

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07991

研究課題名(和文) 進行性核上性麻痺におけるアルツハイマー病関連蛋白の挙動とバイオマーカーへの応用

研究課題名(英文) Alzheimer's disease related biomarkers in progressive supranuclear palsy

研究代表者

春日 健作 (Kasuga, Kensaku)

新潟大学・脳研究所・助教

研究者番号：70547546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：進行性核上性麻痺(PSP)患者の脳脊髄液(CSF)内では、アルツハイマー病関連分子であるアミロイド(A_β)が健常高齢者に比べ低下している。アルツハイマー病では42アミノ酸からなるA_β42のみが低下するのに対し、PSPではA_β42に加え、脳内でのA_β産生・CSFへの移行を反映するA_β38、A_β40も低下している。培養細胞に変異型タウを発現させたPSPモデルではA_βの産生(プロセッシング)が低下している。このようにPSPにおける病的tauの発現がA_β産生を低下させることから、CSF内ですべてのA_β種が低下する所見はPSPの診断バイオマーカーとして有用と考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行性核上性麻痺(PSP)は人口10万人あたり10～20人程度の比較的稀な神経変性疾患である。PSPの診断はこれまで病歴、神経学的診察、MRIなどの脳形態画像により行われてきたが、病初期の診断は症状および脳萎縮が軽度のため困難であった。今回の研究成果から、脳脊髄液中のアミロイド(A_β)の発現パターンを確認することで、より正確なPSPの診断が可能になることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with progressive supranuclear palsy (PSP), β -amyloid (A_β), which is an Alzheimer's disease-related molecule, is lower than that of healthy elderly. In Alzheimer's disease, only A_β42 consisting of 42 amino acids is decreased, whereas in PSP, in addition to A_β42, A_β38 and A_β40, which reflect the production of A_β in the brain and the transfer to CSF, are also decreased. In the PSP model in which mutant tau is expressed in cultured cells, A_β production (processing) is reduced. Taken together, because the expression of pathogenic tau in PSP reduces A_β production, the finding that all A_β species are reduced in CSF could be a useful diagnostic biomarker for PSP.

研究分野：脳神経内科学

キーワード：進行性核上性麻痺 PSP 脳脊髄液 CSF バイオマーカー A_β tau

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経変性疾患を代表するアルツハイマー病(AD)の診断は、臨床症状に依存したもものから、病態を反映するバイオマーカーを加味したものへと変わった。これは、疾患修飾薬を開発する上で、診断の感度・特異度を高める必要があったからである。一方、比較的正常な神経変性疾患である進行性核上性麻痺(PSP)には確立したバイオマーカーがなく、その確立が求められていた。そのような中、申請者らは、PSP患者の脳脊髄液(CSF)内ではtauは健常者よりも低下しており、またA₄₂はAD患者と同程度に低下していることを見出していた。

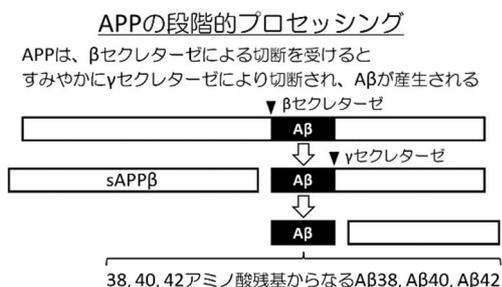
2. 研究の目的

PSP患者のCSF内において、tauとA₄₂が低下している病的意義を明らかにすることにより、PSPの診断バイオマーカーとしての有用性を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) CSF内のtau以外の神経障害マーカーの定量解析: CSF内のtauは脳内の神経障害を反映して上昇するとされる。しかし、PSPは神経変性疾患であるにもかかわらず、CSF内のtauは低下していた。そこで、tau以外の神経障害マーカーとして、CSF内のニューロフィラメント軽鎖(NfL)をElectrochemiluminescence(ECL)法で定量し、tauとの相関を解析する。

