

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07426

研究課題名(和文)高齢者の認知症・脳血管障害での「分子制御された細胞死・オートファジ-」包括研究

研究課題名(英文)Comprehensive study of "molecular-controlled cell death and autophagy" in dementia and cerebrovascular disease in the elderly

研究代表者

馬原 孝彦 (TAKAHIKO, UMAHARA)

東京医科大学・医学部・客員教授

研究者番号：70266477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：認知症と脳血管障害は高齢者の2大神経疾患。その真の病態は神経細胞死で「オートファジ-」も関与。オートファジ-は細胞が自身内の不要蛋白質などを分解再利用する作用。Beclin1に14-3-3蛋白質が結合するとオートファジ-は抑制され、HMGB1との結合で活性化する。新知見である、ヒト頸動脈プラーク/脳動脈硬化巣でのBeclin1局在を確認し、14-3-3蛋白質、HMGB1との共局在も確認。Beclin1の制御はオートファジ-制御に関与しうる。前頭側頭型認知症の原因蛋白TDP-43の内頸動脈プラーク・脳動脈硬化巣・慢性期脳梗塞での局在(新知見)、14-3-3蛋白質、HMGB1との共局在(新知見)を確認。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知症と脳血管障害は高齢者の2大神経疾患である。認知症の真の病態は大脳皮質神経細胞死で、脳梗塞では虚血性神経細胞死である。よって両疾患の本質的治療ターゲットは神経細胞死抑制である。最近「オートファジ-」の神経細胞死への関与が指摘された。Beclin-1に14-3-3蛋白質が結合するとオートファジ-は抑制され、HMGB1との結合で活性化する。3物質の共局在の知見はこれまでにないが今回確認した。Beclin1の制御はオートファジ-制御に寄与しうる。前頭側頭型認知症の原因蛋白のひとつであるの脳動脈硬化巣と慢性期脳梗塞での局在を確認した。これは血管性認知症の治療法開発に寄与する

研究成果の概要(英文)：Dementia and cerebrovascular accidents are the two major neurological disorders of the elderly. The true pathological condition is nerve cell death, and "autophagy" is also involved. Autophagy is the action by which cells decompose and reuse unnecessary proteins in themselves. When 14-3-3 protein binds to Beclin1, autophagy is suppressed and activated by binding to HMGB1. We confirmed the new finding, Beclin1 localization in human carotid plaque / cerebral arteriosclerotic lesions, and confirmed co-localization with 14-3-3 protein and HMGB1. Beclin1 control may be involved in autophagy control. Localization of TDP-43, the causative protein of frontotemporal dementia, in internal carotid artery plaque, cerebral arteriosclerosis, and chronic cerebral infarction, 14-3-3 protein, co-localization with HMGB1 confirmed.

研究分野：神経科学 神経病理学 脳神経内科学 脳卒中学

キーワード：血管性認知症 脳血管障害 頸動脈プラーク オートファジ- Beclin1 14-3-3蛋白質 HMGB1 リン酸化 TDP-43

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

認知症と脳血管障害は高齢者の2大神経疾患である。老化により認知症・脳血管障害は深刻な問題となる。認知症の真の病態は大脳皮質神経細胞死で、脳梗塞では虚血性神経細胞死である。最近「分子によって制御された細胞死」と「オ - トファジ - の神経細胞死への関与」が指摘された。しかしヒト脳およびヒト脳血管での、「分子によって制御された細胞死」と「オ - トファジ - の神経細胞死への関与」についての分子病理学的検討は殆どない。この分子病理学的基盤研究は、将来の前記の神経細胞死制御を目的とする介入治療法開発の開始に必須と考える。また、アルツハイマー病(AD)を含む変性型認知症と脳血管の障害(動脈硬化やアミロイド血管症など)の緊密な関連性が指摘された。アミロイド 蛋白の脳よりの排出経路に血管周囲リンパ排水路が同定された。脳動脈硬化による拍動低下がアミロイド 蛋白排泄を阻害する可能性がある。予備研究で前頭側頭型認知症(FTD)で認める TDP-43 の脳梗塞での発現を認めている。認知症と脳血管障害は別々に研究されるが、高齢者では両者の合併が多く包括的分子病理学的検討が必要である。

各種認知症および脳血管障害の病態解明・治療法の現状

(1)アルツハイマー病(AD)治療は、アミロイド仮説に基づくアミロイド 蛋白ワクチン療法が期待されたが、多くの治験で成果が乏しい。一方でアミロイド仮説に関連しない神経細胞死の存在も共同研究者として指摘した。神経細胞死を直接のターゲットとした治療法開発が急務である。

