

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：36102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K11009

研究課題名(和文) ビタミンによる様々な神経変性疾患の早期診断法および予防・治療法の開発

研究課題名(英文) Development of early diagnosis, prevention, and treatment for neurodegenerative diseases by vitamins

研究代表者

末永 みどり (Suenaga, Midori)

徳島文理大学・薬学部・講師

研究者番号：00389181

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：血清中25(OH)ビタミンD(VD)濃度がアルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)及び多系統萎縮症(MSA)患者において低下すること、また、血清中1,25(OH)<sub>2</sub>VD濃度がMSAにおいて低下することを明らかにした。更に、25(OH)VD合成酵素及び1,25(OH)<sub>2</sub>VD合成酵素がPD及びMSAにおいて低下することを明らかにした。これらは、VDやその代謝酵素の血清中濃度測定が、神経変性疾患の客観的・早期診断及び鑑別診断に利用できることを示唆している。更に、脂溶性ビタミン類のうち、β-カロテン、VA、VD<sub>2</sub>、活性型VD<sub>3</sub>及びVKの摂取により、神経変性疾患の予防効果が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知症の主要因であるアルツハイマー病(AD)などの神経変性疾患は、発症前の早期診断や早期治療が重要である。しかしながら、現在のところ、有効かつ客観的な早期診断法や効果的な早期治療法は存在しないため、その確立は急務である。本研究では、血清中25(OH)ビタミンD(VD)値が種々の神経変性疾患の客観的な早期診断法となり得ること、また、血清中1,25(OH)<sub>2</sub>VD値や血清中VD代謝酵素値が鑑別診断法となり得ることを見出した。更に、食物により容易に摂取可能で、神経変性疾患の予防薬の候補として、脂溶性ビタミン類の可能性を見出した。本研究結果が、神経変性疾患の早期発見・早期治療の一助となると考える。

研究成果の概要(英文)：Serum 25(OH) Vitamin D (VD) level were lower in both Alzheimer's diseases (AD), Parkinson's disease (PD) and multiple system atrophy (MSA) than healthy controls (HC). On the other hand, serum 1,25(OH)<sub>2</sub> VD level were lower in MSA than HC, but not in AD and PD. Syntheses of 25(OH)VD and 1,25(OH)<sub>2</sub>VD in serum were lower in MSA and PD than HC, but not AD. This results suggest that the serum 25(OH)VD level could be useful biomarkers of early diagnosis for their disease, and serum 1,25(OH)<sub>2</sub>VD and their synthase levels could be useful for differentiation diagnosis for their disease. The fat soluble vitamins beta-carotene, VD<sub>2</sub>, active form of VD<sub>3</sub> and VKs could be useful components that prevent neurodegenerative diseases.

研究分野：神経薬理学

キーワード：アルツハイマー病 パーキンソン病 多系統萎縮症 プリオン病 脂溶性ビタミン ビタミンD ビタミンD代謝酵素 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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化に伴う認知症患者の増加は、大きな社会問題となりつつある。中でも、神経変性疾患であるアルツハイマー病 (AD) は、認知症の中でも大きな割合を占める。よって、AD の予防や治療は認知症の増加を抑制するためにも重要である。AD 発症前の早期診断や早期治療が重要となるが、現在のところ、有効かつ客観的な早期診断法や効果的な早期治療法は存在しない。AD 以外の神経変性疾患でも同様であり、これらに対する客観的な早期診断法や早期治療法の確立が急務である。

報告者らは、脂溶性ビタミンであるビタミン D 及び E (VD 及び VE) が、AD の原因因子である凝集性ペプチドの  $A\beta$  と結合し、その構造を変化させることを見出した。更に、AD 患者及びその前段階である Mild Cognitive Impairment (MCI) では、健常者と比べて血清中の 25(OH)VD 濃度が低下していることを明らかにしている。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、発症前でも検出できる神経変性疾患の早期診断法としての VD の可能性を見出すため、パーキンソン病 (PD) や多系統萎縮症 (MSA) 患者の血清中 VD 濃度の測定を行う。また、様々な神経変性疾患の予防及び早期治療薬としての脂溶性ビタミン類の可能性を見出すため、神経変性疾患の原因因子である種々の凝集性タンパク質と脂溶性ビタミン類との相互作用を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) PD 及び MSA 患者における血清中ビタミン D 濃度の変化

