの脳組織を用いて病理組織学的検索を行ったところ、糖尿病サルの脳内では $A\beta$ の重合が加速化しており、通常よりも早期の年齢群において老人斑の形成が認められた。また、糖尿病サルの脳内では健常個体に比べて各種 Rab GTPase の増加が確認されたことから、糖尿病は老化に伴うエンドサイトーシス障害を増悪することで $A\beta$ の重合を促進し、老人斑形成を加速させていると考えられる。これらの結果から、エンドサイトーシス障害は糖尿病によるアルツハイマー病発症リスク増加メカニズムにも関与している可能性が示唆された。また、カニクイザルに糖尿病を人為的に誘発することができれば、老年性エンドサイトーシス障害を増悪することでより短期間にアルツハイマー病変を形成するモデルサルの開発に繋がる可能性も考えられ、次年度以降はサルを用いた新規アルツハイマー病モデル動物開発研究へと応用展開する予定である。

発症機序解析研究室: 飯島 浩一、関谷 倫子
統合生物学的手法によるアルツハイマー病発症機序の解明と
新規予防・治療法の開発

老年性認知症の最大の原因であるアルツハイマー病は、脳の広範な領域で神経細胞死が起こり、脳が萎縮していく進行性の神経変性疾患です。アルツハイマー病に対する有効な治療法は未だ確立されておらず、超高齢化社会到来による患者数の増加は、深刻な社会・経済問題を引き起こすと予想されます。私たちの研究室は、アルツハイマー病という病気の全体像を分子レベルで明らかにし、その知見に基づいて、効果的な予防・治療法を創出することを目指しています。平成25年9月に飯島・関谷が米国より着任し、11月には近松も加わり、以下の研究を推進する準備を整えました。

アルツハイマー病患者の脳組織では、 β アミロイドと呼ばれるタンパク質が凝集体を形成して沈着しています。 β アミロイドが脳内で異常に蓄積すると、アルツハイマー病になると考えられるため、 β アミロイドを脳内から減らすことがアルツハイマー病の根本的な予防法になると期待されます。しかし、なぜアルツハイマー病患者の脳で β アミロイドが異常に蓄積するのかは不明です。

私たちは、アルツハイマー病になる人の脳の中では、異常な構造を持つタンパク質を検出し、修復・分解・除去する能力が破綻しやすいのではないかと考えています。本年度は、培養細胞を用いた実験により、分泌経路内でのタンパク質品質管理機能の向上により、 β アミロイドの蓄積を減らせる可能性を見いだしました。次年度以降は、これらの発見を、動物モデルを用いて検証し、新

しい観点からのアルツハイマー病予防薬の創出につなげたいと考えています。

一方、最近行われた治験によると、既にアルツハイマー病を発症した患者では、 β アミロイドの蓄積を減らすだけでは症状を改善できないことが示されました。アルツハイマー病患者の症状の進行を止めるためには、脳内で進行中の神経細胞死を抑制する必要があります。私たちは、その過程を抑止するための効果的な創薬ターゲットを網羅的に同定するために、米国マウントサイナイ大学との共同研究による、統合生物学的な研究を行っています。

本年度は、アルツハイマー病患者脳内で起こっている変化を遺伝子レベルで網羅的に検出・解析し、膨大なデータの中から β アミロイドが引き起こす神経細胞死に関わる候補遺伝子を同定しました。今後は動物モデルを用い、候補遺伝子の神経細胞死における役割を調べる予定です。また、当研究センターの治療薬探索研究部と協力し、候補遺伝子に作用する薬を探索することで、アルツハイマー病の発症機序の理解に基づいた新規治療薬の開発に繋げていきます。

研究業績(アルツハイマー病研究部)

I. 論文発表

1. 原著

Mendoza J, Sekiya M, Taniguchi T, Iijima MK, Wang R, and Ando K.
Global analysis of phosphorylation of tau by the checkpoint kinases Chk1 and Chk2 in vitro.
Journal of Proteome Research, 12(6): 2654-65, 2013.

Ichianagi T, Kashiwada Y, Shida Y, Sekiya M, Hatano Y, Takaishi Y, Ikeshiro Y.
Structural elucidation and biological fate of two glucuronyl metabolites of pelargonidin
3-O- β -D-glucopyranoside in rats.
Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(3): 569-78, 2013.

Kimura N, Okabayashi S, Ono F.
Dynein dysfunction disrupts A β clearance in astrocytes via endocytic disturbances.
Neuroreport (2014) 25(7):514-520.

