

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461768

研究課題名(和文) A<sub>42</sub>産生増大と細胞内long A のセクレターゼからの解離促進の関連

研究課題名(英文) Increase in Abeta42 production and accelerated dissociation of Abeta42 from gamma-secretase

研究代表者

大河内 正康 (Okochi, Masayasu)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：90335357

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：A<sub>42</sub>の切断の増大が「セクレターゼからのA<sub>42</sub>の解離の促進を意味していることを報告した。そのとき、家族性アルツハイマー病を引き起こす遺伝子変異のgain of functionとされている「A<sub>42</sub>の産生比率の増大」は「long A<sub>42</sub>のセクレターゼからの解離」である可能性を提案した。この新しい考え方をサポートする事実を本研究で積み上げた。その結果「膜内long A<sub>42</sub>もまたセクレターゼから解離すること」、「それが家族性アルツハイマー病変異で起こりやすいこと」、「A<sub>42</sub>産生量の増加とは、膜内long A<sub>42</sub>のセクレターゼからの解離が促進されること」はより明白になった。

研究成果の概要(英文)：We have analyzed long Abeta binding to gamma-secretase, and found that dissociation of long Abeta from gamma-secretase is enhanced, when Abeta42 production increases.

研究分野：精神医学

キーワード：アルツハイマー病

#### 1. 研究開始当初の背景

我々はアルツハイマー病発症に重要な役割を果たす「A 42 産生の増大」が実は「A 42 cleavage が低下し、その結果 A 42 の  $\gamma$ -secretase からの解離が増える」ためであることを発見した(当時未発表データ)。

#### 2. 研究の目的

この結果から「A 42 の産生増大」は今まで言われているように、そのこと自体が病理過程で重要なのか疑問が生じた。つまり、「(1)  $\gamma$ -secretase からの A 42 の解離の促進」、「(2) A 42 分泌過程で膜内で産生される long A の  $\gamma$ -secretase から解離の促進」はいずれも理論的に「A 42 の産生増大」と同等であると考えられる。我々はこの現象を初めて発見し、その効率を詳しく調べるアッセイ系を確立した。この新しい病理過程の解釈が正しければ、より直接的・根本的な病因を標的とした新たな創薬・治療への道が開ける。

#### 3. 研究の方法

我々は上記のように、アルツハイマー病発症に重要な役割を果たすと考えられている「A 42 の産生比率の増大」は分泌型 A 42 産生過程での「long A の  $\gamma$ -secretase からの解離」と理解しうることを発見した。

そこで、細胞内 long A を正確に認識し定量出来るアッセイ系を作成する。そして、「A 42 産生が増大する」条件で「細胞内 long A」のうちどの分子種がどれほど集積しているのか明らかにする。さらには、細胞内 long A のうちどれ程が  $\gamma$ -secretase に結合しない形で存在するのか明らかにする。続いて、細胞内 long A の量や状態を「A 42 産生が増大する」条件(病原性変異などで見られる)に設定し、かつ細胞外の A 42 量の増大をキャンセルする。その状態で細胞機能の障害や凝集などのアルツハイマー病の病態が起こらないか検討する。

#### 4. 研究成果

家族性アルツハイマー病を引き起こす遺伝子変異の gain of function とされている「A 42 の産生比率の増大」は「long A の  $\gamma$ -secretase からの解離」である可能性を提案した。この新しい考え方をサポートする事実を本研究で積み上げた。その結果「膜内 long A もまた  $\gamma$ -secretase から解離すること」、「それが家族性アルツハイマー病変異で起こりやすいこと」、「A 42 産生量の増加とは、膜内 long A の  $\gamma$ -secretase からの解離が促進されること」はより明白になった。

#### 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5件)

Fluvoxamine alleviates ER stress via induction of Sigma-1 receptor.

Omi T, Tanimukai H, Kanayama D, Sakagami Y, Tagami S, Okochi M, Morihara T, Sato M, Yanagida K, Kitasyoji A, Hara H, Imaizumi K, Maurice T, Chevallier N, Marchal S, Takeda M, Kudo T.

Cell Death Dis. 2014 Jul 17;5:e1332. doi: 10.1038/cddis.2014.301.

$\gamma$ -Secretase associated with lipid rafts: multiple interactive pathways in the stepwise processing of  $\beta$ -carboxyl-terminal fragment.

Matsumura N, Takami M, Okochi M, Wada-Kakuda S, Fujiwara H, Tagami S, Funamoto S, Ihara Y, Morishima-Kawashima M.

J Biol Chem. 2014 Feb 21;289(8):5109-21. doi: 10.1074/jbc.M113.510131. Epub 2013 Dec 28.

Absolute quantitation of low abundance plasma APL1 $\beta$  peptides at sub-fmol/mL Level by SRM/MRM without immunoaffinity enrichment.

Sano S, Tagami S, Hashimoto Y, Yoshizawa-Kumagaye K, Tsunemi M, Okochi M, Tomonaga T.

J Proteome Res. 2014 Feb 7;13(2):1012-20. doi: 10.1021/pr4010103. Epub 2013 Dec 26.

Relative ratio and level of amyloid- $\beta$  42 surrogate in cerebrospinal fluid of familial Alzheimer disease patients with presenilin 1 mutations.

Tagami S, Okochi M, Yanagida K, Kodama T, Arai T, Kuwano R, Ikeuchi T, Takeda M. Neurodegener Dis. 2014;13(2-3):166-70. doi: 10.1159/000355258. Epub 2013 Oct 30.

Transcriptome analysis of distinct mouse strains reveals kinesin light chain-1 splicing as an amyloid- $\beta$  accumulation modifier.

Morihara T, Hayashi N, Yokokoji M, Akatsu H, Silverman MA, Kimura N, Sato M, Saito Y, Suzuki T, Yanagida K, Kodama TS, Tanaka T, Okochi M, Tagami S, Kazui H, Kudo T, Hashimoto R, Itoh N, Nishitomi K, Yamaguchi-Kabata Y, Tsunoda T, Takamura H, Katayama T, Kimura R, Kamino K, Hashizume Y, Takeda M.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Feb 18;111(7):2638-43. doi:

10.1073/pnas.1307345111. Epub 2014 Feb 4.

[学会発表](計14件)

iPS 由来ヒト大脳皮質神経細胞中の切断

について

大河内 正康

第 34 回 日本認知症学会 学術総会 シンポジウム 14 iPS 細胞を用いた認知症と関連疾患研究  
リンクステーションホール青森 第 2 会場  
大会議室 1・2

Development of Abeta42 surrogate marker in peripheral blood

Shinji Tagami Shozo Sano Kanta Yanagida Takashi Kodama Naoki Mizuta Takeshi Tomonaga Masatoshi Takeda Masayasu Okochi

12th World Congress Of Biological Psychiatry  
Greece, Athens

CRISP/CAS9 法による Presenilin1/2 ダブルノックアウト細胞の作製

柳田 寛太 田上 真次 児玉 高志 岡本 徹 松浦 善治 大河内 正康  
第 34 回 日本認知症学会 学術総会  
リンクステーションホール青森

大河内正康

セクレターゼの阻害と促進

第 33 回日本認知症学会学術集会 シンポジウム 11 「A 産生制御によるアルツハイマー病根本治療戦略の進歩」 パシフィコ横浜 会議センター(第 3 会場 502) 平成 26 年 11 月 30 日(日) 10 時 10 分~12 時 10 分

大河内正康

精神疾患の診断治療の現状と今後の展開  
第 5 回大阪平成医学フォーラム ANA クラウンプラザ大阪 4 回「平安北の間」 平成 26 年 11 月 22 日(土) 18 時から 18 時 40 分

大河内正康

認知症研究の最前線 フォーラム「認知症に備える！」 大阪大学中之島センター 平成 26 年 11 月 21 日 午後 1 時 30 分~4 時 30 分

大河内正康

アルツハイマー病診断治療の現状と今後  
第 62 回職業災害医学会 ランチョンセミナー7 神戸国際会議場 第 3 会場「401・402 会議室」 平成 26 年 11 月 17 日(月) 12 時 12 時 50 分

