

令和元年6月7日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15476

研究課題名(和文)アルツハイマー病の予防的治療法にむけた毒性A_βコンホマーによる新規診断マーカー

研究課題名(英文) Abeta toxic conformer as a candidate of noble surrogate marker of Alzheimer disease

研究代表者

富所 康志 (Tomidokoro, Yasushi)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：80447250

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)のより良い診断バイオマーカーと根本的治療法の開発のため、A_β分子の立体構造に着目した。第22～23位のアミノ酸残基においてターン構造をもち毒性の高いA_β毒性コンホマーについて、ヒト脳脊髄液(CSF)中の量を測定した。A_β毒性コンホマーオリゴマー/A_β1-42比はAD患者CSFで増加していたが、既に確立されたA_β1-40/A_β1-42比と同程度であった。対照神経疾患例で、A_β沈着の有無にかかわらず毒性コンホマーオリゴマー量とリン酸化タウ量との間に有意な正の相関を認め、A_β沈着前からA_β毒性コンホマーとタウの間に既に何らかの関連が存在する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

当初の目的であるアルツハイマー病診断マーカーとしての意義はまだ見いだせていないが、驚くべきことに対照神経疾患群でA_β毒性コンホマーオリゴマー量とリン酸化タウ量との間に関連が示唆された。特筆すべきは、アルツハイマー病の最初期の病理変化であるヒト脳へのA_β沈着がまだ生じていないと考えられる段階で、A_β毒性コンホマーとリン酸化タウとの間に関連が示唆されたことである。これまで知られていた発症20年前に始まるアルツハイマー病の自然史を更に早期に遡り、それに伴って診断と根本的治療開始時期もこれまで想定されていた時期より更に早めなければならない可能性も示唆された。

研究成果の概要(英文)：The position of the turn structure at Gly25-Ser26 or Glu22-Asp23 in A_β molecules, plays an important role in the toxicity of A_β. Oligomer of toxic A_β conformer, harboring turn structure at Glu22-Asp23, was measured in cerebrospinal fluid (CSF) obtained from Alzheimer type dementia (AD) cases and control neurological disorder cases. A_β toxic conformer oligomer/A_β1-42 ratio was elevated in CSF obtained from AD cases, identical to A_β1-40/A_β1-42.

The amounts of A_β toxic conformer oligomer showed statistically positive correlation with phosphorylated-tau (p-tau) in the control neurological disorder cases regardless of the indication of A_β deposition. Our preliminary study suggested the possible correlation between A_β conformer oligomer and p-tau even before A_β deposition in human brains.

研究分野：神経内科学

キーワード：アルツハイマー病 アミロイドベータ 毒性コンホマー リン酸化タウ 脳脊髄液

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は認知症の代表的な原因疾患の一つである。アルツハイマー病のバイオマーカーの発展に伴い、認知症を発症する前の段階、すなわち、アルツハイマー病の前臨床段階やアルツハイマー病による軽度認知機能障害の段階での生化学的診断が可能となりつつあり、よりよいバイオマーカーと先制的に認知症発症を抑制する治療法の開発が喫緊の課題である。

アルツハイマー病脳では、アミロイド (A) 分子の重合と非線維性低分子重合体 (オリゴマー) の形成がその病態に関して重要であり、引き続いてタウたんぱくの沈着 (タウオパチー) やシナプス・神経細胞の減少を生じると考えられている (アミロイドカスケードとオリゴマー仮説)。この過程において A オリゴマーやタウオリゴマーの神経毒性が重要と考えられている。近年、生体たんぱく質の毒性立体構造の変化の生体内での伝播仮説が実証されつつあり、毒性たんぱく質の制御の重要性が明らかになってきている。一旦消失した神経細胞の再生は困難であり、仮に再生に成功しても神経毒性を有するオリゴマーのコントロールなくして再生した神経細胞の保持は困難であることが予想される。また、一旦喪失した記憶や高次機能の再獲得も困難である。これまでの一連の基礎的・臨床的先行研究から、バイオマーカーによる客観的指標により発症早期ないし発症前の AD を診断し、根本的な疾患修飾療法を行うことが考えられている。特に、初期のアルツハイマー型認知症について、バイオマーカーによって AD 病理最初期の変化である A 沈着を診断しその A を治療標的とするという戦略に基づき、様々な抗 A 抗体療法による認知症発症の二次予防が試みられてきた。更には、より早期の二次予防、ひいては一次予防のためのマーカーと、より安全で安価な次世代の抗 A 療法の開発が必要と考えられた。