(2)前頭側頭型認知症(FTD)は病態が多様だが、TDP-43 とタウ蛋白(ピック小体)が主要蓄積蛋白である。FTD の治療法はなく、神経細胞死に対する治療法開発が必要である。ピック小体特異的共同蛋白の報告は極めて少ないが、我々は 14-3-3 蛋白 sigma isoform の共同在を報告している。他に TDP-43 と 14-3-3 蛋白 eta isoform の共同在を報告している。

(3)血管性認知症は病態が多様である。脳梗塞の再発予防は行えるが認知機能障害の改善法はない。細動脈硬化に起因する多発ラクナ梗塞性認知症や Binswanger 病での認知機能障害の改善薬剤候補をこれまでに検討している。

(4)脳主幹動脈・頸動脈病変の血管細胞(内膜遊走マクロファ - ジと平滑筋細胞)の細胞死 血管加齢に注目した脳血管障害を発症させるこの病態の分子病理的研究はほとんどない。

2. 研究の目的

核心をなす学術的「問い」は、分子によって制御された神経細胞死が、高齢者ヒト脳で、AD・FTD・血管性認知症・脳血管障害で、起こっているか?もし起こっていればその様式は?分子制御としての治療的介入は出来ないか?である。また、オートファジーは細胞が自身内の不要な蛋白質などを分解し再利用する作用であるが、その分解機構の破綻により異常蛋白質が蓄積し、結果として神経細胞死に関与するか、その再利用障害により新駆細胞維持が困難とな機能不全となるかである。

抗神経細胞死関連蛋白抗体と抗オ - トファジ - 関連蛋白抗体を用い、ヒト剖検脳および手術標本で、それら関連蛋白質の局在および共同在を明らかにし、治療法確立のための基礎データ上記(1)から(4)への対応とする。

3. 研究の方法

抗神経細胞死関連蛋白抗体と抗オ - トファジ - 関連蛋白抗体を用いて、ヒト剖検脳および脳手術標本で、免疫組織学的にその局在を、および共焦点レーザー顕微鏡を用いて、それらと関連物質との共同在を検討する。

4. 研究成果

令和1年度の研究実績

前頭側頭型認知症の原因蛋白のひとつであるリン酸化 TDP-43 の内頸動脈プラ - クおよび主幹脳動脈硬化巣の、マクロファ - ジおよび内膜に浸潤した肥厚平滑筋細胞での局在、および 14-3-3 蛋白、HMGB1 との共同在を論文発表した。このリン酸化 TDP43 の血管組織での局在はこれまでにまったく報告がなく、新知見である。この新規局在の明示は、後述の二つの将来の研究に大きく寄与すると考える。(1)前頭側頭型認知症の画像診断の精度向上に役立つ業績である。将来的に PET スキャンで生体脳でのリン酸化 TDP-43 の局在の可視化が可能となった場合、PET スキャンの解像度はそれほど高くないので、脳実質での局在か、血管での局在かを鑑別する必要があることが、この新知見で明らかとなった。(2)アルツハイマー病での蓄積物であるアミロイドベータ蛋白は、同時に脳血管にも蓄積しアミロイド血管症となり重篤な脳出血の原因となる。リン酸化 TDP-43 も、内頸動脈プラ - クおよび主幹脳動脈硬化巣の、マクロファ - ジおよび内膜に浸潤した肥厚平滑筋細胞に局在しており、リン酸化 TDP-43 も血管障害に関与している可能性が指摘できる。リン酸化 TDP-43 と 14-3-3 蛋白との共同在は、すでに筋委縮性側索硬化症の前角細胞で我々が提示

している。リン酸化 TDP-43 と HMGB1 との共局在は新知見である。14-3-3 蛋白はリン酸化を修飾する作用があり、TDP43 のリン酸化過程の関与している可能性がある。HMGB1 は炎症に関与している。リン酸化 TDP-43 を制御する治療法開発の基礎的データとして意義がある。

令和2年度の研究実績。

(1)Beclin-1 はオートファジ - における中心的な物質の一つである。Beclin-1 複合体が刺激されると、オートファゴソーム形成が促進される。血管障害部位で Beclin-1 が局在しているか（つまりそこでオートファゴソ - ム形成が行われているか）についての報告はほとんどない。Beclin-1 を制御することはオートファゴソ - ム形成を制御に関与する。Beclin-1 に 14-3-3 蛋白が結合するとオートファジ - は抑制され、HMGB1 との結合で活性化するという報告が別々にある。しかし、この3物質が共局在しているかについての知見はこれまでにない。ヒト頸動脈プラ - クと脳動脈硬化巣のマクロファ - ジでの Beclin1 局在を確認し、14-3-3 蛋白、HMGB1 との共局在も確認した。Beclin1 を中心とした「分子制御された細胞死・オートファジ - 」の機構の一部と考えた。Beclin-1 の制御はオートファジ - 制御に直接的に関与しうる。

