

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：82609

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25640030

研究課題名(和文) アディポネクチンの鼻腔投与による新規神経変性治療法

研究課題名(英文) A nasal injection of adiponectin: a novel therapeutic strategy against neurodegenerative disease

研究代表者

橋本 款 (HASHIMOTO, Makoto)

公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・副参事研究員

研究者番号：50189502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：最近、神経変性の病態に糖代謝障害が伴うことが注目されている。我々は、抗糖尿病作用をもつことで知られるアディポネクチンの発現や作用を、剖検脳、細胞モデル、マウスモデルを用いて検討した。その結果、パーキンソン病やレビー小体型認知症の剖検脳においては、APNがレビー小体に蓄積しており、シヌクレイン発現神経芽細胞においては、APNは、シヌクレインの凝集をAdipoR1-AMPキナーゼ系路依存的に抑制し、さらに、シヌクレイントランスジェニックマウスにおいては、シヌクレイン凝集などの病理像、運動試験の改善が観察された。これらの結果は、アディポネクチンが治療のポテンシャルを持つことを示唆している。

研究成果の概要(英文)：Neurodegenerative diseases are associated with metabolic disorders, but the mechanisms are still unclear. To investigate possible roles of adiponectin (APN), the anti-diabetes protein, in the pathogenesis of  $\alpha$ -synucleinopathies, we investigated autopsy brain of Parkinson's disease (PD) and dementia with Lewy bodies (DLB), and analyzed the effects of APN in cellular and in mouse models of  $\alpha$ -synucleinopathies. In autopsy brains, APN was localized in Lewy bodies derived from PD and DLB. In neuronal cells expressing  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ S), aggregation of  $\alpha$ S was suppressed by treatment with recombinant APN in an AdipoR1-AMP kinase pathway-dependent manner. Concomitantly, phosphorylation and release of  $\alpha$ S were significantly decreased by APN. In  $\alpha$ S transgenic mice, both histopathology and movement disorder were significantly improved by intra nasal treatment with globular APN. Collectively, APN could possess a therapeutic potential against  $\alpha$ -synucleinopathies.

研究分野：神経変性疾患

キーワード：シヌクレイン シヌクレイン パーキンソン病 アルツハイマー病 アディポネクチン

### 1. 研究開始当初の背景

最近、アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD) やハンチントン病など、多くの神経変性疾患が、糖代謝障害を伴い、また、中年期の肥満や II 型糖尿病が神経変性疾患の危険因子になることが明らかになってきたことから、抗糖尿病が神経変性疾患の治療戦略になる可能性が示唆されている。我々は、これに関連して、抗糖尿病・抗動脈硬因子として知られているアディポネクチン (APN) が PD や AD などの神経変性疾患と II 型糖尿病や動脈硬化との間の共通の治療ターゲットになり得るのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究においては、シヌクレイノパチーモデルマウスにおける APN の鼻空投与の効果の評価し、さらに、培養細胞の解析を含む多方面からアプローチを行い、APN による神経変性疾患の治療の可能性を検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 鼻粘膜よりのシヌクレイノパチーモデルマウスへの投与実験 (図 1)

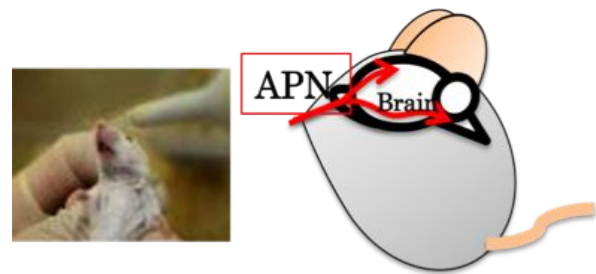
ヒト  $\alpha$  シヌクレイン ( $\alpha$ S) を発現し、蛋白凝集や運動障害などの神経変性症状を呈するトランスジェニック (tg) マウスに対して、APN の C 末端部分の球状ドメインをまだ運動症状の出していない 2 カ月齢から長期間 (約 2 カ月) 鼻粘膜投与し、経時的な体重測定、ロタロッドテストやビームテストなどを行い、運動機能の評価をおこなった (各グループ  $n=8\sim 9$ , 雄)。さらに、組織学的 (免疫組織染色および免疫蛍光染色) に、生化学的 (ウェスタンブロット法) にマウス脳の神経変性の程度を検討した。

#### (2) 培養細胞モデルへの添加実験

APN の  $\alpha$ S の凝集、細胞毒性に関する抑制効果や細胞内シグナル伝達経路に対する効果を  $\alpha$ S 発現 B103 ラット神経芽細胞 (シヌクレイノパチーの培養細胞モデル) を用いて検討した。具体的には、組織学的解析 (免疫組織染色および免疫蛍光染色) さらに、ウェスタンブロット法により、神経変性改善の程度を評価した。