福岡大学病院神経内科に通院中の PD 患者 27 名 (女性 18 名、男性 9 名) MSA 患者 19 名 (女性 10 名、男性 9 名) 及び健常人 (HC) 61 名 (女性 28 名、男性 33 名) の血清中の 25(OH)VD 及び 1,25(OH)<sub>2</sub>VD 濃度を測定した。血清中の 25(OH)VD 及び 1,25(OH)<sub>2</sub>VD 濃度は、ELISA 法により測定を行った。

### (2) AD、PD 及び MSA 患者における血清中ビタミン D 代謝酵素濃度の変化

福岡大学病院神経内科に通院中の AD 患者 20 名 (女性 10 名、男性 10 名) PD 患者 19 名 (女性 10 名、男性 9 名) MSA 患者 20 名 (女性 11 名、男性 9 名) 及び健常人 (HC) 20 名 (女性 11 名、男性 9 名) の血清中のビタミン D 代謝酵素 (25(OH)VD 合成酵素、1,25(OH)<sub>2</sub>VD 合成酵素及び 1,25(OH)<sub>2</sub>VD 不活化酵素) 濃度は、ELISA 法により測定を行った。25(OH)VD 合成酵素は CYP2R1 と CYP27A1、1,25(OH)<sub>2</sub>VD 合成酵素は CYP27B1、1,25(OH)<sub>2</sub>VD 不活化酵素は CYP24A1 である。

### (3) 凝集性タンパク質と脂溶性ビタミン類との相互作用

凝集性タンパク質として、PD 及び MSA の原因因子である  $\alpha$ -シヌクレイン ( $\alpha$ -Syn)、プリオン病の原因因子である正常プリオンタンパク質 (PrP<sup>c</sup>) 及び筋委縮側索硬化症 (ALS) の原因因子である TAR DNA-binding protein of 43 kDa (TDP-43) の 3 種類のリコンビナントタンパク質を用い、Biacore3000 による表面プラズモン解析により、各種脂溶性ビタミンとの相互作用を検討した。

### (4) 脂溶性ビタミン類による $A\beta$ 40 の凝集性抑制作用

$A\beta$  はその凝集時に  $\beta$ -シートを形成することを利用して、各種脂溶性ビタミンの  $A\beta$  の凝集性に対する影響を検討した。 $A\beta$ 40 と各種脂溶性ビタミンを混和して 37 °C、1 時間反応後、Thioflavin-T 法により  $A\beta$ 40 の  $\beta$ -シート形成を検出した。

### (5) 脂溶性ビタミン類による $\beta$ -セクレターゼ阻害作用

$A\beta$  は、 $A\beta$  前駆体タンパク質 (APP) が  $\beta$ -セクレターゼ (BACE-1) 及び  $\gamma$ -セクレターゼにより生成される。本研究では、人工基質を用い、BACE-1 活性に対する脂溶性ビタミン類の影響を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) PD 及び MSA 患者における血清中ビタミン D 濃度の変化

血清中 25(OH)VD 濃度は、PD 及び MSA 患者では HC よりも有意に低下した。(図 1A)。一方、血清中 1,25(OH)<sub>2</sub>VD 濃度は、AD では HC と有意差はなかったが、PD 患者では HC よりも上昇傾向にあり、逆に MSA 患者では優位に低下した (図 1B)。これらの結果には、性差はなく、男女共に同様であった。本研究課題以前に、報告者らは、AD 患者と MCI の血清中 25(OH)VD 濃度が HC に比べて低下するが、血清中 1,25(OH)<sub>2</sub>VD 濃度は HC と同程度であることを報告している。本研究課題の結果と以前の結果より、血清中 25(OH)VD 濃度が神経変性疾患の早期・客観的診断に利用可能であり、血清中 1,25(OH)<sub>2</sub>VD 濃度が鑑別診断に利用可能であることが示唆された。