(2)前頭側頭型認知症の原因蛋白のひとつのリン酸化 TDP-43 の慢性期脳梗塞マクロファ - ジでの局在、14-3-3 蛋白、HMGB1 との共局在の論文を完成させた。昨年度に、リン酸化 TDP-43 の内頸動脈プラ - クおよび主幹脳動脈硬化巣の、マクロファ - ジでの局在を確認し、脳梗塞巣でのマクロファ - ジでも同様に局在しているのではないかと仮説を立て、検証した。これまでに脳梗塞急性期での TDP-43 の局在についての研究は複数あり、結果は局在するという報告と局在しないとの報告があり確定していない。一方で脳梗塞慢性期でのリン酸化 TDP-43 の局在についての検討はこれまでに報告されていない。リン酸化 TDP-43 は慢性期脳梗塞マクロファ - ジでの局在し、14-3-3 蛋白、HMGB1 と共局在していた。将来的に PET スキャンで生体脳でのリン酸化 TDP-43 の局在の可視化が可能となった場合に、留意すべき重要な所見である。また、血管性認知症の機序において、虚血による組織障害の他に、リン酸化 TDP-43 が関与するかについて今後の研究が必要となる。

令和3年度の研究実績。

オートファジ - 抑制因子である Rubicon は、beclin-1 の結合タンパクのひとつである。ヒト頸動脈プラ - クと脳動脈硬化巣のマクロファ - ジでの Rubicon の局在を検討し、顆粒状の局在を確認した。これまでにこの実績の報告はない。動脈硬化巣におけるオートファジ - の抑制系にも Rubicon が関与している可能性が示唆された。脳動脈硬化抑制の基礎的データとして需要でありアテローム血栓性脳梗塞の発症予防と血管性認知症の発症予防に寄与できる可能性がある。論文作成中である。

BRCA1 はゲノム安定性の維持に機能している最近注目度が高い蛋白質である。多機能を有する蛋白で、オートファジ - への関与も示唆されている。ヒト頸動脈プラ - クと脳動脈硬化巣のマクロファ - ジでの BRCA1 の局在を確認した。これまでにこの実績の報告はない。動脈硬化巣におけるオートファジ - またはゲノム安定性の維持に BRCA1 が関与している可能性が示唆された。論文作成中である。

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Umahara Takahiko, Uchihara Toshiki, Hirao Kentaro, Shimizu Soichiro, Hashimoto Takao, Kohno Michihiro, Hanyu Haruo	4. 巻 414
2. 論文標題 Essential autophagic protein Beclin 1 localizes to atherosclerotic lesions of human carotid and major intracranial arteries	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 116836 ~ 116836
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jns.2020.116836	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 -

1. 著者名 Umahara T, Uchihara T, Hirao K, Shimizu S, Hanyu H.	4. 巻 35
2. 論文標題 Phosphorylated TDP-43 localizes to chronic cerebral infarctions in human brains.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histology and Histopathology	6. 最初と最後の頁 1023-1028
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14670/HH-18-235	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 -

1. 著者名 Umahara T, Uchihara T, Hirao K, Shimizu S, Hashimoto T, Akimoto J, Kohno M, Hanyu H.	4. 巻 35
2. 論文標題 Frontotemporal dementia-associated protein "phosphorylated TDP-43" localizes to atherosclerotic lesions of human carotid and main cerebral arteries	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histol Histopathol	6. 最初と最後の頁 159-167
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14670/HH-18-140	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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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	秋元 治朗 (Ziro Akimoto) (10212440)	東京医科大学・医学部・教授 (32645)	

6. 研究組織（つづき）

	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	羽生 春夫 (Haruo Hanyu) (10228520)	東京医科大学・医学部・教授 (32645)	
研究分担者	清水 聡一郎 (Soichiro simizu) (10385031)	東京医科大学・医学部・教授 (32645)	
研究分担者	平尾 健太郎 (Kentaro Hirao) (40516639)	東京医科大学・医学部・講師 (32645)	
研究分担者	河野 道宏 (Michihiro Kono) (50718707)	東京医科大学・医学部・主任教授 (32645)	
研究分担者	橋本 孝朗 (Takao Hasimoto) (60266517)	東京医科大学・医学部・講師 (32645)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関