

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：25503

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07014

研究課題名(和文)新規アルツハイマー病薬開発に向けた脳内アミリン受容体信号の研究

研究課題名(英文) Brain amylin receptor signaling as novel therapeutic targets for alzheimer's disease.

研究代表者

木村 良一 (KIMURA, Ryoichi)

山陽小野田市立山口東京理科大学・共通教育センター・准教授

研究者番号：20343022

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)：アルツハイマー病(AD)は糖尿病患者が患う確率が高く、第3の糖尿病とも言われるが、その理由は明らかではない。本研究では糖尿病患者から特異的に抽出されたアミリンが、脳内で認知機能にどのような影響を及ぼすかを、遺伝子改変マウスを用いて詳細に調べた。その結果、本研究は分子レベルでの非臨床試験により、カナダとの国際共同研究は2020年にノーベル生理学医学賞を受賞された Michael Houghton 教授との、大きな創薬プロジェクトに発展した。また、コロナ禍で計画は遅れたが、国内でもさまざまな高次脳機能計測を行い、脳内アミリン研究の拠点づくりに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病(AD)は、超高齢社会を迎えて久しい日本にとって、その克服は避けて通れない大きな社会問題である。しかし未だ対処療法的な治療薬がなく、その発症機構も明らかになっていない。ADは老化に伴う疾患であるため、発症以前に他のどのような疾患歴があったかは、病因解明にむけて検討に値する。ADの罹患率が高いということは、ADと何らかの関連性があることが考えられ、糖尿病もそのような疾患の1つである。アミリンはインシュリンに先んじて2型糖尿病患者から最初に特異的に抽出されたペプチドホルモンであり、本研究によってADとの関連が明らかになった。引き続き精力的に研究を続け、ぜひ創薬につなげたい。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer's disease (AD) has a high incidence in diabetic patients and is called to be the third type of diabetes, but the reason for this is not clear. In this study, we investigated in detail how amylin, specifically extracted from diabetic patients, affects cognitive function in the brain using transgenic model mice. As a result, this research has developed into a large drug discovery project with Prof. Michael Houghton, who won the Nobel Prize in Physiology or Medicine in 2020, through non-clinical testing at the molecular level. In addition, although the plan was delayed due to the corona disaster, various higher brain function measurements were performed in Japan, and the base for research on brain amylin was established.

研究分野：神経生理学

キーワード：アルツハイマー病 アミリン アミロイドベータ 糖尿病 遺伝子改変マウス 5XFAD

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は糖尿病患者が患う確率が高く、第3の糖尿病とも言われるが、その理由は明らかではない。研究代表者はカナダ・アルバータ大学との国際共同研究を行い、糖尿病患者から特異的に抽出されたアミリンと、ADの原因とされるアミロイドベータとの両方が、脳内のアミリン受容体を通して認知機能を低下させることを発見した ()。

本研究では、そのアミリン受容体が脳内でどのような影響を及ぼすかを、遺伝子改変マウスを用いて詳細に調べた。

2. 研究の目的

本研究課題は現代の飽食に起因する生活習慣病である糖尿病が、認知機能にも悪影響を与える明らかな証拠であり、社会的意義は大きい。研究代表者が勤務する山口東京理科大学を脳内アミリン研究の日本での研究拠点とし、この課題を国内外との共同研究を通して創薬に繋げることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では具体的に、1. 脳内アミリン受容体信号を制御する受容体結合物質 (リガンド) の構造解析、2. 脳内アミリン受容体信号による海馬認知機能低下のメカニズムの解明、を軸に研究を進めた。

1. は研究協力者であるカナダ・アルバータ大学のジャック・ジャマングス教授との国際共同研究を行った。特に電気生理学的手法を中心に薬の設計・精製をして最適化する新しい創薬手法を開発し、特許を取得するに至った ()。また 2. は、国内の研究分担者 (京都大学 井上明男、東京大学 伊藤公一、東京慈恵会医科大学 山澤徳志子) らと、電気生理学的手法、蛍光イメージング、マウス行動実験、小動物用 MRI など駆使して行った。

4. 研究成果

(1) アミリン受容体遮断薬の断片による記憶障害の改善 ()

