

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 7 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07095

研究課題名(和文)非プリン型キサンチン酸化還元酵素阻害剤によるアルツハイマー病新規治療薬

研究課題名(英文)New therapeutic strategy of Alzheimer's disease

研究代表者

加藤 信介 (KATO, Shinsuke)

鳥取大学・医学部・准教授

研究者番号：60194817

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：アミロイドとタウ蛋白の変異遺伝子を導入したアルツハイマー病(Alz)マウスを使用した。新規治療薬としてnon-purine XORI：TEI-6720、対照薬剤としてプリン型(p)XORI：アロプリノール(Allop)、プラセボ：メチルセルロース(MC)を使用した。画期的簡易認知障害評価システムにおいて、Allop群とMC群のAlzマウスは認知症を示した。TEI-6720群のAlzマウスは認知症を改善した。生後2年齢における病理組織学的解析結果において、TEI-6720群はAllop群とMC群との比較において、NFTと大型SPの数が有意に減少していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病への臨床応用によりその効果が確認されれば、患者と介護する家族への貢献度は極めて大である。また、国民の医療・福祉の向上に直接結びつき、社会的貢献度は極めて大きい。更に、社会への経済波及効果は計り知れない。

研究成果の概要(英文)：We elucidated the Alzheimer's disease (Alz) mice with mutant amyloid and tau protein genes. New therapeutic drug non-purine XORI: TEI-6720, a control drug purine type (p)XORI: allopurinol (Allop), and placebo: methyl cellulose (MC) were used. In an epoch-making simple cognitive evaluation system, the Alz mice of the both the Allop and the MC groups showed dementia. By contrast, the Alz mice of the TEI-6720 group significantly improved dementia. Pathological analyses demonstrated that TEI-6720 group showed significant decreases of both the NFT and the large SP, in a comparison with Allop group or the MC group.

研究分野：アルツハイマー病の画期的新規治療薬開発

キーワード：アルツハイマー病 画期的新規治療薬 アルツハイマー病早期発見 キサンチン酸化還元酵素阻害剤 神経変性疾患

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトのキサンチン酸化還元酵素(XOR)は、プリン代謝におけるヒポキサンチンからキサンチン、キサンチンから尿酸の二段階に作用する酵素であり、ほぼ全身の細胞質内に存在する。我々は、これまでに非プリン型 XOR 阻害剤を用いて、筋萎縮性側索硬化症(ALS)モデル動物における ALS 抑制実験と安全性実験に成功、日本・米国・欧州において特許を取得し、論文化(Kato S et al JNEN 2016)している。当該剤は痛風治療薬の医薬として既に使用されていることから、医師主導の ALS 臨床研究の段階にある。剖検症例と ALS モデルマウスとを用いて、変異 SOD1 による運動神経細胞死の機序の一つとして凝集毒性説を Science[Kato S (3 番目) Science 281:1851, 1998]に提唱して以来、本学説は現在では定説化している[Kato S et al Neurodegeneration,2003]。

我々が長年研究してきた非プリン型 XOR 阻害剤の神経難病への医薬化と凝集毒性説の2つの実績は、アルツハイマー病の画期的新規治療薬の開発への道を開くものである。即ち、アルツハイマー病の病因・病態として脳内に アミロイドタンパク(老人斑:SP)とリン酸化タウタンパク(神経原線維:NFT)が蓄積することによって神経細胞死を惹起させることが想定されている。かかる状況下において、我々はヒトのアルツハイマー病の SP と NFT のそれぞれをコードする遺伝子の点変異遺伝子を導入したダブルトランスジェニックマウス: Tg(APP^{SWE:KM670/671NL})2576KhaTg(Prnp-MAPT^{P301L})JNPL3HImcにおいて、ヒトと同じ SP と NFT が生後1年齢より発現することを確認している。我々は、これまでに非プリン型 XOR 阻害剤経口投与が SP・NFT の発現を抑制することを予備実験にて突き止めている。この成果を踏まえて、当該薬剤による SP・NFT 形成抑制に基づく神経細胞死抑制を証明する。

2. 研究の目的

(1) XOR 阻害剤による細胞死抑制効果は前頁の凝集毒性細胞死抑制仮説に示した如く、プリンサルベージ回路の基質とならない非プリン型 XOR 阻害剤はヒポキサンチンがプリンサルベージ回路を介して IMP となり結果として細胞に ATP を供給するというプリン代謝的 ATP 供給効果である[Kato S et al JNEN 2016]。