図 1

APN の鼻粘膜投与



### 4. 研究成果

(1)  $\alpha$ Stg マウスにマウスに対して APN の鼻粘膜投与実験をおこなった結果、体重の増加不良が改善し、運動機能の低下が軽減された。さらに、 $\alpha$ S を発現したマウスの神経病理や運動機能試験の成績が有意に改善する結果を得た。P123H Stg マウスに対する APN の鼻粘膜投与実験に関しては、現在、進行中である。APNKO マウスに関しては、興味深いことに、老齢期になると、海馬において、タウ蛋白の凝集が促進することを予備的に観察しており、さらに継続して解析中である。APNKO マウスと P123H Stg マウスの交差試験は、進行中である。

(2) また、 $\alpha$ S を発現させた神経芽細胞に APN の添加実験をおこなった結果、APN が  $\alpha$ S (リン酸化  $\alpha$ S) の凝集や放出を抑制し、薬剤による様々な神経毒性に対し

て保護的に作用することを観察した。APN による  $\alpha$ S の凝集抑制効果は、AdipoR1 の siRNA で、あるいは、AMP キナーゼの阻害剤である compound C で阻害されることから、APN 受容体 (AdipoR1) を介した AMP キナーゼの経路が重要であると推定された。また、APN の投与により、プロテオソームの活性低下が改善された。

(3) Stg マウスの神経変性所見(神経病理組織や個体レベルでの運動機能など)が、APN の長期間の鼻粘膜投与で有意に改善したことから、シヌクレイノパチーに対する APN の disease modifying drug としてのポテンシャルが期待される。現在進行中の P123H Stg マウスに対する APN の鼻粘膜投与実験の結果次第で、この考えは、より強固なものになるであろう。Crafts らは経鼻インスリン投与により AD 患者の認知機能の改善効果を示した (Arch Neurol 2012)。将来のパーソナルゲノム、発症前治療の到来を考慮すれば、この簡便な予防は、大きなポテンシャルがある。実際、AD 患者に対する経鼻インスリン投与の臨床試験が米国において現在進行中である。しかしながら、インスリンそのものを投与するのでは、過剰のインスリン投与による低血糖などの副作用が懸念される。その点、APN の鼻空投与の方が、有望かも知れない。

(4) イン・ビトロの S 発現神経芽細胞における APN の添加実験の結果から、APN による神経変性抑制効果は、APN 受容体 (AdipoR1) を介した AMP キナーゼの経路が重要であると推測される。このように、S 発現神経芽細胞は、不死化した細胞であり、実際の神経とは異なる点に気をつけなければならないが、一定の範

囲で有効である。特に、化合物のスクリーニングの際には初期段階の評価に用いるのが望ましい。

(5) 本研究の結果から、APN がシヌクレイノパチーや AD などの神経変性疾患の病態において抗神経変性作用があり、神経保護的に働いているものと示唆される。すなわち、APN シグナル伝達経路はシヌクレイノパチーなどの神経変性疾患の新しい治療ターゲットになると思われる。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Sekigawa A, Takamatsu Y, Sekiyama K, Hashimoto M. DOI: 10.3390/biom5021000. Role of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Synucleins in the Axonal Pathology of Parkinson's Disease and Related Synucleinopathies. *Biomolecules*. 2015, 5(2), 1000-11. Review (査読有).

2. Sekiyama K, Waragai M, Akatsu H, Sugama S, Takenouchi T, Takamatsu Y, Fujita M, Sekigawa A, Rockenstein E, Inoue S, La Spada AR, Masliah E, Hashimoto M. DOI: 10.1002/acn3.77. Disease modifying effects of adiponectin in model of  $\alpha$ -synucleinopathies. *Ann Clin Trans Neurol* 2014 Jul 3;1(7):479-489 (査読有).

〔学会発表〕(計 1 件)

関山 一成、藤田 雅代、高松 芳樹、橋本 欽 シヌクレイノパチー病態におけるアディポネクチンの治療効果について 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 4 日神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 1 件）

名称：「Method for treating and/or preventing neurodegenerative disease by adiponectin receptor agonist」

発明者：関山 一成、藤田 雅代、高松 芳樹、橋本 款

権利者：公益財団法人東京都医学総合研究所

種類：国際特許出願

番号：US 13/590,065

取得年月日：平成 28 年 6 月 20 日

国内外の別： 国外（米国）

〔その他〕

東京都医学研 HP：

<http://www.igakuken.or.jp/parkinson/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

橋本 款（HASHIMOTO, Makoto）

公益財団法人東京都医学総合研究所

認知症・高次脳機能研究分野・副参事研

究員

研究者番号：50189502

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし