

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07798

研究課題名(和文)アルツハイマー病治療とコンパニオン診断における定量的根拠の解明

研究課題名(英文)Quantitative rationale for treatment and companion diagnosis of Alzheimer's disease

研究代表者

三條 伸夫 (SANJO, NOBUO)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・プロジェクト教授

研究者番号：00343153

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ADモデルマウス(APPswe, PSEN1 E9)に対して、アミロイド(A β)オリゴマー(A β 0)をターゲットとしたA β 0抗体から作製したfragment抗体(Fab)を末梢から投与した際には脳への移行が少なかったため、A β 0抗体Fabを血液脳関門(BBB)を通過させるため、ミセルに結合させて末梢から投与したところ、Fab単独投与に比べ、約80倍の量を脳に移行させることに成功し、同薬剤を37週齢のADモデルマウスモデルマウスに10週間連続で週1回投与したところ、記憶障害が軽減され、脳における毒性A β 種や老人斑が減少した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は末梢からの単独投与ではほとんど脳内に到達できないA β 0抗体を、力価がほぼ同等のfragment抗体(Fab)を作製し、そのFabをミセルに内包することにより、約80倍の量を脳内に届ることに成功した。Fab抗体はfull body抗体と比較して分子量が小さいだけでなく、Fc部分を有さないため、理論的にはアミロイド関連画像異常(ARIA)がおこらない。我々はA β 0-Fab複合体は脳内でアストロサイトに処理されることを確認している。この技術により抗体の投与量を大幅に減量でき、かつARIAが起こりにくいという利点が期待できる。

研究成果の概要(英文)：When fragment antibodies (Fabs) made from an A β 0 antibody targeting amyloid (A β) oligomer (A β 0) was administered from the periphery to AD model mice (APPswe, PSEN1 E9), few Fabs were observed to transfer to the brain. Then A β 0 antibody Fabs were conjugated to micelles and administered peripherally in order to pass through the blood-brain barrier (BBB), the total amount was successfully transferred to the brain approximately 80 times as much as when Fab was administered alone. When administered once a week for 10 consecutive weeks to 37-week-old AD model mice, memory impairment was alleviated, and toxic A β species and senile plaques in the brain were reduced.

研究分野：脳神経病態学

キーワード：アミロイドオリゴマー アルツハイマー病

1. 研究開始当初の背景

認知症発症の約 20 年前からアルツハイマー病 (AD) 脳内では、 $A\beta$ の産生・代謝の変化に伴い、 $A\beta$ が数個から数 10 個と様々な数で重合するオリゴマーと呼ばれる可溶性重合体を形成し(off pathway)、神経毒性を発揮する。一方、 $A\beta$ はプロトフィブリルと呼ばれる繊維状の塊にもなり(on pathway)、やがてフィブリルと呼ばれるアミロイド繊維が形成される経路もあり、老人斑と呼ばれる球状の凝集体となって脳の間質に沈着する。 $A\beta O$ のみが脳に蓄積するモデルマウスを用いた実験(Tomiyama et al. J Neurosci 2010, Umeda et al. Acta Neuropathol Commun 2017)などから、 $A\beta O$ の神経毒性が、病態の initiator となり、神経細胞を障害するという病態仮説が支持されている(Haas C and Selkoe D, Nature Reviews 2007)。 $A\beta O$ は神経細胞内のタウ蛋白の異常リン酸化を促進させ、マイクログリアの病的な活性化を惹起して、神経細胞を障害する(Krasemann et al. Immunity 2017)。しかし、 $A\beta O$ は複数の形態が報告されており(Rushworth JV and Hooper NM, Int J Alz Dis 2011)、生化学的に不安定であるため、定量的に神経毒性を解析するのは困難であった。そのため、神経毒性が強い $A\beta O$ は病初期から産生されることが知られているものの、神経毒性が発揮される域値、すなわち AD の病理学的特徴である細胞の脱落、神経細胞内への異常なリン酸化タウ蛋白の蓄積、TDP-43 の病的変化、さらにはマイクログリアを病的に活性化させる際の $A\beta O$ 蓄積量などは不明であったため、AD のコンパニオン診断としての蓄積量基準や、抗体除去療法における除去効率や抗体の必要量の目安を決めることは困難であった。