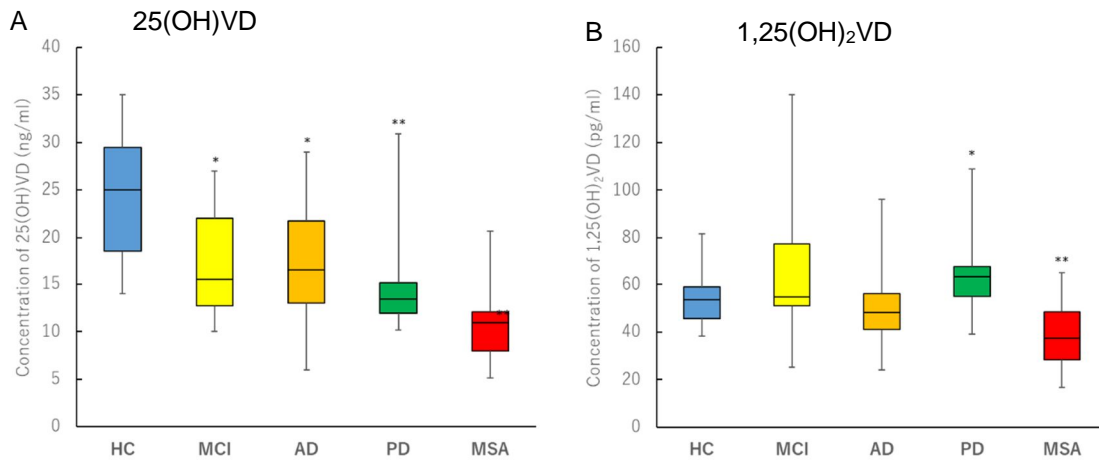


図 1 血清中 VD 濃度の変化

### (2) AD、PD 及び MSA 患者における血清中ビタミン D 代謝酵素濃度の変化

25(OH)VD 合成酵素の主酵素である CYP2R1 の血中濃度は、いずれの疾患においても HC との有意差は見られなかったが、副酵素である CYP27A1 の血中濃度は、PD 及び MSA は HC よりも有意に低下した (図 2A)。また、MSA における CYP27A1 の血中濃度は、AD よりも有意に低値を示した (図 2A)。1,25(OH)<sub>2</sub>VD 合成酵素 CYP27B1 では、そのアイソフォームである CYP27A1 と同様の結果が得られた (図 2B)。1,25(OH)<sub>2</sub>VD 不活化酵素 CYP24A1 は、いずれの疾患においても HC との有意差は見られなかった。以上の結果より、AD、PD 及び MSA の血清中(OH)VD 濃度の低下には、その合成酵素である CYP27A1 が関与していることが示唆された。また、MSA の血清中 1,25(OH)<sub>2</sub>VD 濃度の低下には、その合成酵素である CYP27B1 が関与していることが示唆された。

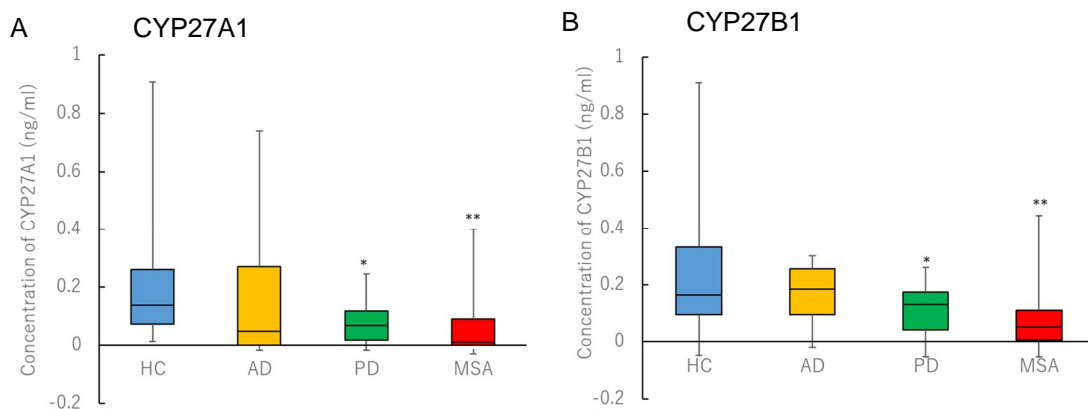


図 2 血清中 VD 代謝酵素の変化

### (3) 凝集性タンパク質と脂溶性ビタミン類との相互作用

脂溶性ビタミンのうち、VA、VD<sub>2</sub> 及びβ-carotene は、いずれの凝集性タンパク質とも相互作用を示した (図 3A~C)。また、VK<sub>5</sub> は、PrP<sup>c</sup> 及び TDP-43 と相互作用を示した (図 3A、C)。更に、PrP<sup>c</sup> に対し、VD<sub>2</sub> は水酸化基の増加とともに相互作用が低下したが (図 3D)、VD<sub>3</sub> は水酸化基の増加とともに相互作用が上昇した (図 3E)。これは、他の凝集性タンパク質でも同様であった。以上の結果から、VA、VD<sub>2</sub>、VK<sub>5</sub> 及びβ-carotene は凝集性タンパク質と結合し、その凝集性に影響を与える可能性が示唆された。また、VD<sub>3</sub> の水酸化体の凝集性タンパク質との結合性と神経変性疾患におけるこれらの血中濃度の変化との相関性が示唆された。

### (4) 脂溶性ビタミン類による Aβ40 の凝集抑制作用

脂溶性ビタミン類のうち、VK<sub>5</sub> は濃度依存的に Aβ40 のβ-シート形成を有意に抑制した (図 4)。この結果より、VK<sub>5</sub> は Aβ凝集を抑制して AD の発症を予防する可能性が示唆された。

### (5) 脂溶性ビタミン類による BACE-1 阻害作用

3 種類の脂溶性ビタミン VK<sub>1</sub>、VK<sub>2</sub> 及び VK<sub>3</sub> は、10 μM で BACE-1 活性を低下させた (図 5)。この結果より、これらの VK 類は、BACE-1 を阻害することにより Aβ産生を抑制して AD の発症を予防する可能性が示唆された。

