

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26430058

研究課題名(和文)アルツハイマー病：食物由来のアミロイド- 蛋白抑制物質の併用療法と環境療法の探索

研究課題名(英文) Alzheimer's disease: Exploration of combination therapy with food-derived amyloid-beta peptide modulators and environmental therapy.

研究代表者

森 隆 (MORI, TAKASHI)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：60239605

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)：アルツハイマー病のモデルマウス(PSAPPマウス)に、食物由来フェノール化合物(A 蛋白産生系の抑制化合物と非A 蛋白産生系の亢進化合物)の併用投与を行った。併用投与が、行動学的障害(新規物体認識障害、探索行動における過活動、空間作業記憶障害、短期記憶障害)と脳アミロイド症の病態軽減に加算効果がある重要なデータが得られた。これらの効果は、アミロイド前駆体蛋白の段階的酵素切断への加算的な干渉に関連していた。さらに、病態改善には、併用投与による抗炎症効果、抗酸化効果、シナプス関連蛋白の改善効果も重要な役割を果たしていた。以上、併用投与が、アルツハイマー病の有望な治療法となる前臨床データを提示した。

研究成果の概要(英文)：To examine whether combination therapy further modifies versus single treatment, we treated with an alpha-secretase promotor and a beta-secretase modulator to the model mouse of Alzheimer's disease (AD) (PSAPP mouse). Combination therapy further remediated most behavioral outcome measures versus either single treatment. Moreover, double-treated PSAPP mice had further amelioration of cerebral amyloidosis compared to single treatment alone. Combination therapy elevated nonamyloidogenic soluble APP-alpha and ADAM10, and downregulated expression of amyloidogenic -carboxyl-terminal APP fragment and BACE1. In concert, the ratio of beta- to alpha-carboxyl-terminal APP fragment was decreased. In toto, combined treatment shifted APP cleavage toward the non-amyloidogenic pathway. Further co-treatment effects included amelioration of neuroinflammation, oxidative stress, and synaptotoxicity. Therefore, we offer preclinical evidence that combination therapy is a promising AD therapeutic approach.

研究分野：神経病理学

キーワード：アルツハイマー病 遺伝子改変マウス フェノール化合物 抗炎症効果 抗酸化効果 シナプス関連蛋白 認知機能 行動機能

1. 研究開始当初の背景

認知症(アルツハイマー型)研究の方向性は、**(1) 脳内A** (シナプス損傷の原因物質)の産生・沈着を減らす、アミロイド前駆体蛋白の切断酵素の標的化合物の探索(**secretase標的療法**)、脳内Aを除去する研究(**免疫療法・蛋白分解療法**)、**(2) タウ蛋白のリン酸化**(神経細胞障害の原因)の抑制化合物の探索(**リン酸化抑制療法**)に向いていた。世界中で臨床試験が同時進行しているが、認可に至っていない。このような状況下で、安全性が担保されやすい**食物由来フェノール化合物**の中から**Aの産生・沈着とタウ蛋白のリン酸化を抑制する補助治療薬**を探索する着想に至った。本研究は、**認知症の発症と病態進展を遅らせることにつながり、国民が求めている研究**であり、社会に貢献できると考えた。

2. 研究の目的

本研究は、「**認知症(アルツハイマー型)の発症予防と病態進展の遅延を目指した補助治療薬の臨床応用**」を進めた。このため、食物由来フェノール化合物の中から、抗フリーラジカル除去・抗炎症作用に加えて、病態進展に影響する脳内のA産生・沈着とタウ蛋白のリン酸化も抑制する化合物を**病態細胞モデル**で探索した。併用投与の加算・相乗効果も調べた。さらに、有望な併用投与を**病態マウスモデル**で検討し、臨床応用を目指した。

3. 研究の方法

食物由来フェノール化合物の中で、抗フリーラジカル除去・抗炎症作用に加えて、病態進展に影響する脳内のA産生・沈着とタウ蛋白のリン酸化も抑制する化合物を**病態細胞モデル**で探索した。併用投与の加算・相乗

効果も調べた。さらに、有望な併用投与を**病態マウスモデル**で検討した。

本研究では、下記の2項目を明らかにした。

(1) 食物由来フェノール化合物の探索(併用投与の加算・相乗効果も検討)