プリン代謝的 ATP 供給効果: 非プリン型 XOR 阻害剤では、XOR を阻害することによって細胞内で上昇したヒポキサンチンはプリンサルベージ回路を介して IMP となり IMP は増加する。IMP は ATP の前駆体であるので、結果として細胞内 ATP が増加する。1分子の異常蛋白質(図1の SP&NFT)を分解するのに約 400 分子の ATP が消費される[Benaroudj N et al Mol Cell 2003; 11:69]。ヒトの細胞はエネルギーチャージ(EC) $EC = \frac{[ATP] + 0.5[ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$ を 0.8 に保つように設定されている[Mineo I et al N Engl J Med 1987;317:75]ので、ATP の高度低下は EC の破綻をきたし、細胞死を惹起させる。非プリン型 XOR 阻害剤では ATP を容易に供給できる。

(2) 非プリン型 XOR 阻害剤: TEI-6720 は細胞内 ATP 上昇作用と尿酸生成抑制作用の両作用を有する。プリン型 XOR 阻害剤: アロプリノールは尿酸生成抑制作用のみであり、プラセボは両作用ともに有さない。

(3) ヒトに最も近いアルツハイマー病モデルマウス: Tg(APP^{SWE:KM670/671NL})2576KhaTg(Prnp-MAPT^{P301L})JNPL3HImc は生後1年齢より SP・NFT を発現する。臨床応用を見据えて、SP・NFT 出現後の治療実験として700日(2年間)の実験を実施した。対照動物には野生型同腹子マウスを使用した。

(4) 実験期間700日をエンドステージとし、臨床的認知障害抑制効果の解析を行う。当該解析には、我々が独自に開発した病理組織学的根拠に基づく新規日常行動解析法を実施することにより、当該行動解析法から SP・NFT の組織学的出現総数の想定が連日性に可能となった。

(5) 非プリン型 XOR 阻害剤(TEI-6720)、プリン型 XOR 阻害剤(アロプリノール)、プラセボの3群に分けて治療実験を SP・NFT が出現している生後1年齢の当該マウスに対して実施した。

(6) 700日齢の最終病理組織学的解析結果をもって、アルツハイマー病マウスにおける脳内の SP・NFT の出現総数を定量的に決定した。3年間で、SP・NFT 形成抑制に基づく神経細胞死抑制機序を証明し、非プリン型 XOR 阻害剤によるアルツハイマー病新規治療薬の確立とその作用機序を明確化した。

3. 研究の方法

(1) ヒト APP 遺伝子点変異(老人斑:SP)とヒトタウタンパク点変異(神経原線維:NFT)を導入したアルツハイマー病モデルマウスを使用した。

(2) SP・NFT が出現する生後1年齢より非プリン型及びプリン型 XOR 阻害剤を 1.3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{day}$ 経口投与した。

(3) 鳥取大学が独自に開発に成功した、マウス日常行動に基づく簡易認知評価システムを用いて、エンドステージにおける臨床学的認知障害程度を解析した。

(4) 最終寿命の700日齢における病理組織学的解析により、SP・NFT の形成数を定量解析した。

(5) 非プリン型 XOR 阻害剤によるアルツハイマー病進行抑制、SP・NFT 形成抑制の各証明とその抑制機構を明確化した。一群の全実験期間は2年間であった。3群(TEI-6720、アロプリノール、プラセボ)に分け、投薬実験を実施した。

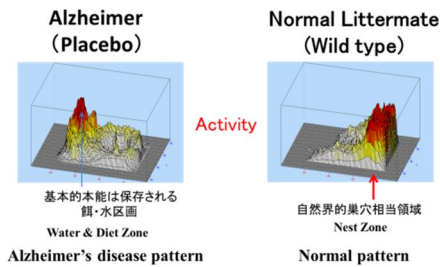
4. 研究成果

非プリン型及びプリン型 XOR 阻害剤とプラセボによるアルツハイマー病マウスにおける臨床的認知障害程度と病理組織所見との統合解析

本研究では、アルツハイマー病モデルマウスのエンドステージにおいて、マウス用簡易認知評価システムによる当該マウスの臨床的認知障害進行経過を解析した。日常行動のうち行動変化 (Activity) のみをもって、当該システムの解析画像化は、700 日齢のアルツハイマー病(図 1:左)と正常のマウスを区別でき(図 1: 右)、前者のパターン画像を示すマウスが認知障害を示すマウスと科学的に定義づけることに成功した。