2. 研究の目的

本研究では、AD モデルマウスを用いて、脳内に蓄積している可溶性 $A\beta O$ を月齢ごとに正確に測定し、AD 関連病理学的変化と比較することを第 1 の目的とし、 $A\beta O$ 抗体を投与する量による $A\beta O$ 除去効率と AD 関連の病理学的変化の軽減効果を生化学的、組織学的に改名することを目的とした。

3. 研究の方法

AD モデルマウスを用いて、月齢ごとに $A\beta O$ の単位脳あたりの量を測定し、 β ログタルミル $A\beta$ や toxic $A\beta O$ conformer、リン酸化酵素、免疫染色性、神経細胞の変性等に関して $A\beta O$ の蓄積量との関連性と、経時的変化を明らかにする。モデルマウスに $A\beta O$ 抗体を投与して、脳内への移行量を測定し、脳内への移行を増加させる技術を解明し、モデルマウスへの投与効果を確認する。

4. 研究成果

モデルマウスでは 3 ヶ月齢から抗 $A\beta O$ 抗体陽性像が存在し、Riken マウスの行動異常出現時期以降とされる 7 ヶ月齢では、コアを有する典型的なアミロイド班が出現し、抗 $A\beta O$ 抗体陽性領域は、ThioflavinS 陽性像の周りを囲むように染色性が見られており、アミロイドの凝集塊周辺に $A\beta O$ が付着してアミロイド班が増大してゆくものと考えられた。

AD モデルマウス(APP^{swe}, PSEN1 Δ E9)を用いて、 $A\beta O$ 抗体から作製した低分子の fragment 抗体(Fab)を抹消から投与したが、脳への移行は量が少なかった。そこで、 $A\beta O$ 抗体 Fab を血液脳関門 (BBB) を通過させるため、ミセルに内包させて末梢から投与したところ、Fab 単独投与に比べ、約 80 倍の量が脳に移行させることに成功した(図 1)。続いて、同薬剤をモデルマウスに 10 週間連続で週 1 回末梢から投与したところ、記憶障害が軽減され(図 2)、脳における毒性 $A\beta$ 種や老人斑が減少(図 3、4)することを確認した。

図 1. ミセル内包 Fab の脳内移行

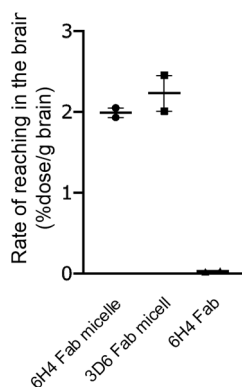


図 2. Fab 投与マウスの水迷路試験

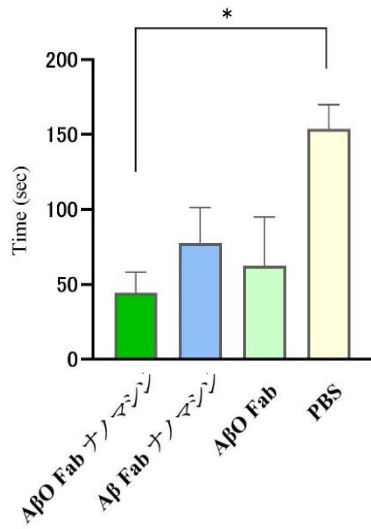


図 3. Fab 投与マウスの生化学的解析

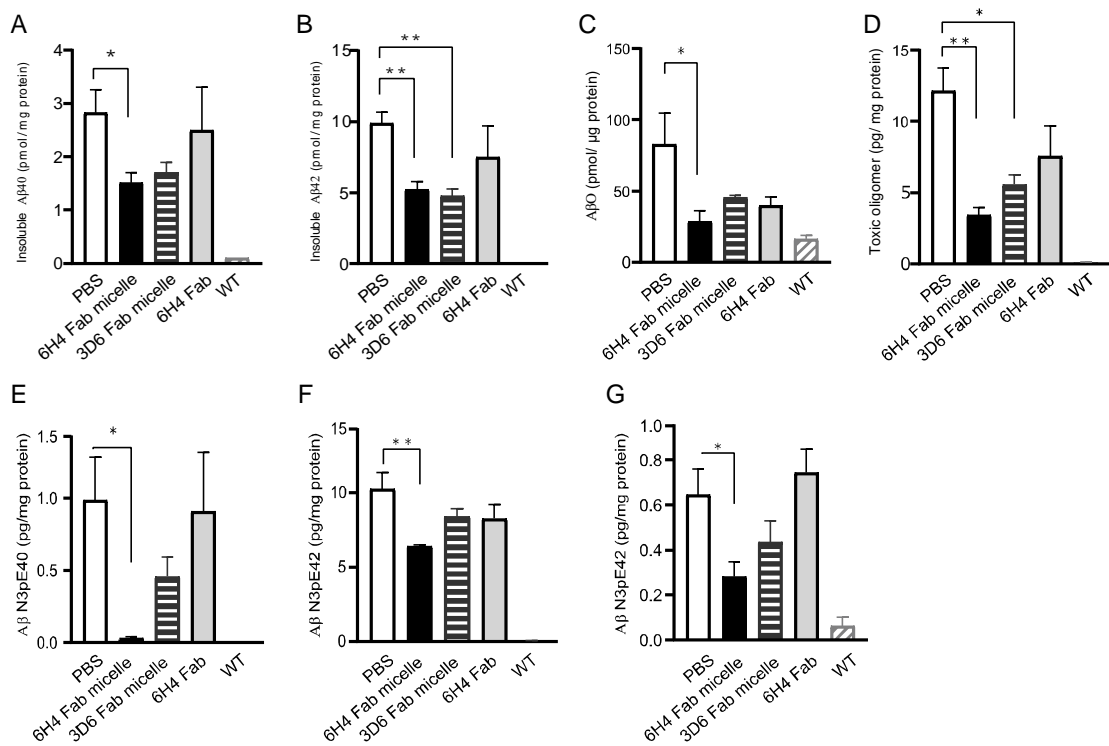
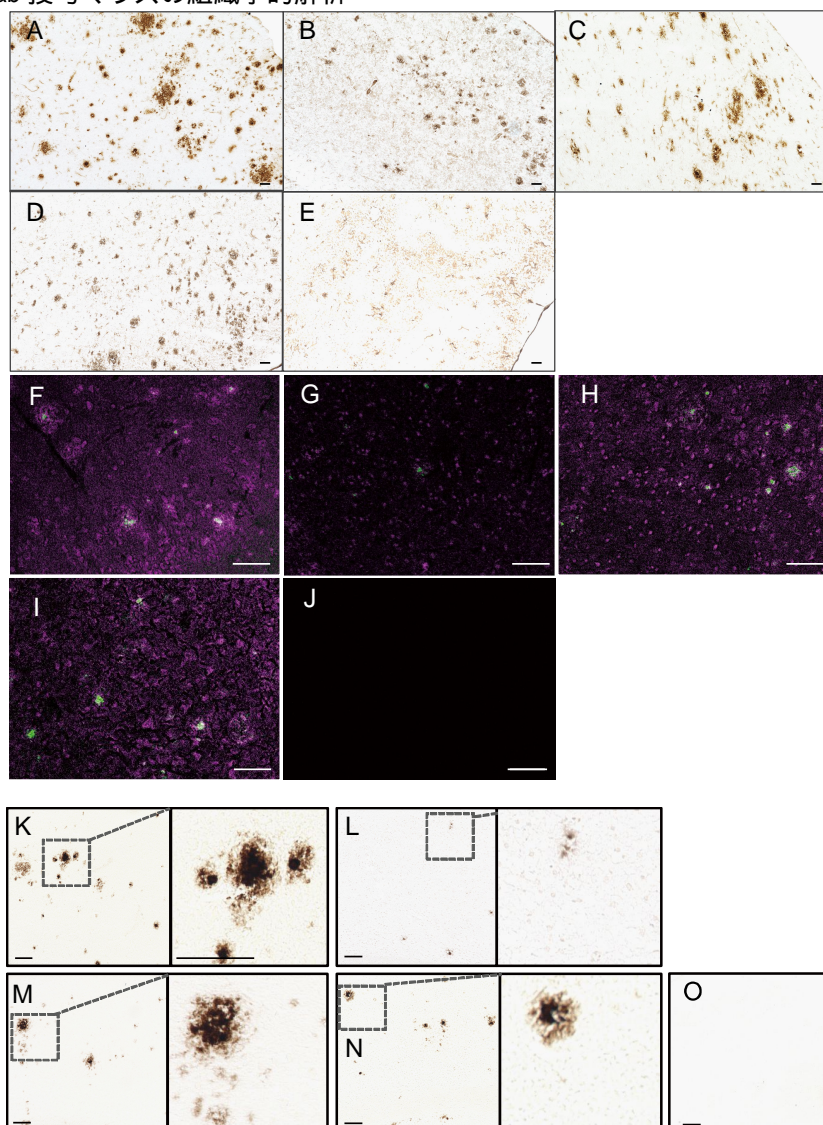


図 4. Fab 投与マウスの組織学的解析



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Amano Akiko, Sanjo Nobuo, Araki Wataru, Anraku Yasutaka, Nakakido Makoto, Matsubara Etsuro, Tomiyama Takami, Nagata Tetsuya, Tsumoto Kouhei, Kataoka Kazunori, Yokota Takanori	4. 巻 21
2. 論文標題 Peripheral administration of nanomicelle-encapsulated anti-A oligomer fragment antibody reduces various toxic A species in the brain	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Nanobiotechnology	6. 最初と最後の頁 36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12951-023-01772-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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nobuo Sanjo, Akiko Amano, Wataru Araki, Yasutaka Anraku, Makoto Nakakido, Etsuro Matsubara, Tetsuya Nagata, Kouhei Tsumoto, Kazunori Kataoka, Takanori Yokota
2. 発表標題 Efficacy of nanomicelle-encapsulated anti-amyloid oligomer fragment antibody in AD pathology
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 天野晶子、三條伸夫、安楽泰孝、中木戸誠、松原悦朗、永田哲也、西田陽一郎、荒木亘、津本浩平、片岡一則、横田隆徳
2. 発表標題 ナノミセル内包型抗A オリゴマー抗体におけるピログルタミル化A 減少効果
3. 学会等名 第8回日本アミロイドーシス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 天野晶子、三條伸夫、安楽泰孝、中木戸誠、松原悦朗、永田哲也、西田陽一郎、荒木亘、津本浩平、片岡一則、横田隆徳
2. 発表標題 ナノミセル内包型抗A オリゴマー抗体投与によるアルツハイマー病態改善効果
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 天野晶子, 三條伸夫, 中木戸誠, 津本浩平, 松原悦朗, 永田哲也, 西田陽一郎, 横田隆徳
2. 発表標題 ADモデルマウスにおける抗アミロイド オリゴマー抗体陽性像の経時変化
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 天野晶子, 三條伸夫, 荒木亘, 永田哲也, 中木戸誠, 松原悦朗, 安楽泰孝, 横田隆徳
2. 発表標題 抗A オリゴマー抗体の持続的なA 凝集抑制作用の検討
3. 学会等名 第42回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Akiko Amano, Nobuo Sanjo, Wataru Araki, Yasutaka Anraku, Makoto Nakakido, Etsuro Matsubara, Tetsuya Nagata, Kouhei Tsumoto, Takami Tomiyama, Kazunori Kataoka, Takanori Yokota
2. 発表標題 Intravenous administration of nanomicelle-encapsulated anti-A oligomer fragment antibody reduces various toxic A species in the brain
3. 学会等名 第46回日本神経科学会
4. 発表年 2023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
研究協力者	天野 晶子 (Amano Akiko)	東京医科歯科大学・脳神経病態学分野・特任助教 (12602)	

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