

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 16 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591246

研究課題名(和文) 認知症疾患のシナプスを標的とした病態解明と治療法の開発

研究課題名(英文) Analysis of pathogenesis of neurodegenerative diseases targeting synapse

研究代表者

瓦林 毅 (Takeshi, Kawarabayashi)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90186156

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ADモデルマウスTg2576およびTg2576と変異tau産生マウスTgTauP301Lのdouble Tgの検討から、lipid raftsにおいてA β oligomerとprion蛋白はcomplexを形成すること、lipid raftsにおいてA β oligomerはfyn-NMDA cascadeの活性化とtauのリン酸化を促進して神経細胞毒性を誘発する可能性が考えられた。Tg2576マウス大脳のsynaptosome分画にはA β oligomerと共にリン酸化tauの蓄積が著増した。シナプスへのA β の蓄積とリン酸化tau蓄積の誘発はA β 神経毒性機序を説明する重要な所見と考えられた。

研究成果の概要(英文)：In lipid rafts from AD model mice, Tg2576 brains, A β oligomers formed complex with cellular prion protein. A β oligomers, fyn, NMDA receptor subunits, GSK3 β , and phosphorylated tau, all localized in lipid rafts. To analyze the relation between A β dimers and tauopathy in lipid rafts, we established double APP-Tau Tg mice by mating Tg2576 and TgTauP301L. Phosphorylated tau and phosphorylation enzyme of tau, GSK3 β were increased clearly in lipid rafts from double Tg. Fyn and phosphorylated NMDA receptor subunit were also increased in lipid rafts from double Tg. A β oligomers were suggested to induce phosphorylated tau and activate Fyn-NMDA pathway in lipid rafts. In synaptosomes fraction, A β oligomers and phosphorylated tau were detected. In synaptosomes from Tg2576 brains, phosphorylated tau was much increased compared to that from nontransgenic brains. Induction of phosphorylated tau may occur in synapse.

研究分野：神経内科

キーワード：amyloid lipid rafts synapse tau Alzheimer fyn NMDA receptor

1. 研究開始当初の背景

(1) 認知症は人口の高齢化と共に爆発的に増加している。認知症の原因疾患は、アミロイド 蛋白(A)からなる脳アミロイドとリン酸化 tau からなる神経原線維変化(NFT)が多量に蓄積するアルツハイマー病(AD)、ピック病、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症などの tauopathy, α -synuclein からなるレビー小体が蓄積するレビー小体型認知症などの α -synucleinopathy, TAR DNA-binding protein 43 kDa (TDP-43)からなるユビキチン陽性核内封入体が蓄積する前頭側頭葉変性症 (FTLD-U)などの TDP-43 proteinopathy などの変性神経疾患で 70%を占める。これらの蓄積蛋白は程度の差はあれシナプスに存在し、神経伝達機能に関わっていると考えられている。これらの蛋白を過剰発現させることによりシナプス機能の障害をきたし、モデルマウスでは学習障害が再現されることから、異常蛋白蓄積によるシナプス障害が認知症の発症の共通な原因であると考えられるようになった。

(2) シナプスにはコレステロールと glycosphingolipid に富む membrane microdomain である lipid rafts が存在し、信号伝達に参与する。A amyloidosis, tauopathy の神経変性疾患モデルマウスにおいていずれも原因蛋白が lipid rafts に蓄積し、シナプス蛋白およびその機能の変化をきたすことが示されている。シナプスの信号伝達系は lipid rafts に存在することから、シナプスの lipid rafts はこれら神経変性疾患の病態や学習機能障害に深く関わっていると考えられる。学習障害が出現する時期の前後でシナプス関連蛋白および lipid rafts を経時的に解析することにより、病因蛋白蓄積から信号伝達系の異常の誘発、シナプス障害に至る機序を解明することができると考えられる。これらの検討により、シナプス、特にシナプスの lipid rafts を標的とした認知症の新たな治療法の開発が可能と考えられる。

2. 研究の目的

A amyloidosis, tauopathy のそれぞれのモデルマウスを用いて学習障害が出現する時期の前後で脳のシナプス分画、その lipid rafts 分画を抽出し、シナプス関連蛋白および信号伝達系を経時的に解析し、病因蛋白蓄積からシナプス障害に至るメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