A 分子は約 40 アミノ酸残基からなり、中央部 1 か所にヘアピンのごとくターン構造を有する。A の毒性は、N-/C-末端の切断点や重合度以外にターンの位置にも左右される。第 23 位の Asp 残基の修飾やアミノ酸変異はターン形成や凝集性、毒性に影響する。修飾やアミノ酸置換のない野生型でも第 22-23 位にターン (毒性ターン) を有する A は、第 25-26 位にターンを有する A に比べ毒性が強く、A 毒性コンホマーと呼ばれる。京都大学の入江らが新たに開発した毒性ターン特異的マウスモノクローナル抗体は、生体試料中での毒性コンホマーと非毒性コンホマーとの識別を可能とした。毒性コンホマーはアルツハイマー型認知症患者と、老人斑を有するが認知症の明らかでない高齢対照神経疾患患者剖検脳に存在する。脳脊髄液 (CSF) 中の毒性コンホマーは、A が脳へ未だ沈着していないと CSF 中の A₄₂ 測定で推定された若年者にも存在し、更にはアルツハイマー型認知症患者での増加が示唆された。

2. 研究の目的

A 毒性コンホマーの AD 病態における意義はまだ不明であり、加齢や AD 病理形成に関連していつから増加するのかも知られていないため、老人斑やタウ病理といったそれぞれの AD 病理の形成や進展との関連を解明し、その診断マーカーとしての意義を明らかにするとともに、次世代の対毒性たんぱく療法を開発する際の治療標的としての可能性を調査した。

3. 研究の方法

既に確立された CSF 中の A₁₋₄₂, A₁₋₄₀, リン酸化タウ、総タウ測定により生化学的に確認されたアルツハイマー型認知症患者、AD による軽度認知機能障害、対照神経疾患患者から採取し分与された CSF 中の A 毒性コンホマーオリゴマー量を入江らの開発した抗 A 毒性コンホマーオリゴマー特異的モノクローナル抗体 24B3 を採用した特異的 ELISA を用いて測定し、比較検討した。対照神経疾患患者群についても、同様に測定された A₁₋₄₂, A₁₋₄₀, リン酸化タウ、総タウ量に基づいて、更に前臨床期 AD の合併の有無と進展度によって 3 群に分類した。NIA-AA リサーチフレームワークに基づき、A 沈着のない例は A⁻, A 沈着があると判定される例は A⁺, リン酸化タウ上昇により二次性のタウオパチーがあると判定される例は T⁺, 総タウ上昇により神経障害が示される例は、以下 (N)⁺と表記する。繰り返しになるが、アルツハイマー型認知症や AD による軽度認知機能障害例は、すべて A⁺T⁺(N)⁺判定された例のみを採用した。対照神経疾患群は、第 1 群 A-T-(N)⁻, 第 2 群 A⁺T-(N)⁻, 第 3 群 A⁺T⁺(N)⁺に分類した。特発性正常圧水頭症例は、その疾患特異的な A 沈着機序を有する報告があるため本研究から除外した。また、対照神経疾患患者のうち、CSF 所見から A-T+(N)⁺/と判定された例や、CSF の調査の後になって中枢神経系の腫瘍や感染症と判明した例は除外した。

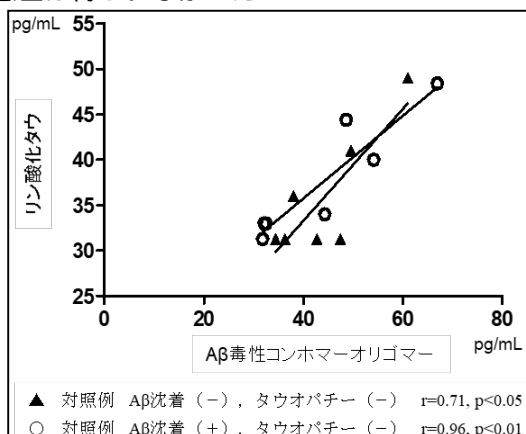
4. 研究成果

CSF 中の A 毒性コンホマーオリゴマー量そのものは、対照神経疾患群とアルツハイマー型認知症群で有意な差がなかった。A 毒性コンホマーオリゴマー/A₁₋₄₂ 比はアルツハイマー型認知症群で上昇していたが、既に確立しこれまで用いられてきた A₁₋₄₀/A₁₋₄₂ 比と同様であった。

更に、A 毒性コンホマーオリゴマー量とタウとの関連を検討した。アルツハイマー型認知症群 (A⁺T⁺(N)⁺) では、A 毒性コンホマーオリゴマー量とリン酸化タウ量や総タウ量との間に有意な相関は見いだせなかった。一方で、対照神経疾患群の検討において、対照神経疾患第 1 群 (A-T-(N)⁻) 並びに対照神経疾患第 2 群 (A-T+(N)⁺) において A 毒性コンホマーオリゴ

マー量とリン酸化タウ量との間に統計学的に有意な正の相関を得た。A 毒性コンホマーオリゴマー量と総タウ量との間には、同様の正の相関の傾向をみたが、症例数が少なく統計的な有意差は得られなかった。対照疾患第3群 (A+T+(N)+) や AD による軽度認知機能障害例では、症例数が少なく有意な結果が得られなかった。年齢と A 毒性コンホマーオリゴマー量との間には、正の相関の傾向がみられたものの統計的な有意差は得られなかった。