大河内正康

アルツハイマー型認知症診断治療の実際 ~ 最近の動向 ~ レミニール WEB セミナー  
2014 年 10 月 23 日(木) 19 時から 19 時 40 分

大河内正康

認知症について-アルツハイマー病を中心に 済生会千里病院 平成 26 年度登録医会  
秋季研修会 千里ライフサイエンスセンター 5F サイエンスホール 平成 26 年 9 月 20 日(土) 17 時 30 分から 18 時 30 分

大河内正康、武田雅俊

血液・髄液中のバイオマーカーによるアルツハイマー病初期診断の実際と可能性 シンポジウム 1: アルツハイマー病の早期診断  
第 29 回日本老年精神医学会 日本教育会館 A 会場(一ツ橋ホール, 3F) 6 月 12 日(木)

大河内正康

S3-3 アルツハイマー病予防的介入の現状と今後 シンポジウム 3: 「認知症」 第 23 回脳ドック学会総会 海峽メッセ下関 A 会場(国際会議場) 平成 26 年 6 月 7 日(土) 10 時 15 分~11 時 15 分

大河内正康 変わりゆく認知症の概念 -Dementia から Neurocognitive disorder, pre-clinical アルツハイマー病まで- 第 3 回中河内認知症研究会 シェラトン都ホテル大阪 3 階「金剛の間」 2014 年 3 月 8 日(土) 17 時 00 分~18 時 00 分

大河内正康 新世代アルツハイマー病薬開発の困難と臨床試験パラダイムシフトへの期待 精神医学アドバンスフォーラム グランドプリンスホテル新高輪 国際館パミール 3 階「崑崙」 2014 年 3 月 2 日(日) 9 時 30 分~15 時 45 分

〔図書〕(計 7 件)

大河内正康、武田雅俊

プレセニリン セクレターゼメカニズムによる膜蛋白分解システムとアルツハイマー病老人斑形成 特集: 神経細胞変性のメカニズム テーマ: 膜タンパク質制御と神経変性  
Brain Medical 26(3), 9-16, 2014

大河内正康、武田雅俊

プレセニリン セクレターゼメカニズムによる膜蛋白分解システムとアルツハイマー病老人斑形成 特集: 神経細胞変性のメカニズム テーマ: 膜タンパク質制御と神経変性  
Brain Medical 26(3), 9-16, 2014

大河内正康、田上真次、柳田寛太、武田雅俊  
精神医学のフロンティア」日本発 A 42 サロゲートマーカーの発見と性質 アルツハイマー病の発症前診断マーカーへの応用の可能性 精神神経学雑誌 115(3), 245-52, 2013

大河内正康、武田雅俊

セクレターゼは悪者か? Should g-secretase activity be inhibited or rather

stimulated? 医学のあゆみ 247(8),  
703-4.

大河内正康、武田雅俊  
最近の基礎研究の進歩と診断・治療への応用  
認知症・脳から疾患を見る治療 95(12),  
2005-2010, 2013

大河内正康、田上真次、柳田寛太、武田雅俊  
アミロイドカスケードの異常を反映する A  
42 サロゲートマーカー-APL1 28 特集・ア  
ルツハイマー病診断のバイオマーカー；最近  
の進歩 老年精神医学雑誌 24(2), 125-130,  
2013

田上真次、大河内正康、西村正樹、舟本聡、  
富田泰輔、武田雅俊  
アミロイド 蛋白 42(A 42)を産生するプレ  
セニリン・セクレターゼに関する最新の知  
見 日本生物学的精神医学会誌 25(1),  
11-17

〔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：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
新聞掲載  
アルツハイマー病血液で診断 阪大など・特  
有の物質測定成功 朝日新聞 2014 年 5 月 1  
日朝刊 2 3 頁

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大河内正康(OKOCHI, Masayasu)  
大阪大学・医学系研究科・講師  
研究者番号：90335357

### (2) 研究分担者

田上真次(TAGAMI, Shinji)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号：40362735