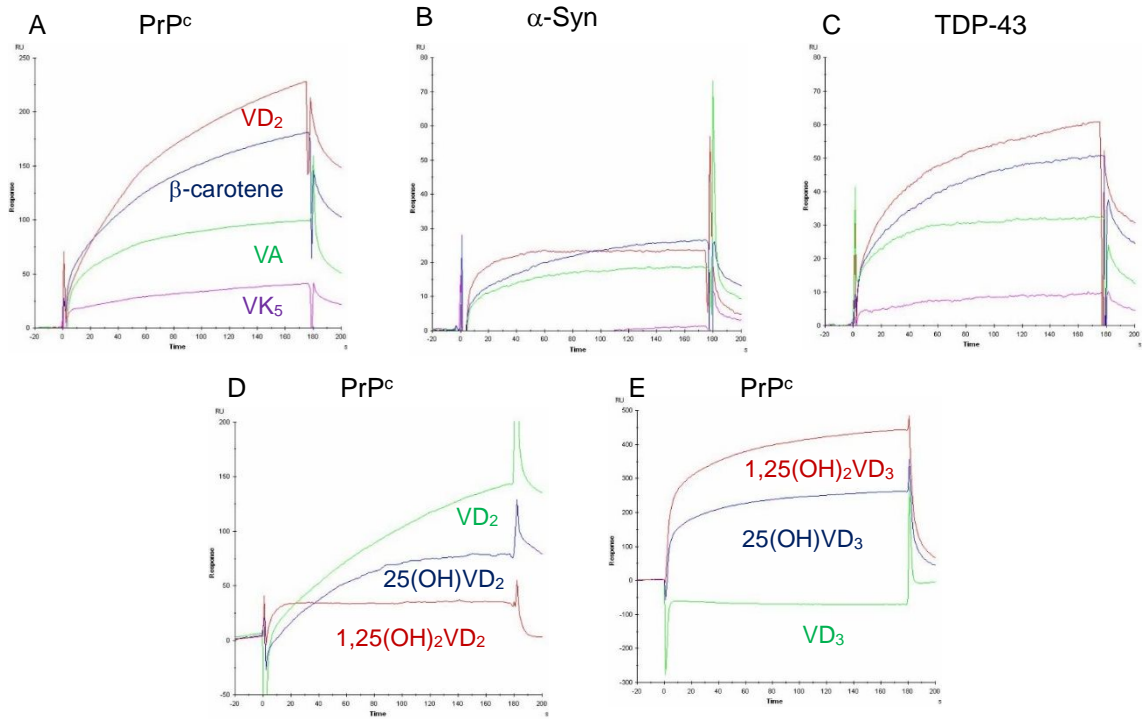


図3 脂溶性ビタミン類と凝集性タンパク質との相互作用

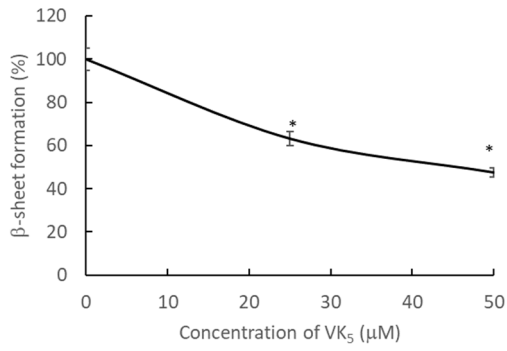


図4 VK<sub>5</sub> による Aβ<sub>40</sub> のβ-シート形成抑制

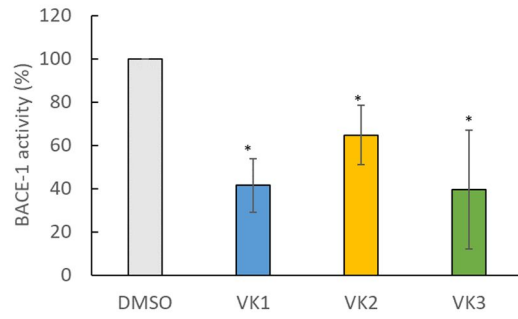


図5 VKによるBACE-1阻害作用

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kakimoto Asako, Ogura Hiromu, Suenaga Midori, Mishima Takayasu, Fujioka Shinsuke, Ouma Shinji, Matsunaga Yoichi, Tsuboi Yoshio	4. 巻 7
2. 論文標題 Role of cytochrome P450 for vitamin D metabolisms in patients with neurodegenerative disorders	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 100162 ~ 100162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.prdoa.2022.100162	査読の有無 無
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 Ogura Hiromu, Hatip-Al-Khatib Izzettin, Suenaga Midori, Hatip Funda Bolukbasi, Mishima Takayasu, Fujioka Shinsuke, Ouma Shinji, Matsunaga Yoichi, Tsuboi Yoshio	4. 巻 25
2. 論文標題 Circulatory 25(OH)D and 1,25(OH)2D as differential biomarkers between multiple system atrophy and Parkinson's disease patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eNeurological Sci	6. 最初と最後の頁 100369 ~ 100369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ensci.2021.100369	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 Mishima Takayasu, Fujioka Shinsuke, Morishita Takashi, Inoue Tooru, Tsuboi Yoshio	4. 巻 11
2. 論文標題 Personalized Medicine in Parkinson's Disease: New Options for Advanced Treatments	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Personalized Medicine	6. 最初と最後の頁 650 ~ 650
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jpm11070650	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ogata Toshiyasu, Shimada Hirofumi, Inoue Tooru, Takeshita Sho, Tsuboi Yoshio, Uesugi Noriko, Fujiwara Mika, Sata Masataka, Yamada Hirotsugu	4. 巻 47
2. 論文標題 Quantification of Carotid Plaque Histology Using iPlaque Software	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ultrasound in Medicine & Biology	6. 最初と最後の頁 928 ~ 931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.12.002	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 Deshimaru Manami, Kinoshita-Kawada Mariko, Kubota Kaori, Watanabe Takuya, Tanaka Yasuyoshi, Hirano Saito, Ishidate Fumiyoshi, Hiramoto Masaki, Ishikawa Mitsuru, Uehara Yoshinari, Okano Hideyuki, Hirose Shinichi, Fujioka Shinsuke, Iwasaki Katsunori, Yuasa-Kawada Junichi, Mishima Takayasu, Tsuboi Yoshio	4. 巻 22
2. 論文標題 DCTN1 Binds to TDP-43 and Regulates TDP-43 Aggregation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3985 ~ 3985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22083985	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takeshita Sho, Ogata Toshiyasu, Arima Hisatomi, Tsuboi Yoshio	4. 巻 204