図 1

The result of activity analyses of Alzheimer mouse and Normal Littermate



病理組織学的解析には、組織化学的(HE・KB 染色)方法及び免疫組織化学的(SP:抗アミロイドベータ抗体、NFT: 抗リン酸化タウ抗体)方法を用いた。定量的分析方法は、顕微鏡にて海馬と扁桃核の全領域にわたって SP 数・NFT 数を測定した。全ての実験解析に関しては、当該研究者達が独立して、二重盲検定として実施した。

キサンチン酸化還元酵素阻害剤(XORI)投与によるアルツハイマー病モデルマウスにおける病理学的改善効果の確認

非プリン型 XORI として TEI-6720 を、プリン型 XORI としてアロプリノールを使用した。TEI-6720 群、アロプリノール群、プラセボ群の 3 群に分け、アルツハイマー病モデルマウスが病理学的発症を迎える生後 1 歳齢時より連日投与を開始した。エンドステージ時における各群の病理解析結果を下記に掲載する。

図 2. エンドステージにおける 3 群の老人斑 (SP) の病理組織学的解析結果

TEI-6720 群はプラセボ群との比較において、大型 SP の数が有意に減少していた。このことから、TEI-6720 では SP の成長が抑制されていたと結論付けることができた。なお、アロプリノール群とプラセボ群との間に有意差は認められなかった。

図 2

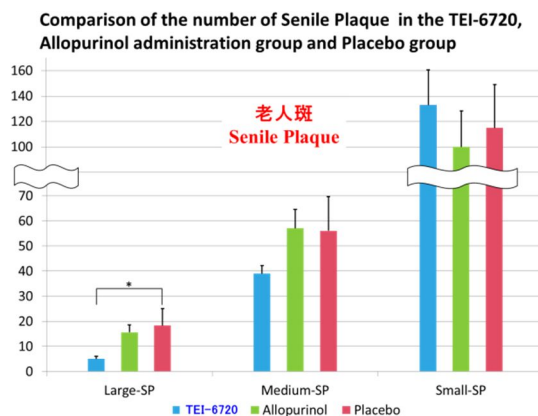
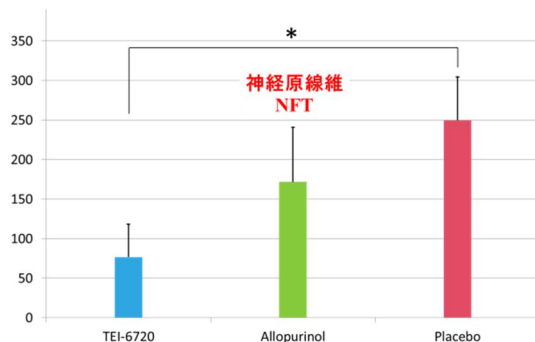


図 3 . エンドステージにおける 3 群の神経原線維 (NFT) の病理組織学的解析結果

TEI-6720 群はプラセボ群と比較し、NFT の数が有意に減少していた。このことから、TEI-6720 では NFT の発現・成長が抑制されていると結論付けることができた。なお、アロプリノール群とプラセボ群との間に有意差は認められなかった。

図 3

Comparison of the number of Neurofibrillary tangle in the TEI-6720, Allopurinol administration group and Placebo group



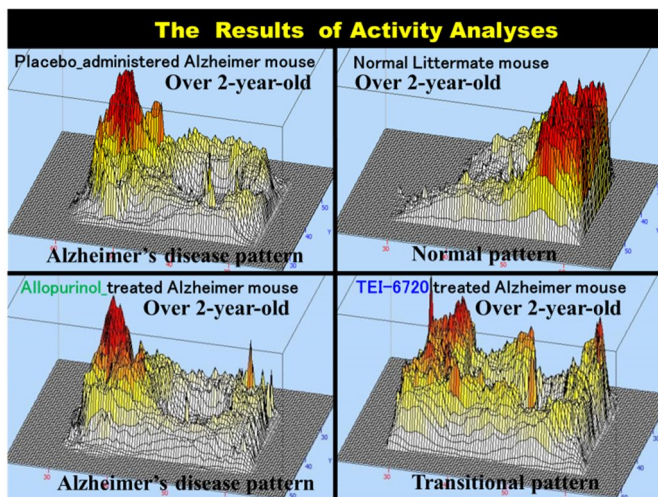
当該病理学的解析の結果、非プリン型 XORI である TEI-6720 は、プラセボ群と比較し、有意な病理組織学的治療効果を示した。