AD モデルである A 産生 transgenic mouse Tg2576 と変異 tau 産生マウス

TgTauP301L, Tg2576 と TgTauP301L の掛け合わせマウス double Tg を用いて脳 lipid rafts 分画およびシナプス分画を作製する。これらの分画において病因蛋白蓄積とシナプス関連蛋白の発現の変化、信号伝達系の変化、その蛋白組成を解析する。組織学的にそれらの細胞内の分布と神経病理変化の対応を検討する。これらの検討により病因蛋白蓄積によるシナプス障害の機序を同定する。

4. 研究成果

Tg2576 の lipid rafts には A oligomer, prion 蛋白, fyn, NMDA 受容体, tau リン酸化酵素である GSK3, リン酸化 tau が共存していた。このうち、A oligomer と prion 蛋白は lipid rafts 分画で complex を形成することが免疫沈降および蛍光二重染色によって示された。Tg2576 と変異 tau 産生マウス TgTauP301L の掛け合わせマウス double Tg において、Src kinase である fyn が増加しており、fyn によってリン酸化されたリン酸化 NMDA 受容体の増加、GSK3 およびリン酸化 tau の増加が認められた。Lipid rafts において A oligomer は fyn-NMDA cascade の活性化と tau のリン酸化を促進して神経細胞毒性を誘発する可能性が考えられた。

Tg2576 マウス大脳から synaptosome 分画を抽出し、その組成を経時的に検討すると A oligomer は synaptosome に存在し、加齢と共に増加した。A の蓄積と共にリン酸化 tau の synaptosome への蓄積は著増した。シナプスへの A の蓄積とリン酸化 tau 蓄積の誘発は A 神経毒性機序を説明する重要な所見と考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

1. Uruha A, Hayashi YK, Oya Y, Mori-Yoshimura M, Kanai M, Murata M, Kawamura M, Ogata K, Matsumura T, Suzuki S, Takahashi Y, Kondo T, Kawarabayashi T, Ishii Y, Kokubun N, Yokoi S, Yasuda R, Kira JI, Mitsuhashi S, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I. Necklace cytoplasmic bodies in hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 査読有, 86(5): 2015, 483-489 DOI: 10.1136/jnnp-2014-309009
2. Maruyama N, Fujiwara K, Yokoyama K, Cerrone C, Hasegawa H, Takagi K, Nishizawa K, Uki Y, Kawarabayashi T, Shoji Y, Ishimoto M, Terakawa T, Stable accumulation of seed storage proteins containing vaccine peptides in transgenic soybean seeds. *J Biosci Bioeng*, 査読有, 118(4), 2014, 441-447 DOI: 10.1016/j.jbiosc.2014.04.004
3. Miyashita A, Wen Y, Kitamura N, Matsubara E, Kawarabayashi T, Shoji M, Tomita N, Furukawa K, Arai H, Asada T, Harigaya Y, Ikeda M, Amari M, Hanyu H, Higuchi S, Nishizawa M, Suga M, Kawase Y, Akatsu H, Imagawa M, Hamaguchi T, Yamada M, Morihara T, Takeda M, Takao T, Nakata K, Sasaki K, Watanabe K, Nakashima K, Urakami K, Ooya T, Takahashi M, Yuzuriha T, Serikawa K, Yoshimoto S, Nakagawa R, Saito Y, Hatsuta H, Murayama S, Kakita A, Takahashi H, Yamaguchi H, Akazawa K, Kanazawa I, Ihara Y, Ikeuchi T, Kuwano R, Lack of Genetic Association Between TREM2 and Late-Onset Alzheimer's Disease in a Japanese Population. *J Alzheimers Dis*, 査読有, 41, 2014, 1031-1038 DOI: 10.3233/JAD-140225
4. Matsubara E, Takamura A, Okamoto Y, Oono H, Nakata T, Wakasaya W, Kawarabayashi T, Shoji M, Disease modifying therapies for Alzheimer's disease targeting A β oligomers: Implications for therapeutic mechanisms. *BioMed Res Int*, 査読有, 2013, 2013, 984041 DOI: 10.1155/2013/984041
5. Miyashita A, Koike A, Jun G, Wang LS, Takahashi S, Matsubara E, Kawarabayashi T, Shoji M, Tomita N, Arai H, Asada T, Harigaya Y, Ikeda M, Amari M, Hanyu H, Higuchi S, Ikeuchi T, Nishizawa M, Suga M, Kawase Y, Akatsu H, Kosaka K, Yamamoto T, Imagawa M, Hamaguchi T, Yamada M, Moriaha T, Takeda M, Takao T, Nakata K, Fujisawa Y, Sasaki K, Watanabe K, Nakashima K, Urakami K, Ooya T, Takahashi M, Yuzuriha T, Serikawa K, Yoshimoto S, Nakagawa R, Kim JW, Ki CS, Won HH, Na DL, Seo SW, Mook-Jung I; Alzheimer Disease Genetics Consortium, St George-Hyslop P, Mayeux R, Haines JL, Pericak-Vance MA, Yoshida M, Nishida N, Tokunaga K, Yamamoto K, Tsuji S, Kanazawa I, Ihara Y, Schellenberg GD, Farrer LA, Kuwano R. SORL1 is genetically associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese, Koreans and Caucasians. *PLoS One*, 査読有, 8(4), 2013, e58618 DOI: 10.1371/journal.pone.0058618

