

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 9 月 7 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04689

研究課題名(和文)アルツハイマー病の新規発症抑制因子の研究

研究課題名(英文)A novel rescue factor for Alzheimer's disease

研究代表者

松岡 正明(Matsuoka, Masaaki)

東京医科大学・医学部・主任教授

研究者番号：70222297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)およびCalmodulin-like skin protein(CLSP)に関する先駆的な研究を進展させた。基礎研究として、CLSP 阻害分子として複数の阻害タンパク質が阻害活性を示すことを明らかにした。また、AD 発症リスク因子uncoordinated-5Cの変異が引き起こす細胞死経路を明らかにした。前臨床試験で、CLSP transgenic miceと交配実験によりCLSP 高発現によりAD model miceの記憶障害が抑制されることを見いだした。最後に、ヒト髄液内CLSP濃度はADと非AD患者で優位な差を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：The mechanism underlying the Alzheimer's disease (AD) pathogenesis and the detailed regulation of the rescue activity of calmodulin-like skin protein (CLSP) have been addressed. First, multiple CLSP-inhibitors have been identified and their ways of CLSP inhibition have been investigated in detail. The mechanism underlying the neuronal cell death by an uncoordinated-5C variant, an AD risk protein, has been elucidated. Second, it has been shown using CLSP transgenic mice that the overexpression of CLSP antagonizes the synaptic loss and memory impairment in AD model mice. Finally, the concentrations of CLSP in the human cerebrospinal fluids have been shown to be unaffected by the presence of AD.

研究分野：薬理学

キーワード：CLSP humanin アルツハイマー病

## 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は、65 歳以上の人口の約 5-10% が罹患する認知症性神経変性疾患である。発症仮説「amyloid  $\beta$  cascade theory」に基づいて開発された各種 amyloid  $\beta$  標的療法の AD 発症初期罹患患者に対する臨床試験は研究開始時に到るまで成功していない。

申請者のグループは内在性 AD 発症抑制因子 Humanin (HN) を最初に発見し、さらに 2013 年、強力な HN 作用を有する新たな AD 抑制分子 CLSP を発見した (Matsuoka MN 2015 review)。CLSP は HN の活性中心と類似した配列をその中央部に有する、核内ゲノムでコードされる分泌タンパク質で、おもに皮膚組織で産生され、血中に放出され血液循環系を介して、血液脳関門を通過して中枢神経系に到達する。CLSP は  $IC_{50}=10-100$  pM という強力な HN 受容体に対するアゴニスト作用を有し、ヒト血液中や髄液中に作用を発揮するに十分な濃度で存在する。

この研究の直近における更なる展開として、複数の CLSP 結合分子を見出した。これら分子の機能は研究開始時までには十分解明されていなかった。

## 2. 研究の目的

本申請は以上の申請者の AD および CLSP に関する先駆的な発見をさらに発展させ、その知見を最終的に AD の臨床に応用することを目的とした。まず基礎研究として、(1) CLSP および CLSP 結合因子の生物学的機能を検討した。さらに、(2) AD の CLSP シグナル活性化療法に関する前臨床試験を遂行した。この研究項目の具体的な到達目標は、マウス AD モデルにおける CLSP の有効性を確立することであった。最後に、臨床教室と連携して、AD 臨床サンプルを用いて、(3) CLSP とその結合因子の AD における変動の解析を行った (臨床研究)。最後の研究における具体的な到達目標は「発症抑制因子

CLSP の機能低下が AD 罹患患者の中枢神経系で起こっているか否かに結論を与えること」と「CLSP の変動が AD の生化学的早期診断法につながるか否かを見極めること」であった。

## 3. 研究の方法

(1) 基礎研究として、in vitro 神経細胞死モデルなどを駆使して、CLSP と新たに同定したその結合因子の基本的な機能および両者の機能的連関を解析し、これら分子の生物活性の全貌を明らかにする実験を行った。次に、(2) 基礎研究 / 前臨床試験として、transgenic AD 動物モデルなど遺伝子改変動物を駆使して内在性 AD 防御因子の中心的なプレーヤーである CLSP やその結合因子である発現が及ぼす表現系の変化を検討した。最後に、(3) AD 罹患患者由来のサンプル (血液 / 髄液 / 脳組織) を用いて、これら分子の変動が AD 発症に如何に関与するかを確定させる臨床研究を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 基礎研究