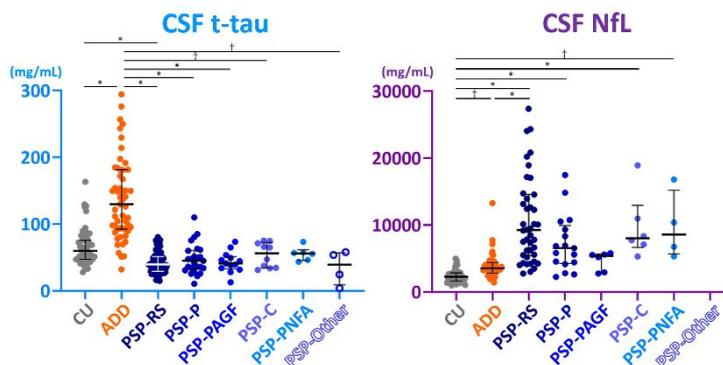
(2) CSF内のアミロイド前駆体蛋白断片の定量解析: A_βは、アミロイド前駆体蛋白(APP)が、セクレターゼによる切断を受け産生される。その際に生じるAPPのN末断片がsAPP β である(右図)。さらにAPPはセクレターゼの切断を受けA₄₂、A₄₀、A₃₈を生じる(右図)。本研究では、CSF内のsAPPおよびA₄₂、A₄₀、A₃₈を定量解析することで脳内でのA_β産生を評価する。



(3) PSPの病態を模倣した*in vitro*アッセイ系による、神経活動依存性のAβ産生・放出の検証: ヒトAPP安定発現Neuro2a細胞に、ヒト野生型および変異型tauのplasmidをもちいて遺伝子導入する。変異型tauには、PSPと同じく4リピートtauの蓄積を特徴とする家族性タウオパチーで同定されたp.N279Kをもちいる。このダブルトランスフェクション細胞から得られた細胞溶解液をもちいたAPP断片の発現および培養液中のA_βの発現を解析する。

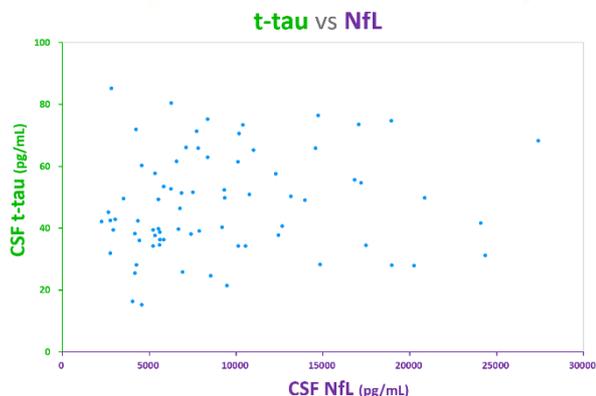
4. 研究成果

(1) PSP 138例、AD 49例、認知正常高齢者(対照) 46例のCSF t-tauを比較したところ、予想通りAD群では対照より有意に上昇している一方、PSP群は有意な低下を認めた(右図)。またCSF NfLは対照群に比しAD群で軽度上昇を認め、PSP群では著明な増加を認めた(右図)。

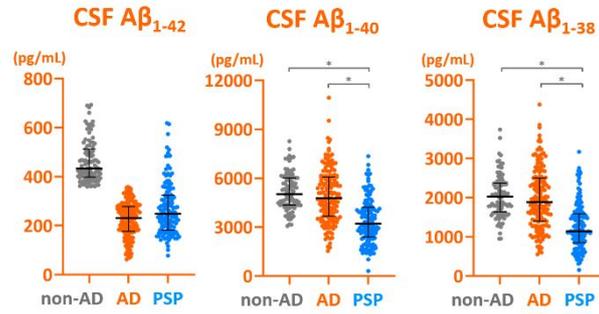


次にPSP 75例のCSFをもちいてtauとNfLの相関を解析した(右図)。従来、tau、NfLともに神経障害を反映しCSF内で上昇することが報告されているが、PSP群においてはtauとNfLの相関はみられなかった。