(2) 併用投与を Preclinical study として検討

得られた成果は、**認知症(アルツハイマー型)の発症予防と病態進行の遅延に向けた補助治療薬として臨床応用**へ直結する。

4. 研究成果

研究成果

食物由来フェノール化合物：1) ferulic acid($A\beta$ 蛋白産生系の抑制化合物)、2) octyl gallate(非 $A\beta$ 蛋白産生系の亢進化合物)の併用投与を行った。アルツハイマー病の脳アミロイド症のモデルマウス(PSAPPマウス)に、12ヵ月齢から3ヵ月間、0.2 mL/mouse (30 mg/kg)を24時間毎に経口投与し、その効果を単独投与群そして対照群(Wild-typeマウス群)と比較検討した。併用投与すると、PSAPPマウスで観察される新規物体認識障害、探索行動における過活動、空間作業記憶障害、短期記憶障害などの行動学的障害が単独投与群より有意に改善し、加算効果を示した。単独投与群でも対照投与群と比較して、行動学的障害が有意に改善した。併用投与したPSAPPマウスは、単独投与と比較して、脳実質の $A\beta$ 沈着及び脳内 $A\beta$ レベルが有意に減少した。これらの効果は、アミロイド前駆体蛋白の段階的酵素切断への加算的な干渉に関連していた。重要な有効性として、これらの薬剤の併用投与は一剤投与よりも、 β -アミロイド斑周囲の gliosis を有意に抑制、pro-inflammatory cytokines (TNF- α ・IL-1 β)の mRNA レベルも有意に沈静化した。抗酸化酵素(SOD1・GPx1)の mRNA レベルも有意に低下した。神経線維末端のシナプス

関連蛋白である synaptophysin の免疫染色性が海馬の CA1 領域、皮質の entorhinal cortex 領域で有意に改善した。以上の結果は、併用投与が、行動学的障害及び脳アミロイド症の病態軽減に加算効果がある重要なデータが得られたことを示していることに加えて、これらの病態改善にプラスに影響した抗炎症効果、抗酸化効果、シナプス関連蛋白の改善の加算効果も重要な役割を果たしていると考えられた。

研究成果

食物由来フェノール化合物：1) ferulic acid (A β 蛋白産生系の抑制化合物)、2) (-)-epigallocatechin-3-gallate(非 A β 蛋白産生系の亢進化合物)の併用投与を行った。アルツハイマー病の脳アミロイド症のモデルマウス(PSAPP マウス)に、12 ヶ月齢から 3 ヶ月間、0.2 mL/mouse (30 mg/kg)を 24 時間毎に経口投与し、その効果を単独投与群そして対照群(Wild-type マウス群)と比較検討した。併用投与すると、PSAPP マウスで観察される新規物体認識障害、探索行動における過活動、空間作業記憶障害、短期記憶障害などの行動学的障害が単独投与群より有意に改善し、加算効果を示した。単独投与群でも対照投与群と比較して、行動学的障害が有意に改善した。併用投与した PSAPP マウスは、単独投与と比較して、脳実質の A β 沈着及び脳内 A β レベルが有意に減少した。これらの効果は、アミロイド前駆体蛋白の段階的酵素切断への加算的な干渉に関連していた。重要な有効性として、これらの薬剤の併用投与は一剤投与よりも、 β -アミロイド斑周囲の gliosis を有意に抑制、pro-inflammatory cytokines (TNF- α ・IL-1 β) の mRNA レベルも有意に沈静化した。抗酸化酵素(SOD1・GPx1)の mRNA・蛋白レベルも有意に低下した。神経線維末端のシナプス関連蛋白である synaptophysin の免

疫染色性が海馬の CA1 領域、皮質の entorhinal cortex 領域で有意に改善した。以上の結果は、併用投与が、行動学的障害及び脳アミロイド症の病態軽減に加算効果がある重要なデータが得られたことを示していることに加えて、これらの病態改善にプラスに影響した抗炎症効果、抗酸化効果、シナプス関連蛋白の改善の加算効果も重要な役割を果たしていると考えられた。

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 8 件)