Morihara T, Hayashi N, Yokokoji M, Akatsu H, Silvermana MA, Kimura N, Sato M, Saito Y, Suzuki T, Yanagida K, Kodama TS, Tanaka T, Okochi M, Tagami S, Kazui H, Kudo T, Hashimoto R, Itoh N, Nishitomi K, Kabata-Yamagichi Y, Tsunoda T, Takamura H, Katayama T, Kimura R, Kamino K, Hashizume Y, Takeda M.
Transcriptome analysis of distinct mouse strains reveals kinesin light chain-1 splicing as an amyloid beta accumulation modifier.
PNAS (2014) 111(7): 2638-2643.

Hong S., Ostaszewski B.L., Yang T., O'Malley T.T., Jin M., Yanagisawa K., Li S., Bartels T., Selkoe D.J.
Soluble A β oligomers are rapidly sequestered from brain ISF in vivo and bind GM1 ganglioside on cellular membranes.
Neuron 82, 308–319(2014)

Oikawa N., Hatsuta H., Murayama S., Suzuki A., Yanagisawa K.
Influence of APOE genotype and the presence of Alzheimer's pathology on synaptic membrane lipids of human brains.
J Neurosci Res. 92, 641-650(2014)

2. 総説

なし

3. 著書

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道等

柳澤勝彦

CBCテレビ「イッポウ」、平成 26 年 2 月 26 日、「認知症治療薬開発の現状」
～特集：認知症最前線

6. 特許申請、取得状況

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

柳澤勝彦

アルツハイマー病発症におけるガングリオシドの役割.

第32回日本糖質学会年会, 「ワークショップ “脳・神経・筋疾患と糖鎖”」

2013年8月6日, 大阪

Iijima MK, Sekiya M, Maruko-Otake A, Chin J, and Ando K.

Epigenetic modifications reveal the minimal unit of UPR that promotes ERAD and protects against age-related chronic proteinopathy in the brain.

Keystone conference; Aging - Pushing the Limits of Cellular Quality Control, 平成26年
1月 12-17日, 2014, Steamboat Springs, Colorado, USA

柳澤勝彦

血液を用いたアルツハイマー病発症前診断の可能性.

FIRST 田中 ms³d プロジェクト 一般公開シンポジウム～医療に貢献する次世代質量分析の

現状と展望～ 2014 年 1 月 26 日, 東京

木村展之

老化に伴う細胞内輸送機能の障害とアルツハイマー病態

第47回知覚コロキウム、平成26年3月27～29日、愛知県大府市

2. 国際学会発表

(一般口演)

Sekiya M, Maruko-Otake A, Suzuki E, Ando K & Iijima KM

A novel mechanism by which A β 42 initiates mitochondrial abnormality in the synapse.
The Alzheimer's Association International Conference 2013, 平成25年7月13–18日,
Boston, USA

Iijima KM*, Sekiya M, Maruko-Otake A, Chin J, & Ando K (*Session Chair)

Epigenetic modifications reveal an effective use of the protein quality control system to suppress accumulation and toxicity of A β 42 in the secretory pathway in neurons.
The Alzheimer's Association International Conference 2013, 平成25年7月13–18日,
Boston, USA

(ポスター)

Sekiya M, Maruko-Otake A, Suzuki E, Ando K & Iijima KM

NAD synthase NMNAT is protective against reductions in mitochondrial protein levels and suppresses neurodegeneration in a *Drosophila* model of Alzheimer's disease.
Cell Symposia Mitochondria: from Signaling to Disease, 平成25年5月5–7日, Lisbon, Portugal

Sekiya M, Maruko-Otake A, Ando K, Suzuki E, Iijima MK

A novel mechanism initiating mitochondrial abnormality in the synapses in a *Drosophila* model of Alzheimer's disease.
Keystone conference; Mitochondrial Dynamics and Physiology, 平成26年2月18–23,
Santa Fe, USA

3. 国内学会発表

(一般口演)

山崎泰豊, 小又尉広, 鈴木枝里子, 林永美, 柳澤勝彦, 津田玲生
ショウジョウバエを用いたアルツハイマー病治療薬の定量的評価系.

第 36 回日本分子生物学会年会, 2013 年 12 月 3-6 日, 神戸

Kimura N

Traffic Jam hypothesis: endocytic dysfunction as a risk factor for Alzheimer's disease pathology.

第6回 NAGOYA グローバルリトリート、平成26年2月14～15日、愛知県大府市

(ポスター)

Kimura N, Okabayashi S, Ono F.

Endocytic dysfunction in astrocytes of aged cynomolgus monkey brains.