また同時に、プリン型 XORI であるアロプリノール群はプラセボ群との比較において、有意な改善効果を示さなかった。

XORI 投与によるアルツハイマー病モデルマウスの臨床症候学的改善効果の証明

我々が独自開発に成功した、簡易認知機能評価システムを使用し、XORI の臨床症候学的な改善効果の検討を行った。結果を下記に記載する (図 4)。

図 4



簡易認知評価システムを使用した臨床症候学的な検討 (図 4)

アルツハイマー病モデルマウスを TEI-6720 群、アロプリノール群、プラセボ群の 3 群に分けた。さらに、正常対象群としてプラセボ投与の野生型同腹仔マウスを追加し、当該簡易認知評価システムによって各群の評価を行った。

左上：プラセボ投与アルツハイマー病モデルマウス

右上：プラセボ投与正常同腹仔マウス

左下：アロプリノール投与アルツハイマー病モデルマウス

右下：TEI-6720 投与アルツハイマー病モデルマウス

TEI-6720 群は、プラセボ群と正常群の中間的な臨床症候学的結果を示した。

アロプリノール群はプラセボ群と同様の結果を示した。

当該臨床症候学的解析の結果、非プリン型 XORI である TEI-6720 は、プラセボ群と比較し、有意な臨床症候学的治療効果を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kobatake Y, Sakai H, Tsukui T, Yamato O, Kohyama M, Sasaki J, Kato S, Urushitani M, Maeda S, Kamishina H.	4. 巻 372
2. 論文標題 Localization of a mutant SOD1 protein in E40K-heterozygous dogs: implications for non-cell-autonomous pathogenesis of degenerative myelopathy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 369,378
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jns.2016.10.034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sumi-Akamaru H, Etoh M, Yamauchi A, Uehara T, Kakuda K, Obayashi K, Kato S, Naka T, Mochizuki H	4. 巻 38
2. 論文標題 Evidence that glial cells attenuate G47R transthyretin accumulation in the central nervous system.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 11,21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/neup.12412	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 加藤信介	4. 巻 34
2. 論文標題 脳病理解剖をはじめて実施する病理医へ	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 診断病理	6. 最初と最後の頁 152,166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件（うち招待講演 1件／うち国際学会 6件）