2. 論文標題 Proposed definition for young-onset ischemic stroke according to its cause	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Neurology and Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 106595 ~ 106595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clineuro.2021.106595	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 Kubo Makoto, Aiba Ikuko, Shimohata Takayoshi, Hattori Nobutaka, Yoshida Kazuto, Unno Yoshiko, Yokoyama Kazumasa, Ogawa Takashi, Kaseda Yumiko, Koike Ryoko, Shimizu Yuko, Tsuboi Yoshio, Doyu Manabu, Misawa Sonoko, Miyachi Takafumi, Toda Tatsushi, Takeda Atsushi	4. 巻 61
2. 論文標題 Burnout in Japanese neurologists: comparison of male and female physicians	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Rinsho Shinkeigaku	6. 最初と最後の頁 219 ~ 227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5692/clinicalneuroi.cn-001569	査読の有無 無
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 Fujioka Shinsuke, Morishita Takashi, Takano Koichi, Takahashi Nobutaka, Kurihara Kanako, Nishida Akihiro, Mishima Takayasu, Suenaga Midori, Matsunaga Yoichi, Tsuboi Yoshi	4. 巻 423
2. 論文標題 A novel diagnostic marker for progressive supranuclear palsy targeting atrophy of the subthalamic nucleus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 117366 ~ 117366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2021.117366	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 Inoue Kenichi, Fujioka Shinsuke, Nagaki Koichi, Suenaga Midori, Kimura Kazuki, Yonekura Yukiko, Yamaguchi Yoshiki, Kitano Kosuke, Imamura Ritsuko, Uehara Yoshinari, Kikuchi Hitoshi, Matsunaga Yoichi, Tsuboi Yoshio	4. 巻 4
2. 論文標題 Table tennis for patients with Parkinson's disease: A single-center, prospective pilot study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 100086 ~ 100086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.prdoa.2020.100086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujioka Shinsuke, Yoshida Ryoko, Nose Kanako, Hayashi Yuka, Mishima Takayasu, Fukae Jiro, Kitano Kosuke, Kikuchi Hitoshi, Tsuboi Yoshio	4. 巻 53
2. 論文標題 A new therapeutic strategy with istradefylline for postural deformities in Parkinson's disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurologia i Neurochirurgia Polska	6. 最初と最後の頁 291 ~ 295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5603/PJNNS.a2019.0036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 井上 賢一、藤岡 伸助、長城 晃一、末永 みどり、木村 一喜、米倉 有希子、山口 良樹、北野 晃祐、今村 律子、上原 吉就、菊池 仁志、松永 洋一、坪井 義夫
2. 発表標題 パーキンソン病患者に対する卓球リハビリテーション療法の有効性および安全性の検討
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

〔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	松永 洋一  (Matsunaga Yoichi)  (80239053)	徳島文理大学・薬学部・教授    (36102)	現 福岡大学医学部客員教授

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	坪井 義夫  (Tuboi Yoshio)  (90291822)	福岡大学・医学部・教授    (37111)	

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