Neuro2013 (第56回日本神経化学会)、平成25年6月20～23日、京都府京都市

木村展之、岡林佐知、小野文子、上田直也、下澤律浩、保富康宏、柳澤勝彦

Retromer の加齢性局在変化と Dynein 機能障害との関係

第32回日本認知症学会、平成25年11月8～10日、長野県松本市

4. その他、セミナー等

柳澤勝彦

アルツハイマー病: 発症機序と治療薬開発.

第87回 尾道地区内科会, 2013年7月4日, 尾道市

柳澤勝彦

アルツハイマー病研究: 私の PHEOC.

認知症研究を知る若手研究者の集まり 2013, 2013年7月27日, 熱海市

柳澤勝彦

アルツハイマー病の脳内でのできごと.

老年医学サマーセミナー2013, 2013年8月1日, 軽井沢

柳澤勝彦

アミロイド仮説の新展開と先制的治療薬の展望.

Neuroscience for Neurologist, 2013年9月4日, 広島市

柳澤勝彦

糖鎖から探るアルツハイマー病の成立と治療薬開発.

神奈川科学技術アカデミー(KAST)教育研修講座, 2014年1月22日, 川崎市

Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

なし

2. 文部科学省

木村 展之, (分担)200 万円

基盤研究(B)

加齢性病態を再現する孤発性アルツハイマー病モデルマウスの開発と解析

柳澤勝彦 (分担)760万円

脳科学研究戦略推進プログラム

アミロイド蓄積に先行する膜脂質の変動を標的とするアルツハイマー病先制治療薬の開発

3. 財団、その他

飯島 浩一 (代表) 1,845 万円

米国 National Institute of Health, NIH/NIA R01 AG032279

Mechanisms underlying A β 42-induced neuronal dysfunction and degeneration.

飯島 浩一 (代表) 323 万円

米国 National Institute of Health, NIH/NIA U01AG046170

Integrative biology approach to complexity of Alzheimer's disease

柳澤勝彦 (研究責任者) 2,420 万円

最先端研究支援プログラム

次世代質量分析システム開発と創薬・診断への貢献

アルツハイマー病分子病態・治療開発プロジェクトチーム

(1)構成員

プロジェクトリーダー

吉池 裕二

流動研究員

シェイク モヒデエン サハブデエン

(2)平成 25 年度研究活動の概要

アルツハイマー病の克服は人類の主要命題の一つといっても過言ではない。その発症機構について多くの研究がなされてきたものの未だ完全には解明されていない。それでもこの病気の治療薬を求める声は大きく、手探りの中治療薬開発が進んでいる。

アルツハイマー病の脳には老人斑と神経原線維変化という二つの特徴的な病変が見られる。私たちの研究プロジェクトではこれら二つの病理像の関係性を分子レベルで解析することを行ってきた。老人斑の主成分である β アミロイドの作用はタウの代謝機構を介して神経原線維変化形成に影響を与えることが *in vitro* の研究でわかった。こういった研究の経緯からタウの代謝促進による神経原線維変化形成阻害を標的として創薬を目指すこととした。

タウの代謝は様々な機構で制御されている。その一つがオートファジーでありオートファジー促進剤によってタウの代謝が促進されることを培養細胞系で私たちも確認した。オートファジーはタウに限らず生体にとって比較的不要なものを分解してエネルギー源にする機構である。その基質特異性の低さは創薬においては副作用につながりかねな

い要素であり、オートファジー制御による病気の克服を目指す全ての戦略の課題となっている。オートファジーの機構について詳細を調べて標的とするタウだけを分解するように仕向けることが一つのアプローチとして考えられる。一方、オートファジーはもともとエネルギー欠乏時に発動する自食のような生物学的特性であることを鑑みれば、生物の代償機能を誘発するようなアプローチも考えられる。

私たちは以前アロキサンという活性酸素を産生する化合物をタウの遺伝子改変マウスに投与するとタウ病態、特に凝集して不溶化したタウの脳内における蓄積が減少することを報告した。このとき可溶性のタウも減少していたこと、その他の傍証からタウの代謝促進を介した現象ではないかと論じたものの確証は得られなかった。その後活性酸素、すなわち酸化ストレスがオートファジーを促進する機構について全く異なる分野から報告が出た。軽度の酸化ストレスによって生じるタウ病態改善という有益な現象はホーメシスであり、生物の代償機能を誘発するための論理的な戦略と言える。