阻害物質などの CLSP 活性を修飾する因子を同定し、またその CLSP との結合部位を同定した。また、細胞死アッセイを駆使して活性の詳細を明らかにした。また、CLSP 結合分子の結合強度を測定した。これらの実験により CLSP 結合因子の機能の詳細が判明しつつある (未発表)。

CLSP の機能解析以外に、新たに見つかった UNC5C の引き起こす神経細胞死のメカニズムを解析して、amyloid beta 非依存性に神経細胞死を引き起こす事を解明した (reference 7)。

### (2) 前臨床研究

CLSP transgenic mice を作成して、代表的な AD model mice である APP/PS1 mice と掛け合わせた。その結果、13ヶ月齢の時点における認知症が改善された。その詳細を検討し

たところ、Humanin 受容体の活性化を通じて海馬その他の脳組織の synaptic loss を著名に改善することを見出した。この結果は、CLSP が神経細胞死のみならず、神経機能異常の改善効果も保持している事を示している (Reference 1)。

### (3)臨床試験

CLSP の髄液内濃度を AD 患者とコントロールで検討した。その結果、髄液内濃度は両者で変わらず、3-6 nM の間で分布していた。この結果は CLSP の濃度変化がそのまま AD 発症にリンクしていない可能性が高い事を示唆している。また、同実験により十分量の CLSP がひと中枢神経系に存在している事が証明された (Reference 2)。

### (4) 今後予想される展開

CLSP modifiers 或いはその誘導体を薬剤候補として用いて前臨床研究を遂行する。

## 5 . 主な発表論文等

( 研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線 )

[ 雑誌論文 ] ( 計 7 件 )

(1) Kusakri S, Nawa M, Sudo K, Matsuoka M\*. Calmodulin-like skin protein protects against spatial learning impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. J Neurochem 2018 144:218-233. 査読あり

(2) Hashimoto Y, Umahara T, Hanyu H, Iwamoto T, Matsuoka M\*. Calmodulin-like skin protein is downregulated in human cerebrospinal fluids of Alzheimer's disease patients with apolipoprotein E4; a pilot study using postmortem samples. Neurol Res. 2017 39:767-772. 査読あり

(3) Suzuki H, Matsuoka M\*. hnRNPA1 autoregulates its own mRNA expression to remain non-cytotoxic. Mol Cell Biochem. 2017 427:123-131. 査読あり

(4) Suzuki H, Matsuoka M\*. The Lysosomal Trafficking Transmembrane Protein 106B Is Linked to Cell Death. J Biol Chem. 2016 291:21448-21460. 査読あり

(5) Hashimoto Y, Toyama Y, Kusakari S, Nawa M, Matsuoka M\*. An Alzheimer Disease-linked Rare Mutation Potentiates NetrinReceptor Uncoordinated-5C-induced Signaling That Merges with Amyloid Precursor Protein Signaling. J Biol Chem. 2016 91:12282-93. 査読あり

(6) Suzuki M, Sasabe J, Miyoshi Y, Kuwasako K, Muto Y, Hamase K, Matsuoka M\*, Imanishi N, Aiso S. Glycolytic flux controls D-serine synthesis through glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in astrocytes. Proc Natl Acad Sci U S A 2015 112:E2217-24. 査読あり

(7) Suzuki H, Shibagaki Y, Hattori S, Matsuoka M\*. Nuclear TDP-43 causes neuronal toxicity by escaping from the inhibitory regulation by hnRNPs. Hum Mol Genet. 2015 24:1513-27. 査読あり

[ 学会発表 ] ( 計 7 件 )

(1) Suzuki H, Matsuoka M Dysregulation of hnRNPA1 expression induces ALS-and MSP-linked cytotoxicity 第 89 回日本薬理学会年会 2016 年 3 月 10 日パシフィコ横浜 会議センター

(2)Kusakari S, Nawa M, Sudo K, Matsuoka M. Calmodulin-like skin protein prevents spatial learning impairment of Alzheimer's disease model mice. Society for Neuroscience 2015, SfN's 45th Annual Meeting, Chicago, USA

その他5件

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕0

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究代表者 松岡 正明

(Matsuoka, Masaaki)

東京医科大学・医学部・教授

研究者番号: 70222297

(2)研究分担者 羽生春夫

(Hanyu Haruo)

東京医科大学・医学部・教授

研究者番号: 10228520

(3)連携研究者

( )

研究者番号:

(4)研究協力者

( )