このことから、PSPにおいてはCSF tauは必ずしも神経障害を反映しておらず、特異的に低下していると考えられた。

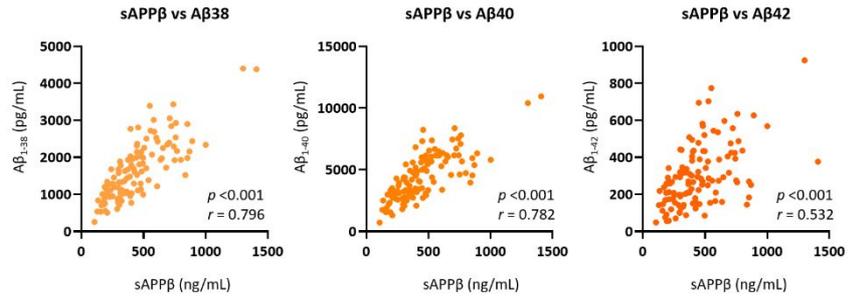


- (2) PSP138 例、AD 164 例、非 AD(対照)95 例の CSF をもちいて A β 42、A β 40、A β 38 を Electrochemiluminescence(ECL)法により定量した。予想通り CSF A β 42 は PSP 群で AD 群と同程度に低下していた。一方、A β 40 および A β 38 は PSP 群でのみ有意な低下を認めた(右図)。



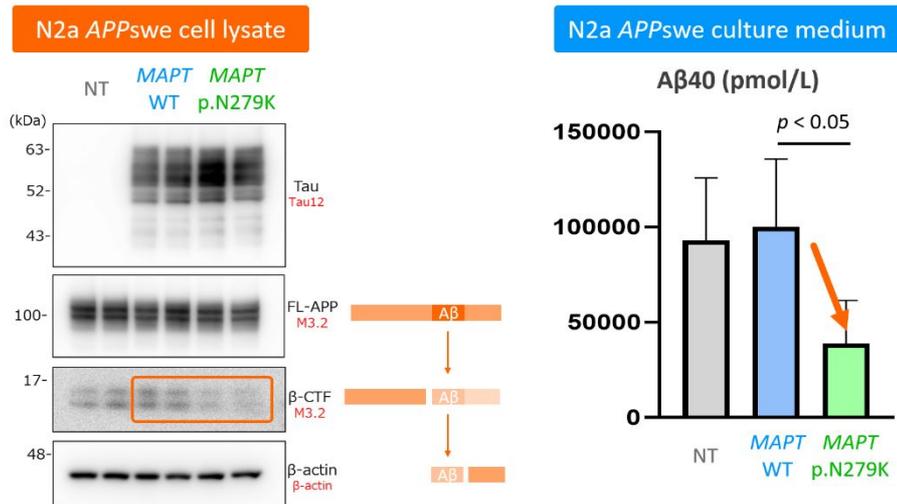
次に PSP を含む 150 例の CSF をもちいて、sAPP を ELISA により、A β 38、A β 40、A β 42 を ECL 法によりそれぞれ定量し、相関関係を解析した(下図)。

sAPP は、A β 38 および A β 40 と強く相関し、A β 42 との相関は中等度であった。これは、CSF A β 38 および A β 40 は脳内での A β 産生あるいは脳内から CSF への移行をよく反映する



一方、A β 42 は脳内の沈着の影響を受けやすいためと考えられた。このことは、PSP においてすべての A β 種が CSF 内で低下していることは、アルツハイマー病での脳内の A β 沈着とは異なる機序によることを支持する結果と考えられた。

- (3) APP を安定発現する Neuro2a 細胞に、PSP 病理を呈することが報告されているヒト変異型 tau 遺伝子を導入し、野生型タウ遺伝子との比較を行った。変異型 tau 遺伝子の導入は、APP から A β の産生(プロセッシング)を低下させ、培養液中の A β を低下させた。このことから、神経細胞内に PSP 病変に関与する異常 tau が発現すると、A β 産生が低下すること考えられ、PSP 患者の CSF 内での A β 低下の機序を明らかにした。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kensaku Kasuga
2. 発表標題 CSF and blood biomarkers for PSP
3. 学会等名 62nd Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 春日健作	4. 発行年 2019年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 242
3. 書名 非定型パーキンソニズム	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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