一般的に、酸化ストレスは生物にとって有害であると言われる。毒性は創薬において真っ先に取捨すべき要素とされる。本研究では活性酸素あるいは高い酸化活性を作用点としているため、毒性が無いあるいは安全性が高いことが知られている既存の化合物を探索した。そのような化合物の一つはメチレンブルーであることがわかった。もともとタウ凝集阻害剤として見つかったメチ

レンブルーは現在、アルツハイマー病治療薬として第 III 相臨床試験が行われている。薬効評価するモデルとしてヒトタウを過剰発現したショウジョウバエを用いることにした。メチレンブルーを餌に混ぜてハエモデルに一ヶ月間与えたところ界面活性剤に不溶性の画分に見られるタウが減少した。また可溶性画分のタウにも減少傾向が見られたことから、メチレンブルー投与は単なるタウタンパク質凝集阻害としてはたらいたわけではないことがわかった。更にメチレンブルー投与はハエモデルにみられる負の重力走性の異常も改善した。これらの結果からメチレンブルーがショウジョウバエモデルにおいてもタウ病態を改善し得る条件が見つかったと考えられる。しかしメチレンブルーを与えたハエの致死率は高く、平均寿命は通常の餌を与えたハエに比べて半分程度であった。また野生型のハエにメチレンブルーを与えると負の重力走性が悪化した。これらの現象はメチレンブルーの毒性を現していると考えられる。メチレンブルーと同様な作用機序を有し、より毒性の低い化合物を探索した。安全性が調べられている高い酸化活性を有する化合物を選択し、ハエモデルに投与したところメチレンブルーほどではないにしろタウの蓄積は減少して負の重力走性もやや改善した。また寿命に与える影響は僅かであり、野生型のハエの負の重力走性には全く影響が見られなかった。この化合物をメチレンブルーに続くような薬剤のシードと位置づけ現在解析を進めている。

アルツハイマー病の原因は確定していないが β アミロイドやタウが発症に関係することは間違いない。これらが創薬の標的として相応しいかどうかはそれらを標的とした薬が

効いて初めて相応しかったと知ることが出来る。メチレンブルーは世界で初めてタウを標的とした薬として開発が進められている。その臨床試験の成功を期待するところであるが、アカデミア発で既存の化合物を開発する方法、結果の分析方法など先駆者から学ぶことは多い。

研究業績(アルツハイマー病分子病態・治療開発プロジェクトチーム)

I. 論文発表等

総説

吉池 裕二：

抗タウ治療薬の現在と未来.

老年精神医学雑誌, 25:76-80, 2014.

吉池 裕二：

タウ凝集制御薬の開発.

認知症の最新医療, 3:133-138, 2013.

II. 学会・研究会等発表等

1. 国際学会発表

Yuji Yoshiike

On the roles of oxidation and oxidative stress in Alzheimer's disease and aging.

1st Annual World Congress of Geriatrics and Gerontology 2013, 10 月 12 日, 大連.

Yuji Yoshiike

In vitro study suggests a pathway connecting Ab and tau.

Society for Neuroscience 2013, 11 月 12 日, San Diego.

2. 国内学会発表

吉池 裕二、シェイク モヒデエン サハブデエン

タウ発現培養細胞を用いた A β からタウにいたる経路の解析

第 32 回日本認知症学会学術集会, 平成 25 年 11 月 10 日, 松本.

3. その他、セミナー等

吉池 裕二

酸化ストレスと抗タウ治療薬

第 17 回認知症を語る会, 平成 26 年 2 月 22 日, 東京.

シェイク モヒデエン サハブデエン

Effects of methylene blue on human tau overexpressing drosophila

第 6 回 NAGOYA グローバルリトリート, 平成 26 年 2 月 14 日, 大府.

吉池 裕二

アルツハイマー病治療薬の展望 タウは新薬の標的となるか？

バイオフィナンスギルド第 11 回セミナー, 平成 25 年 6 月 14 日, 東京.

吉池 裕二

抗タウ治療薬の現在と未来

アルツハイマー病研究会, 平成 25 年 4 月 20 日, 東京.

III. 競争的資金獲得実績

財団、その他

吉池 裕二, (代表) 200 万円 (総額 600 万円)

長寿科学研究者支援事業.

オートファジー制御がタウ病態に与える影響の解析.