6. Takamura A, Sato Y, Watabe D, Okamoto Y, Nakata T, Kawarabayashi T, Oddo S, Laferla FM, Shoji M, Matsubara E, Sortilin is required for toxic action of A β oligomers (A β Os): Extracellular A β Os trigger apoptosis, and intraneuronal A β Os impair degradation pathways. Life Sci, 査読有, 91(23-24), 2012, 1177-1186 DOI: 10.1016/j.lfs.2012.04.038
 7. Watanabe M, Adachi Y, Jackson M, Yamamoto-Watanabe Y, Wakasaya Y, Shirahama I, Takamura A, Matsubara E, Kawarabayashi T, Shoji M. An unusual case of elderly-onset CADASIL with multiple cerebrovascular risk factors. J Stroke Cerebrovasc Dis, 査読有, 21(2), 2012, 143-145, DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2010.05.008
 8. 瓦林毅 東海林幹夫, 認知症の血液・髄液診断マーカー. Mebio, 査読無, 32(6), 2015, 36-45
 9. 瓦林毅, 神経疾患治療の進歩 2013 年 認知症の治療の進歩. 神経治療学, 査読無, 31(4), 2014, 378-381
 10. 瓦林毅, 神経疾患治療の進歩 2012 年 認知症の治療の進歩. 神経治療学, 査読無, 30(4), 2013, 392-396
 11. 瓦林毅 東海林幹夫, アルツハイマー病診断のバイオマーカー - 最近の進歩 - 血液・CSF 中のアミロイドタンパクとタウタンパクおよびリン酸化タウ. 老年精神医学雑誌, 査読無, 24(2), 2013, 119-124
 12. 瓦林毅 東海林幹夫, 1 . 認知症の診断: アルツハイマー病(AD)を中心に 3)AD 診断におけるバイオマーカー Progress in Medicine, 査読無, 32(12), 2012, 2557-2562
 13. 瓦林毅, 神経疾患治療の進歩 2011 年 認知症の治療の進歩. 神経治療学, 査読無, 29(4), 2012, 375-379
 14. 瓦林毅, 東海林幹夫, 認知症と臨床検査 認知症の病態 臨床検査, 査読無, 56(1), 2012, 22-30
- 〔学会発表〕(計 30 件)
1. Kawarabayashi T, Nakata T, Wakasaya Y, Nakamura T, Nakahata N, Shoji M, A β oligomers and prion in lipid rafts. Alzheimer's Association International Conference 2014, Copenhagen, Denmark, July 12-17, 2014
 2. Kawarabayashi T, Nakata T, Wakasaya Y, Nakahata N, Oono H, Matsubara E, Shoji M, Accumulation of A β oligomers and prion and impaired signal transduction in lipid rafts. Neuroscience 2013, the Society for Neuroscience, 43th Annual Meeting, San Diego, Nov 9-13, 2013.
 3. Kawarabayashi T, Nakata T, Wakasaya