1. 発表者名 加藤信介、加藤雅子、西野武士（シンポジウム：招待発表）
2. 発表標題 画期的アルツハイマー病新規治療薬としての非プリン型(nonpurine:np)キサンチン酸化還元酵素阻害剤(XOR1: npXOR1)
3. 学会等名 第52回日本痛風・核酸代謝学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤信介、加藤雅子、西野武士
2. 発表標題 非プリン型キサンチン酸化還元酵素阻害剤 (npXORI) によるアルツハイマー病モデルマウスの臨床症候学的改善効果の証明：アルツハイマー病新規治療薬開発への新戦略
3. 学会等名 第51回日本痛風・核酸代謝学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤雅子、加藤信介、岡本 研、西野武士
2. 発表標題 非プリン型キサンチン酸化還元酵素阻害剤 (npXORI) によるアルツハイマー病モデルマウスの病理組織学的抑制効果の証明：アルツハイマー病新規治療薬開発への新戦略
3. 学会等名 第51回日本痛風・核酸代謝学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kato S, Kato M, Ii M, Kohama H, Yonekura K, Kaida Y, Kato K, Kato K, Nishino T
2. 発表標題 Epoch-making therapy that delays ALS progression in G1H-G93A ALS mice: oral administration of non-purine-analogue xanthine oxidoreductase inhibitors (XORIs)
3. 学会等名 ICN2018: 19th International Neuropathology of Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kato S, Kitao S, Ii M, Kohama H, Yonekura K, Kaida Y, Itaki N, Yasui J, Oda K, Kato K
2. 発表標題 In order to keep neuropathology succession, teaching stuffs of neuropathology should deal with neuroanatomy, clinical clerkship, and clinical office for outpatients, as well as neuropathology.
3. 学会等名 ICN2018: 19th International Neuropathology of Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kohama H, Akazawa Y, Ii M, Yonekura K, Kaida Y, Kato K, Kitao S, Kato M, Funakoshi H, Kato S
2 . 発表標題 Expression of hepatocyte growth factor and c-Met receptor in the anterior horn cells of the spinal cord in the patients with spinal cord injury
3 . 学会等名 ICN2018: 19th International Neuropathology of Congress (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Ii M, Kohama H, Yonekura K, Kaida Y, Kato K, Kitao S, Kato M, Takeuchi T, Kato S
2 . 発表標題 Basic study on the development of simple cognition system and device of the non-learning and non-stress type in the Alzheimer's disease model mouse
3 . 学会等名 ICN2018: 19th International Neuropathology of Congress (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kato M, Kato S, Hayashi K, Kato K, Wardhani L
2 . 発表標題 The expression of CD3, oxidative cytotoxic molecule, and stress response proteins related to degeneration of Purkinje cells in multiple system atrophy, cerebellar type
3 . 学会等名 ICN2018: 19th International Neuropathology of Congress (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Sumi-Akamaru H, Miki Y, Riku Y, Kato S, Wakabayashi K, Yoshida M, Mochizuki H
2 . 発表標題 The accumulation of tyrosine hydroxylase to Lewy bodies in PLA2G6 associated neurodegeneration
3 . 学会等名 ICN2018: 19th International Neuropathology of Congress (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤信介、北尾慎一郎、伊井真広、小浜博司、加藤雅子、西野武士
2. 発表標題 非プリン型キサンチン酸化還元酵素(XOR)阻害剤(XORI)によるALS新規治療薬：臨床応用を見据えて
3. 学会等名 第58回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤信介、北尾慎一郎、伊井真広、小浜博司、赤沢悠依、板木紀久、加藤雅子
2. 発表標題 神経病理学が守備すべき医学教育領域と外来診療への広がり：神経病理学の継承を絶やさないために
3. 学会等名 第58回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊井真広、小浜博司、赤沢悠依、北尾慎一郎、加藤信介、加藤雅子、竹内崇
2. 発表標題 アルツハイマーモデルマウスにおける非学習型非ストレス性の簡易認知機能評価方法の基盤研究
3. 学会等名 第58回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤雅子、加藤信介、林一彦
2. 発表標題 多系統萎縮症(MSA-C)小脳プルキンエ細胞変性過程のCD3・酸化ストレス指標・ストレス応答蛋白による免疫組織化学的検討
3. 学会等名 第58回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤雅子、林一彦、加藤信介、桑本聡史
2. 発表標題 ALSモデル動物の細胞障害からの肝細胞回復過程の経時的形態変化：脊髄前角細胞との比較
3. 学会等名 第106回日本病理学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 隅寿恵、衛藤昌樹、上原拓也、角田深太、山内周、加藤信介、大林光念、中隆、望月秀樹
2. 発表標題 変異トランスサイレチン(G47R)による髄腔内小血管に対する組織障害性
3. 学会等名 第58回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 隅寿恵、別宮豪一、陸雄一、吉田真理、加藤信介、藤村晴俊、望月秀樹
2. 発表標題 PLA2G6関連神経変性における軸索ジストロフィーと鉄沈着との関係
3. 学会等名 第58回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 隅寿恵、別宮豪一、陸雄一、吉田真理、新沢康英、加藤信介、藤村晴俊、望月秀樹:
2. 発表標題 PLA2G6機能不全に伴う軸索ジストロフィーと鉄沈着の関係
3. 学会等名 第11回パーキンソン病・運動疾患コンgres
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okamoto K, Kusano T, Suzuki H, Nishino T, Kato M, Kato S
2. 発表標題 Effect of XOR Inhibitors on Alzheimer Model Mouse
3. 学会等名 BIT's 8th Annual World Congress of NeuroTalk
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sumi-Akamaru H, Beck G, Riku Y, Yoshida M, Fujimura H, Kato S, Mochizuki H
2. 発表標題 Iron accumulation and neuroaxonal dystrophy in PLA2G6 associated neurodegeneration.
3. 学会等名 XXIII World Congress of Neurology
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 加藤信介 (分担執筆)	4. 発行年 2017年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 344
3. 書名 神経機能解剖テキスト	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 動物の行動を評価するための設備及び評価方法	発明者 加藤信介、加藤雅子、竹内崇	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-038614	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	北尾 慎一郎 (KITAO Shinichiro) (60724804)	鳥取大学・医学部・助教 (15101)	
研究分担者	加藤 雅子 (KATO Masako) (80221183)	鳥取大学・医学部・准教授 (15101)	