創薬モデル動物開発研究プロジェクトチーム

(1) 構成員

プロジェクトリーダー 津田 玲生

流動研究員

小又 尉広

スガーニャ タラセガラン

長寿研医療研究開発費研究員

林 永美

研究補助員・事務補助員

浅井 小百合

藤田 裕美子

鈴木枝里子

(2) 平成 25 年度研究活動の概要

当研究室ではアルツハイマー病 (AD) に対する治療薬の開発を目指して、創薬開発に特化したモデル動物を作製して研究を行っている。平成 25 年度はショウジョウバエを用いてアミロイドベータ ($A\beta$) 蛋白質による神経変性および神経機能低下を簡便にモニターできる解析系の開発を行うとともに、新規マウス AD 解析モデルの評価を行った。

① 神経変性を短時間でモニターできる解析系の開発

ショウジョウバエ複眼に $A\beta$ 42 のアミノ末端がグルタミル化されたタイプの変異 $A\beta$ ($A\beta$ 3Q42) を発現させることにより、経時的に神経変性をモニターすることに成功した (投稿準備中)。この系では $A\beta$ による神経変性効果が約 2 週間で検出で

きることから、現在、この系を用いて $A\beta$ 蛋白質の凝集阻害活性が期待される薬剤の検定を進めている。

② 神経機能低下を短時間でモニターできる解析系の開発

ショウジョウバエ神経細胞に変異型 $A\beta$ 42 を同調的に過剰発現させることにより、負の重力走性異常が約 10 日で観察できる系の確立に成功した。本年度は薬剤の投与法及び表現型の新規検出システムを開発することにより、 $A\beta$ による神経機能低下を抑制する効果のある化合物の検索を開始している。

③ 新規マウス AD 解析モデルの評価

これまでの研究で、 $A\beta$ 42 を内耳有毛細胞で過剰発現する Tg マウスを作製し、聴力低下をモニターすることにより $A\beta$ による神経機能低下を評価できる系を構築した。本年度は、この新規マウス AD 解析モデルの評価を行った。免疫電顕を用いた解析により Tg マウスにおける $A\beta$ 蛋白質の局在を観察したところ、細胞内小胞あるいは膜上における局在が確認された。さらに、Tau 依存性を確認するため、ヒト Tau を内耳有毛細胞で発現するマウス系統を作製した。その結果、Tau と $A\beta$ を同時に発現させたものでは、生後すぐに聴力の著しい低下が観察された。以上の結果から、我々の確立した系がアルツハイマー病の発症に関連した神経機能低下を短時間で経時的かつ定量的に評価できるシステムであることが示唆されている (投稿準備中)。

研究業績(創薬モデル動物開発研究プロジェクトチーム)

I. 論文発表等

1. 原著

Tsuda L and Lim YM.

The regulatory system for the G1-arrest during neuronal development in *Drosophila*.
Dev Growth Diff, *in press*.

Lim YM, Yamasaki Y, and Tsuda L.

Ebi alleviates excessive growth signaling through multiple epigenetic functions in *Drosophila*.

Genes to Cell, 18: 909-920, 2013.

Yagi Y, Lim YM, Tsuda L, and Nishida Y.

fat facets induces polyubiquitination of Imd and inhibits the innate immune response in *Drosophila*.

Genes to Cell, 18: 934-945, 2013.

2. 総説

該当なし

3. 著書、Chapters

該当なし

4. その他

該当なし

5. 新聞・報道等

該当なし

6. 特許申請、取得状況

該当なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

津田 玲生

細胞周期停止後の神経成熟過程におけるダイナミックな転写制御変化の分子機構
第2回細胞周期制御と細胞運命 シンポジウム、平成26年2月13日、浜松

2. 国際学会発表

Tsuda L, Lim YM:

Post-translational modification of Charlatan, a Drosophila NRSF/REST-like repressor, is required for neuron specific genes expression.

2nd Asia Pacific Drosophila Research Conference, May 14, 2013, Seoul, Korea

Lim YM, Omata Y, Yamasaki Y, Tsuda L:

Molecular study of age-related hearing disorders.

54th Drosophila Research Conference, April 3, 2013, Washington DC, USA

3. 国内学会発表

山崎泰豊、小又尉広、鈴木枝里子、林永美、柳澤勝彦、津田玲生
ショウジョウバエを用いたアルツハイマー病治療薬の定量的評価系
第36回日本分子生物学会年会、平成25年12月4日、神戸

津田玲生、山崎泰豊、林 永美

神経成熟過程におけるダイナミックな遺伝子発現変化のメカニズム
第36回日本分子生物学会年会、平成25年12月4日、神戸

小又尉広、山崎泰豊、林 永美、津田玲生

アルツハイマー重篤化メカニズムの解析
第32回日本認知症学会学術集会、平成25年 11 月 9 日、松本

4. その他、セミナー等

該当なし

III. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

該当なし

2. 文部科学省
該当なし

3. 財団、その他
該当なし