以上から、本研究から、ヒト脳における A 毒性コンホマーオリゴマー量とリン酸化タウ量との間に何らかの関連がある可能性が示唆された。アルツハイマー型認知症群で A 毒性コンホマーオリゴマー量とリン酸化タウ量との間に相関がみられなかったのは、既にアルツハイマー型認知症群では二次性のタウオパチーが進展し、リン酸化タウの値が飛びぬけて上昇しているためと考えられた。対照神経疾患群、特に前臨床期 AD を合併していると考えられた群で、A 毒性コンホマーオリゴマー量とリン酸化タウ量との間に関連が見出され、A 毒性コンホマーオリゴマーによる神経毒性が示唆された。更に驚くべき点は、A 沈着がまだ生じておらず脳における AD の組織病理学的変化がまだ形成されていないと推定される例においても、A 毒性コンホマーオリゴマー量とリン酸化タウ量との間に関連が示唆されたことであった。ヒト脳において AD 病理が始まる以前から A 毒性コンホマーオリゴマーが何らかの病的役割を担いリン酸化タウと関連している可能性が示唆された。こうした報告や考え方はこれまでになく今後更に症例数を増やし確認・確立して行くことが必要であるが、AD に対する病態修飾薬の開始時期については、これまでおこなわれたきたよりも更に前倒しの段階で診断し病態修飾薬を開始する必要がある可能性が示唆された。CSF で判定される A 沈着はアルツハイマー型認知症発症より 20 年先駆けて生じる、今回の調査結果は、AD の自然史を更に早期に遡る必要性を示唆する。A 沈着前から A とタウとの間に既に何らかの関連が生じているのであれば、A 沈着によって早期の AD を見つけ出して抗 A 療法を行っても既に手遅れである可能性がある。本研究開始後に行き詰まりをみせた AD の根本的治療薬開発において、その行き詰まりの理由の解明と新たな治療薬開発の糸口になる可能性が示唆された。



なお、本研究で行われた CSF 中の A やタウの調査によって診断され特異な症状を呈した AD の特殊型の症例や、対照神経疾患例の中でも CSF の調査後に中枢神経の腫瘍や感染症と判明して最終的に除外された症例の中でも特殊で学術的に貴重な例については、学会発表や雑誌論文での症例報告を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Zenshi Miyake, Yasushi Tomidokoro, Akira Tamaoka 他 4 名, Intravascular large B-cell lymphoma presenting with hearing loss and dizziness: A case report. *Medicine*(Baltimore), 査読あり, Vol198, e14470, 2019

〔学会発表〕(計 9 件)

富所康志他, 脳脊髄液中の A 毒性コンホマー量とタウの関連, 第 37 回日本認知症学会学術集会, 2018 年

Yasushi Tomidokoro 他, Toxic A conformer and tau in CSF obtained from the cases of AD dementia, a preliminary study. 第 59 回日本神経学会学術大会, 2018 年

富所康志他, 脳脊髄液中の毒性 A コンホマーの測定, 第 36 回日本認知症学会学術集会, 2018 年

大内翔悟他, 富所康志他, 性格変化・行動異常にて発症し、顕著なすくみ足が出現した 60 歳女性例. 第 224 回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2018 年

三宅善嗣, 富所康志他, 無疱疹性帯状疱疹に伴う慢性脊髄炎の 65 歳男性例, 第 639 回日本内科学会関東地方会, 2018 年

Yasushi Tomidokoro 他, Measurement of toxic A conformer in cerebrospinal fluid obtained from the cases of AD dementia. 第 58 回日本神経学会学術大会/ The XXIII World Congress of Neurology, 2017 年

三宅善嗣, 富所康志他, 難聴・めまいで発症し、脳生検にて血管内大細胞型 B 細胞リンパ腫と診断された 66 歳男性例. 第 221 回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2017 年

遠坂直希, 富所康志他, Posterior cortical atrophy を呈し分子イメージングや脳脊髄液バイオマーカーにより診断した Alzheimer 型認知症の 63 歳例, 第 220 回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2017 年

Yasushi Tomidokoro 他, Analysis of toxic A conformer in human CSF. 第 57 回日本神経

学会学術大会，2016年

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：石井 一弘

ローマ字氏名：Ishii, Kazuhiro

所属研究機関名：筑波大学

部局名：医学医療系

職名：准教授

研究者番号（8桁）：70323293

研究分担者氏名：玉岡 晃

ローマ字氏名：Tamaoka, Akira

所属研究機関名：筑波大学

部局名：医学医療系

職名：教授

研究者番号（8桁）：50192183

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：入江 一浩

ローマ字氏名：Irie Kazuhiro

所属研究機関名：京都大学

部局名：大学院農学研究科

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。