1. **Takashi Mori**, Naoki Koyama, Jun Tan, Tatsuya Segawa, Masahiro Maeda, Terrence Town. Combination therapy with octyl gallate and ferulic acid improves cognition and neurodegeneration in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 92 (27):11310-11325, 2017. doi: 10.1074/jbc.M116.762658. (査読有)
2. **森 隆**. アルツハイマー病の新規治療法：オクチルガレートとフェルラ酸の併用療法. *BIO INDUSTRY*, 34 (10): 23-32, 2017 (査読無)
3. **Takashi Mori**, Naoki Koyama, Jun Tan, Tatsuya Segawa, Masanori Maeda, Terrence Town. Combination therapy with (-)-epigallocatechin-3-gallate and ferulic acid effectively modifies Alzheimer-like pathology. *Neuroscience 17 Abst*, 127.08, 2017. (査読無)
4. Naoki Koyama, **Takashi Mori**. Combined (-)-epigallocatechin-3-gallate and ferulic acid effectively modify Alzheimer-like pathology. *Exp Anim*, 66 (Supplement), S64 (IC14), 2017. doi: 10.1538/expanim.66suppl-PP(査読無)
5. Darrell Sawmiller, Ahsan Habib, Song Li, Donna Darlington, Huayan Hou, Jun Tian, R. Douglas Shytle, Adam Smith, Brian Giunta, **Takashi Mori**, Jun Tan. Diosmin reduces cerebral A β levels, tau hyperphosphorylation, neuroinflammation, and cognitive impairment in the 3xTg-AD mice. *J Neuroimmunol*, 299: 98-106, 2016. doi: 10.1016/j.jneuroim.2016.08.018. (査読有)
6. Naoki Koyama, **Takashi Mori**. Combined

secretase modulation therapy provides cognitive benefit and reduces brain amyloid pathology. *Exp Anim*, 65 (Supplement), S80 (P24), 2016. doi: 10.1538/expanim.65suppl-P (査読無)

7. Darrell Sawmiller, Song Li, Huayan Hou, **Takashi Mori**, Adam Smith, Jun Tian, Yanjiang Wang, Brian Giunta, Paul R. Sanberg, Sheqing Zhang, Jun Tan. Swedish mutant APP-based BACE1 binding site peptide reduces APP β -cleavage and cerebral A β levels in Alzheimer's mice. *Neuroscience 15 Abst*, 485.14, 2015. (査読無)

8. **Takashi Mori**, Naoki Koyama, Jun Tan, Terrence Town. Combined secretase modulation therapy provides cognitive benefit and ameliorates cerebral amyloid pathology in transgenic mice. *Neuroscience 15 Abst*, 130.18, 2015. (査読無)

[学会発表](計6件)

1. **Takashi Mori**, Naoki Koyama, Jun Tan, Tatsuya Segawa, Masanori Maeda, Terrence Town. Combination therapy with (-)-epigallocatechin-3-gallate and ferulic acid effectively modifies Alzheimer-like pathology. *Neuroscience 17*, November 12, 2017, (Washington D.C., U.S.A.).

2. 小山直基, **森 隆**. [展示] エピガロカテキン 3-ガレート・フェルラ酸の併用投与によるアルツハイマー様病態改善の加算効果 **第64回日本実験動物学会総会**, 2017. 5. 25-27.

3. 小山直基, **森 隆**. [展示] セクレターゼ標的薬剤の併用投与による行動学的障害及び脳アミロイド症の病態改善の相乗効果 **第63回日本実験動物学会総会**, 2016. 5. 18-20.

4. **森 隆** [展示] セクレターゼ標的薬剤(フェルラ酸・オクチルガレート)の併用投与によるアルツハイマー様病態の改善効果. **第27回日本脳循環代謝学会総会**, 2015. 10. 30-31.

5. **Takashi Mori**, Naoki Koyama, Jun Tan, Terrence Town. Combined secretase modulation therapy provides cognitive benefit and ameliorates cerebral amyloid pathology in transgenic mice. *Neuroscience 15*, October 18, 2015, (Chicago, U.S.A.).

6. 小山直基, **森 隆**. [展示] フェルラ酸・

オクチルガレート併用投与による行動学的障害の改善効果:アルツハイマーモデルマウスでの検討. **第62回日本実験動物学会総会**, 2015. 5. 28-30.

[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:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者
森 隆 (MORI, TAKASHI)
(埼玉医科大学・医学部・教授)
研究者番号: 60239605

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者
小山 直基 (KOYAMA, NAOKI)
(埼玉医科大学)
岡田 祥子 (OKADA, SACHIKO)
(埼玉医科大学)
龍前 真也 (RYUMAE, SHINYA)
(埼玉医科大学)
前田 雅弘 (MAEDA, MASAHIRO)
(免疫生物研究所)
丸山 順裕 (MARUYAMA, NOBUHIRO)
(免疫生物研究所)

TAN, JUN

(University of South Florida)

TOWN, TERRENCE

(Keck School of Medicine of the University of Southern California)