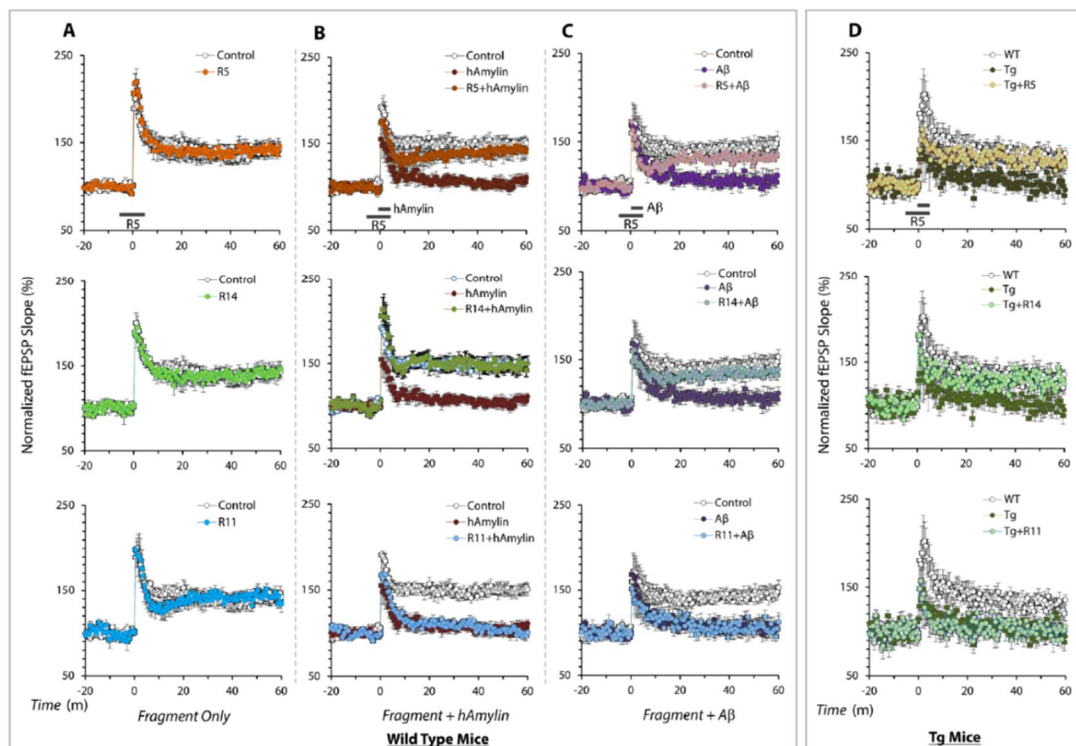


図1 断片R5、R14、R11の存在下におけるマウス海馬スライス標本の長期増強試験
時間0において高頻度刺激して長期増強を誘発。DにおけるTgは、アルツハイマー病モデルマウス5XFAD

アミリン受容体阻害剤 AC253 は、A 及びアミリンの海馬長期増強を抑制し、アルツハイマー病 (AD) モデルマウスの認知機能低下を回復させた。しかし AC253 はペプチドでありサイズが大きく、脳まで投薬することは容易ではない。本研究では創薬に向けて、AC253 のどのサイトが最も効果があるかを調べるために、AC253 の断片を作成して詳細に調べた。その結果、最も重要である断片の共通部分を精査することができた (図1, 2)。その後、このカナダとの国際共同研究は、2020年にノーベル生理学医学賞を受賞された Michael Houghton 教授との大きな創薬プロジェクトに発展した。

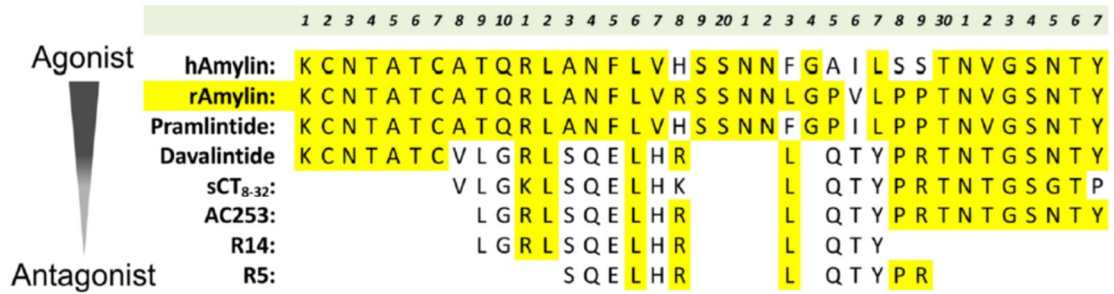


図2 各ペプチドのアミノ酸配列の比較

hAmylin: ヒトアミリン、Pramlintide: アミリンの合成アナログ、AC253: アミリン受容体遮断薬

(2) 遺伝的に3型アミリン受容体数を半減させたマウスと、ADモデルマウスとを掛け合わせたマウスの研究 ()

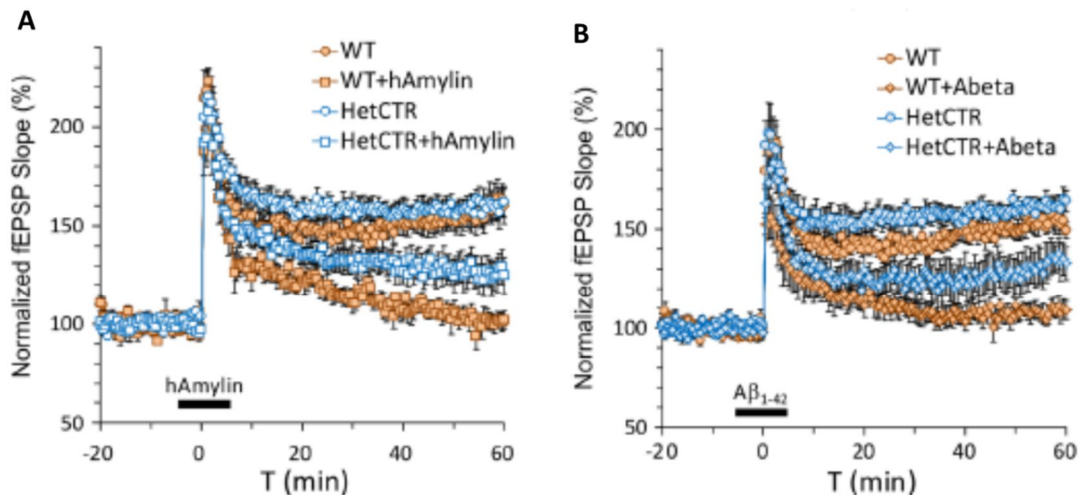


図3 アミリン受容体が半減したHetCTRマウスにおけるマウス海馬スライス標本の長期増強試験

クラス B の G タンパク質共役受容体 (GPCR) であるアミリン受容体は、アミロイド ペプチド (A) をリガンドとするアルツハイマー病 (AD) の潜在的なモジュレーターである。しかし、過去の薬理的アプローチでは、この受容体の活性化と遮断のどちらがより大きな治療効果をもたらすのかは解決できなかった。本研究では、ADモデルマウスと、アミリン受容体を半減させたマウス (図3) とを掛け合わせ、その認知機能を計測した。これらの複合トランスジェニック AD マウスは、アミリン受容体の遺伝的枯渇と一致して、ヒトアミリンおよび A 誘発性の海馬長期増強 (LTP) 抑制に対する反応の減弱を示した (図4)。また、AD マウスと比べて LTP 応答と空間記憶 (モリス水迷路で測定) の両方が改善されており、アミロイド斑と神経炎症マーカーの両方の減少も観察された。我々のデータは、アミリン受容体のアンタゴニストのさらなる開発の重要性の高さを裏付けた。

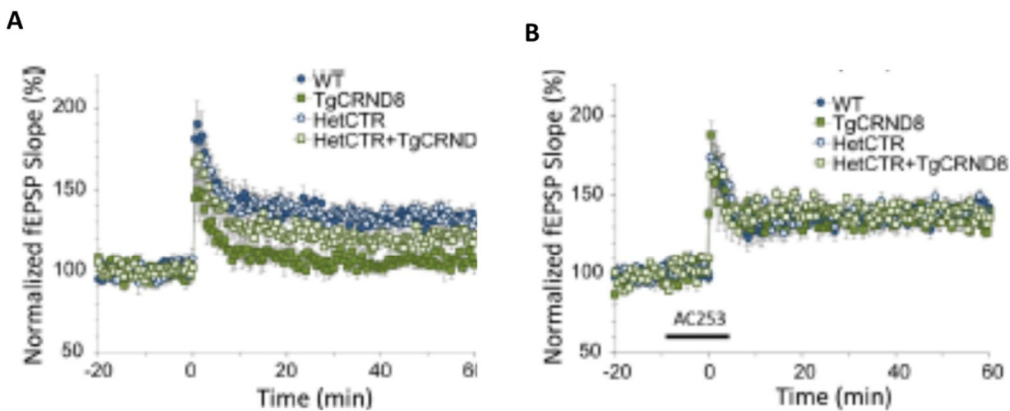


図4 ADモデルマウスとHetCTRマウスを掛け合わせた複合トランスジェニックADマウスによるマウス海馬スライス標本の長期増強試験

(3) 国内における脳内アミリンの研究 ()

研究分担者である東京大学の伊藤公一准教授と東大牧場にて、AD モデルマウスの行動試験を立ち上げた。現在、恐怖条件付け試験と長時間暗視野観察の機器の設置が終わり、測定を開始したところである。また、設置済みの広角蛍光顕微鏡 (MiCAM02: BrainVision 社) を用いた脳スライス標本での海馬と大脳との連携計測を行った。5XFAD マウスの海馬-大脳皮質スライス標本を作製して、脳部位間の電気信号を可視化して詳細に調べていて、その成果を順次報告予定である。

一方、研究分担者である京都大学の井上明男先生の前所属である大阪大学にて、Y 迷路試験などのマウス行動実験を行った。アルツハイマー病モデルマウス (5XFAD マウス) を用いて、アミリン受容体の様々なリガンドや遮断薬が、受容体信号にどのような影響をおよぼすかを個体レベルで詳細に調べ、脳スライス試験の証左となった。

申請者の所属する山口東京理科大学ではペプチドの精製などを行い、本研究の総合的な拠点となった。

< 引用文献 >

J Neurosci. 32(48), 2012 : 研究代表者が第 1 著者

PCT International Application No. PCT/CA2021/051474.

Scientific Reports, 9(1):10942, 2019

Mol. Neurobiol. 58(10):5369-5382, 2021

BIO Clinica 「Biology Topics」, 37(11)68-70, 2022

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Patel Aarti, Kimura Ryoichi, Fu Wen, Soudy Rania, MacTavish David, Westaway David, Yang Jing, Davey Rachel A., Zajac Jeffrey D., Jhamandas Jack H.	4. 巻 58
2. 論文標題 Genetic Depletion of Amylin/Calcitonin Receptors Improves Memory and Learning in Transgenic Alzheimer's Disease Mouse Models	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Neurobiology	6. 最初と最後の頁 5369 ~ 5382
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12035-021-02490-y	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

1. 著者名 木村 良一	4. 巻 46
2. 論文標題 アルツハイマー病新薬としての脳内アミリン受容体阻害剤開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 月刊メディカル・サイエンス・ダイジェスト（MSD）	6. 最初と最後の頁 896-897
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 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 Rania Soudy, Ryoichi Kimura, Aarti Patel, Wen Fu, Kamaljit Kaur, David Westaway, Jing Yang, Jack Jhamandas	4. 巻 9
2. 論文標題 Short amylin receptor antagonist peptides improve memory deficits in Alzheimer's disease mouse model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10942-10952
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-47255-9	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5件（うち招待講演 4件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木村 良一
2. 発表標題 アルバータ大学との革新的創薬研究
3. 学会等名 第8回生命科学研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 良一
2. 発表標題 創薬に繋げる病態モデルマウスの認知機能計測
3. 学会等名 統計数理研究所共同研究会<健康・医療情報学, 生体計測・生体信号解析とその周辺2> (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 良一
2. 発表標題 【特別講演】国際共同研究報告ー認知症克服に向けた革新的創薬アプローチ
3. 学会等名 統計数理研究所共同研究会「健康・医療情報学, 生体計測・生体信号解析とその周辺」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村 良一
2. 発表標題 創薬に繋げる病態モデルマウスの認知機能計測
3. 学会等名 統計数理研究所共同研究会「健康・医療情報学, 生体計測・生体信号解析とその周辺」
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村 良一
2. 発表標題 認知機能を計る行動実験とその応用
3. 学会等名 第7回生命科学研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 Compounds for the Treatment of Alzheimer's Disease	発明者 Jhamandas, Houghton, Kimuraら	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、W0/2022/082305	取得年 2022年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

公立大学法人 山陽小野田市立山口東京理科大学 研究者データベース https://unipa.socu.ac.jp/kg/japanese/researchersHtml/A27334/A27334_Researcher.html 公立大学法人 山陽小野田市立山口東京理科大学 教員紹介 http://www.socu.ac.jp/departments/faculty/ryoichi-kimura.html 公立大学法人 山陽小野田市立山口東京理科大学 研究者データベース https://unipa.socu.ac.jp/kg/japanese/researchersHtml/A27334/A27334_Researcher.html 公立大学法人 山陽小野田市立山口東京理科大学 教員紹介 http://www.socu.ac.jp/departments/faculty/ryoichi-kimura.html
--

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	伊藤 公一 (ITO Koichi) (50330874)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任准教授 (12601)	
研究分担者	井上 明男 (INOUE Akio) (80107060)	京都大学・医学研究科・非常勤講師 (14301)	
研究分担者	山澤 徳志子 (YAMAZAWA Toshiko) (00282616)	東京慈恵会医科大学・医学部・准教授 (32651)	

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
---------	---------