

令和元年5月29日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15646

研究課題名(和文)脳脊髄液中のアルツハイマー病超早期診断マーカー候補分子GP1の解析

研究課題名(英文)A pre-clinical stage marker for Alzheimer's disease

研究代表者

不破 尚志 (Fuwa, Takashi)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：50570719

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：前年度に引き続き、老人斑蓄積マウスからのサンプリングを実施した。時系列の解析を可能とすべく、広い年齢域(2-100週齢)の個体から15週毎に脳と脳脊髄液を採取した。すべての脳は採取時に生理食塩水で還流して脱血した。脱血により、解析結果に紛れを生じさせる血液由来成分の混入リスクを最小限にした。大脳の半分は、生化学的解析に用いるために凍結保存し、残りは組織学的解析に用いるために4%パラホルムアルデヒド液で固定した。固定脳はパラフィンで包埋したのち切片作成に用いた。生化学と組織学に半脳ずつ用い、それぞれから得られた結果を個体番号で紐づけし活用してゆく今後の解析の基盤を、本研究で整備することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2025年の国内の認知症患者数は700万人になると推計され、認知症の6～7割を占めるアルツハイマー病(AD)の対策は喫緊の課題である。ADの予防や治療が奏功するには神経細胞死の前の確定診断が望ましいが、現在は神経細胞死の進行後でしか診断がつかず、予防などの介入が有効に機能していない。そこで申請者らは、発病の20年前を標的とした早期診断法の開発が必要だと考えた。申請者らは、脳脊髄液中の糖タンパク質GP1が、老人斑にも局在することを発見していたため、本研究では老人斑蓄積マウスでのGP1蓄積および老人斑形成の経時変化を解析し、GP1の早期バイオマーカーとしての可能性を明らかにすることとした。

研究成果の概要(英文)：We planned to analyze a model mouse of Alzheimer's disease, which shows amyloid plaque formation in the brain. To examine age-related change of the plaque formation and a new marker, GP-1, mice were sacrificed every 15 weeks (2-100 weeks), and the brain and cerebrospinal fluid were collected. Prior to sampling, the brain was perfused by phosphate buffered saline to remove blood. After dissection, a half of brain was stored at -80 for biochemical analysis. The other half was fixed in 4% paraformaldehyde and embedded in paraffin for histological analysis. The specimen will be utilized for future research on GP-1 expression in the special relation to plaque formation. The result may be applicable to preclinical diagnosis of Alzheimer's disease.

研究分野：糖鎖生物学、発生生物学、分子細胞生物学

キーワード：認知症 アルツハイマー病 脳脊髄液 糖たんぱく質 モデルマウス バイオマーカー

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

1. 研究開始当初の背景

現在、国内の認知症患者数は 500 万人を越えている。高齢化がさらに進む 2025 年には、認知症患者は 700 万人に達すると推計され、老老介護・認認介護という問題に加え医療保険上の大きな問題ともなりうる。アルツハイマー病は認知症の 6~7 割を占めると考えられているため、アルツハイマー病の対策が喫緊の課題となっている。アルツハイマー病の予防や治療が奏功するには、神経細胞死が起こる前の確定診断が望ましい。しかし、現在は神経細胞死が進行した後にならないと診断がつかず、予防などの介入が有効に機能していない。

2. 研究の目的

このような背景を受けて、申請者らは、プレクリニカル期を標的とした早期診断法の開発が必要であると考えた。申請者らは、すでに、脳脊髄液中に存在する糖タンパク質 GP1 が、部分的に老人斑にも局在することを見出だしていた。そこで、本課題では、アルツハイマー病のモデルとして広く受け入れられている“アミロイド蓄積マウス”における GP1 蓄積および老人斑形成の経時変化を解析し、GP1 の早期バイオマーカーとしての可能性を明らかにすることとした。

3. 研究の方法

加齢に伴う病気の進行を調べるため、モデルマウスから脳と脳脊髄液を経時的に採取する。半脳を生化学的解析に用いる。残りの半脳を組織化学的に解析する。即ち、切片を抗 GP1 抗体や各種レクチンで染色することで、GP1 が脳のどの細胞から産生されるか、また、個体の成長・成熟・老化の各ステージでどのように変化していくかを明らかにする。

4. 研究成果

最終年度は前年度に引き続きモデルマウスからのサンプリングを実施した。サンプリングについては前年度分もあわせて、広い年齢域(2~100 週齢)の個体から 15 週毎に脳と脳脊髄液を採取した。このサンプリングにより時系列の解析が可能となった。すべての脳は採取時に生理食塩水で還流して脱血した。脱血により、血液由来成分の混入リスクを最小限にした。大脳の半分は、生化学的解析に用いるために凍結保存し、残りは組織学的解析に用いるために 4% パラホルムアルデヒド液で固定した。固定脳はパラフィンで包埋したのち切片の作成に用いた。生化学と組織学に半脳ずつ使い、それぞれから得られた結果を個体番号で紐づけし活用する予定である。

申請者は、本年度末でアカデミック・ポジションを離れることになったが、解析の基盤を整備することができた。今後、共同研究者により解析が継続される予定である。

5. 主な発表論文等

(1) Yuta Murakami, Yuka Matsumoto, Kyoka Hoshi, Hiromi Ito, Takashi J. Fuwa, Yoshiki Yamaguchi, Madoka Nakajima, Masakazu Miyajima, Hajime Arai, Kenneth Nollet, Naho Kato, Rie Nishikata, Naohito Kuroda, Takashi Honda, Jun Sakuma, Kiyoshi Saito and Yasuhiro Hashimoto

Rapid increase of “brain-type” transferrin in cerebrospinal fluid after shunt surgery for idiopathic normal pressure hydrocephalus: a prognosis marker for cognitive recovery. *J. Biochem.*, 164(3), 206-213, 2018 doi: 10.1093/jb/mvy0

(2) Eriko Abe, Takashi J. Fuwa, Naohito Kuroda, Yasuhiro Hashimoto, Norihiro Ogawa, Hiroyasu Akatsu, Yoshio Hashizume, and Takashi Honda
Expression of transferrin protein and messenger RNA in neural cells of mouse and human brain tissue. *Neuroscience Letter*, submitted

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号(8桁):

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

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。