- Y, Matsubara E, Shoji M, A β oligomers in lipid rafts impair signal transduction pathways in transgenic mouse model of Alzheimer's disease. Neuroscience 2012, the Society for Neuroscience, 42th Annual Meeting, New Orleans, Oct 13-17, 2012.
4. 瓦林毅, 中村琢洋, 仲田崇, 若佐谷保仁, 中畑直子, 東海林幹夫, A β oligomer は lipid rafts で prion と結合して信号伝達系を障害する. 第 33 回日本認知症学会学術集会 パシフィコ横浜 2014 年 11 月 29 日-12 月 1 日
 5. 瓦林毅, アルツハイマー病発症に lipid rafts が関与する. 第 26 回日本脳循環代謝学会総会 岡山コンベンションセンター 2014 年 11 月 21-22 日
 6. 瓦林毅. 経口 A β ワクチン療法によるアルツハイマー病治療法の開発. 日本神経学会九州地方会 大分大学 2014 年 9 月 20 日
 7. 東海林幹夫, 中村琢洋, 仲田崇, 若佐谷保仁, 中畑直子, 瓦林毅. アルツハイマー病モデルマウスを用いた脳アミロイドアンギオパチーの検討. 第 2 回日本アミロイドーシス研究会学術集会, KKR 東京ホテル, 2014 年 8 月 22 日
 8. Kawarabayashi T, Nakata T, Wakasaya Y, Matsubara E, Shoji M: Binding of A β oligomers and prion in lipid rafts of Alzheimer model mice. 第 55 回日本神経学会学術大会 福岡国際会議場・福岡サンパレス・福岡国際センター 2014 年 5 月 21-24 日
 9. 仲田崇, 瓦林毅, 若佐谷保仁, 中村巧美, 東海林幹夫, 原発性進行性失語 Primary Progressive Aphasia の亜型分類に基づいた臨床的検討 福岡国際会議場・福岡サンパレス・福岡国際センター 2014 年 5 月 21-24 日
 10. 若佐谷保仁, 仲田崇, 瓦林毅, 東海林幹夫, 高橋利幸, 松原悦朗, 吃逆にて発症した NMO spectrum disorder の 3 例. 第 93 回日本神経学会東北地方会 フォレスト仙台 2014 年 3 月 8 日
 11. 瓦林毅, 仲田崇, 若佐谷保仁, 大野英人, 中畑直子, 松原悦朗, 東海林幹夫, 経口 A β ワクチンによるアルツハイマー病治療法の開発 VSA-COG Japan 2013 第 4 回日本血管性認知障害研究会 東京コンファレンスセンター 2013 年 8 月 10 日
 12. 瓦林毅, 仲田崇, 若佐谷保仁, 大野英人, 中畑直子, 松原悦朗, 東海林幹夫, アルツハイマー病モデルマウスにおけるアミロイドアンギオパチーの検討 VSA-COG Japan 2013 第 4 回日本血管性認知障害研究会 東京コンファレンスセンター 2013 年 8 月 10 日
 13. 松原悦朗, 仲田崇, 若佐谷保仁, 大野英人, 中畑直子, 瓦林毅, 東海林幹夫, A β 重合体カスケード仮説の検証, 第 4 回日本血管性認知障害研究会, VSA-COG Japan 2013 東京コンファレンスセンター 2013 年 8 月 10 日

14. 瓦林毅, 仲田崇, 若佐谷保仁, 松原悦朗, 東海林幹夫, 経口 Abeta ワクチンは AD モデルマウスの行動障害を改善する 第 54 回日本神経学会学術大会 東京国際会議場 2013 年 5 月 29 日 - 6 月 1 日
15. 松原悦朗, 仲田崇, 若佐谷保仁, 瓦林毅, 東海林幹夫, Aβ 重合体はタウの上流で作用する 第 54 回日本神経学会学術大会 東京国際会議場 2013 年 5 月 31 日
16. 松原悦朗, 瓦林毅, 仲田崇, 若佐谷保仁, 東海林幹夫, sortilin が Aβ 重合体の神経毒性発現を制御している. 第 31 回日本認知症学会学術集会, つくば国際会議場, 2012 年 10 月 26 日-28 日
17. 松原悦朗, 仲田崇, 中畑直子, 若佐谷保仁, 瓦林毅, 東海林幹夫, Aβ 重合化がアルツハイマー病の脳脊髄液中で亢進している. 第 29 回日本老年医学会東北地方会. 弘前, 2012 年 10 月 29 日
18. 瓦林毅, 仲田崇, 若佐谷保仁, 松原悦朗, 東海林幹夫, Aβ oligomer は lipid rafts の信号伝達系を障害する. 第 53 回日本神経学会学術大会. 東京国際フォーラム, 2012 年 5 月 25 日
19. 松原悦朗, 仲田崇, 中畑直子, 若佐谷保仁, 瓦林毅, 東海林幹夫, リポ蛋白が Aβ 重合化の制御因子である. 第 53 回日本神経学会学術大会. 東京国際フォーラム, 2012 年 5 月 23 日
20. 仲田崇, 瓦林毅, 若佐谷保仁, 松原悦朗, 東海林幹夫, 動物モデルを用いた

脳アミロイド β 蛋白の伝播性の検討.
第 53 回日本神経学会学術大会. 東京国際フォーラム, 2012 年 5 月 25 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.h-shinnai.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瓦林毅 (KAWARABAYASHI Takeshi)
弘前大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 90186156

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: