

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 19 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390145

研究課題名（和文） 血管からみたアルツハイマー病の新規治療法の開発

研究課題名（英文）

Development of a novel therapy for Alzheimer's disease based on vascular modification

研究代表者

森下 竜一（MORISHITA RYUICHI）

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：40291439

研究成果の概要（和文）：

超高齢化社会を迎える現代社会にとって、アルツハイマー病(AD)は解決の待たれる疾患である。近年、血管因子が注目されており、血管からみた AD 新規治療薬の探索を行った。我々は AD モデル動物において血管に炎症を惹起するとその炎症の脳内への波及が増強することを見出し、その原因として血液脳関門の破綻を示した。血液脳関門の破綻を抑止することが AD の予防・治療ターゲットになりうることを提示した。

研究成果の概要（英文）：

Development of a novel therapy for Alzheimer's disease (AD) is needed for our society with increased elderly population. We investigated the involvement of vascular factors in the pathogenesis of AD. We found increased blood-brain barrier vulnerability to systemic inflammation in Alzheimer disease mouse model. We propose the protection of blood-brain barrier from disruption is a possible therapeutic target for AD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2011 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2012 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：内科一般（含心身医学）

科研費の分科・細目：

キーワード：ベータ・アミロイド、炎症、血液脳関門、サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎える現代社会にとって、アルツハイマー病は解決の待たれる疾患であ

り、AD の原因と仮定されているベータ・アミロイドのワクチンや産生酵素阻害剤を中心に開発されている。しかしながら、重篤な

副作用の懸念もあり、別のアプローチによる新規予防・治療法の開発が求められている。

2. 研究の目的

近年、疫学的な諸調査により、糖尿病・高血圧といったアルツハイマー病危険因子、非ステロイド性抗炎症薬やスタチン使用などのアルツハイマー病発症抑制因子などが注目されるに至り、血管因子が最注目されることになり、血管からみたアルツハイマー病新規治療薬の探索を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

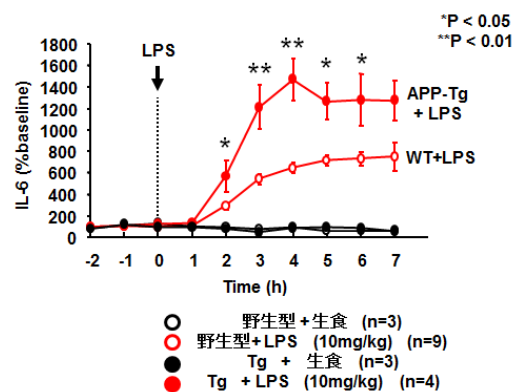
糖尿病合併アルツハイマー病モデルを用いてその血管病変を明らかにするとともに、アルツハイマー病モデルにおいて全身炎症が脳内に波及する効果を血液脳関門に着目して検討する。

4. 研究成果

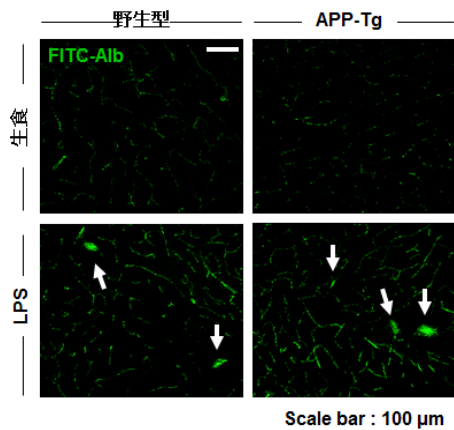
(1) 我々は糖尿病合併アルツハイマー病マウスの血管病変を解析した。血管を単離し、ベータ・アミロイドに対する抗体で免疫染色を行ったところ、糖尿病合併アルツハイマー病マウスにおいて従来のアルツハイマー病マウスに比し、脳血管へのベータ・アミロイド沈着が顕著であった。この変化は動脈～細動脈～毛細血管において認められた。これらの脳血管へのベータ・アミロイド沈着は6か月以降に顕著であった。我々はこれらのマウスの行動実験においてより早期(8週齢)より認知機能障害を認めていたので、この時期における血管の変化を検討した。我々は糖尿病において血管に蓄積してくる最終糖化産物(Advanced glycation endproducts : AGE)に対する Receptor である RAGE に着目し、この RAGE に対する抗体を用いて免疫染色したところ、糖尿病合併アルツハイマー病マウスにおいて、正常マウス、糖尿病マウス、アルツハイマー病マウスに比し、脳血管へのベータ・アミロイド沈着が顕著であった。RAGE はイムノグロブリン・スーパーファミリーに

属し、炎症を惹起させることが知られている。脳組織を炎症性サイトカインである IL-6 や TNF- α に対する抗体を用いて検討したところ糖尿病合併アルツハイマー病マウスにおいて、正常マウス、糖尿病マウス、アルツハイマー病マウスに比し、脳血管周囲において免疫原性が増加しており、炎症が惹起されていることが示唆された(Sato, et al. *Current Aging Science*, 4, 118-127, 2011)。

(2) アルツハイマー病モデルにおいて全身炎症が脳内に波及する効果を検討するため、アルツハイマー病モデルマウスにリポ・ポリサッカライド(LPS)を腹腔に投与し、全身に炎症を惹起するモデルを用いて検討を行った。その結果、脳内マイクロダイアリスで測定した炎症性サイトカイン (IL-6、TNF α) が未投与時よりも増幅すること、さらにはアルツハイマー病モデルにおいて野生型マウスに比し、サイトカインの増幅がより増強することを見出した (下図) Takeda, et al. *Neurobiology of Aging*, in press)。



これはアルツハイマー病モデル動物において血管に炎症を惹起するとその炎症の脳内への波及が増強することを示しており、その一つの方法としてアルツハイマー病モデルマウスにおける血液脳関門の破綻が示唆された(次頁図)。



また、アルツハイマー病症例の脳血管の微細構造を電子顕微鏡で解析し、血管内皮細胞間のタイト・ジャンクションの電子密度の低下と細胞-細胞間接着の減弱を示した。これらのデータはいずれもアルツハイマー病における血液脳関門の破綻を支持するものである。アルツハイマー病における脳血管の炎症が脳実質へと波及し、脳萎縮・神経変性を誘導することでアルツハイマー病態を修飾するという仮説を支持する結果を得たと言える。血液脳関門の破綻を抑止することがアルツハイマー病の予防・治療ターゲットになりうることを提示した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Kazuko Ikimura, Hirohito Nishino, Hiromi Rakugi and Ryuichi Morishita. Increased Blood-Brain Barrier Vulnerability to Systemic Inflammation in Alzheimer Disease Mouse Model. **Neurobiology of Aging**, 2013, in press
2. Naoyuki Sato, Masayasu Okochi, Mitsuru Shinohara, Gopal Thinakaran, Shuko Takeda, Akio Fukumori, Motoko Shinohara-Noma, Mari Mori-Ueda, Hizuki Hamada, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. Differential Regulation of Amyloid Precursor Protein / Presenilin 1 Interaction during Aβ40/42

Production Detected Using Fusion Constructs. **PLoS ONE** 7(11): e48551.

3. Shuko Takeda, Naoyuki Sato*, Kozue Uchio-Yamada, Hisahiro Yu, Atsushi Moriguchi, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. Oral Glucose Loading Modulates Plasma Aβ Level in Alzheimer Disease Patients: Potential Diagnostic Method for Alzheimer Disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, in press, 2012.

4. Shuko Takeda, Naoyuki Sato*, Kazuko Ikimura, Hirohito Nishino, Hiromi Rakugi and Ryuichi Morishita*. Novel microdialysis method to assess neuropeptides and large molecules in free-moving mouse. **Neuroscience**, 186, 110-9, 2011.

5. Naoyuki Sato, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Tomomi Fujisawa, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. Role of insulin signaling in the interaction between Alzheimer disease and diabetes mellitus: a missing link to therapeutic potential. **Current Aging Science**, 4, 118-127, 2011.

6. Mitsuru Shinohara, Naoyuki Sato, Hitomi Kurinami, Daisuke Takeuchi, Shuko Takeda, Munehisa Shimamura, Toshihide Yamashita, Yasuo Uchiyama, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. Reduction of brain Aβ by fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, through increase in degradation of APP-CTFs and Aβ clearance. **The Journal of Biological Chemistry** 285, 22091-22102, 2010.

7. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. Plasma Beta-Amyloid as Potential Biomarker of Alzheimer Disease: Possibility of Diagnostic Tool of Alzheimer Disease. **Molecular BioSystems**, 6, 1760-1766, 2010.

8. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Kozue Uchio-Yamada, Kyoko Sawada, Takanori Kunieda, Daisuke Takeuchi, Hitomi Kurinami, Mitsuru Shinohara, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. Diabetes accelerated memory dysfunction via cerebrovascular inflammation and A β deposition in an Alzheimer mouse model with diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 13, 107, 7036-41, 2010.

9. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. Animal Models of Alzheimer Disease for Translational Research: Current and Future Concepts. *Horizons in Neuroscience Research. Volume 4* (Hardcover), Nova Science Publishers, Inc., ISBN: 978-1-61728-929-3 (Pub. Date: 2010 4th quarter)

[学会発表] (計 19 件)

1. Naoyuki Sato, Ryuichi Morishita
Symposia S16: Strategies on biomarkers to diagnose Alzheimer's disease. Chair: Laura Morelli "Role of adult common disease in the development of Alzheimer disease: Application to diagnostic and therapeutic indication" 24th Biennial Joint Meeting, International society for Neurochemistry, American Society for Neurochemistry, 22th, April, 2013, Cancun, Mexico

2. N Sato, M Mori-Ueda, T Tanaka, S Takeda, K Uchio-Yamada, H Ueda, M Shinohara, S Murayama, M Takeda, H Rakugi, R Morishita. "Diabetes increases tau phosphorylation in APP mice: evidence that Abeta is prerequisite, but insufficient to cause tau phosphorylation" The 11th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases AD/PD 2013, March 10, 2013, Italy

3. N Sato, M Okochi, M Shinohara, G Thinakaran, S Takeda, A Fukumori, M Shinohara-Noma, M Mori-Ueda, H Hamada, M Takeda, H Rakugi, R Morishita. "Amyloid precursor protein/presenilin 1 interaction is differentially regulated during Abeta40/42 production: detection using fusion constructs" The 11th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases AD/PD 2013, March 9, 2013, Italy

4. Naoyuki Sato, Mari Mori-Ueda, Toshihisa Tanaka, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Mitsuru Shinohara, Shigeo Murayama, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "The mechanisms by which diabetes mellitus increases the risk of Alzheimer's disease" Keystone Symposia, Aging and Diseases of Aging, October 25, 2012, Tokyo

5. Naoyuki Sato, Mari Mori-Ueda, Toshihisa Tanaka, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Mitsuru Shinohara, Shigeo Murayama, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "Old APP xob/ob mice showed highly increased level of tau phosphorylation in brain" Neuroscience 2012, October 15, 2012, New Orleans

6. Naoyuki Sato, Mari Mori-Ueda, Toshihisa Tanaka, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Mitsuru Shinohara, Shigeo Murayama, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "Roles of beta-amyloid and insulin resistance in the interaction between diabetes mellitus and Alzheimer's disease" Gordon Research Conferences, Neurobiology of Brain Disorders. Chair: Jie Shen, Vice Chair: Joachim J. Herz. Stonehill College, August 5-10, 2012

7. Naoyuki Sato, Mitsuru Shinohara, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "Statins up-regulate APP-CTF degradation and Abeta clearance" KEYSTONE SYMPOSIA- ApoE, Alzheimer's and Lipoprotein Biology, Feb 28, 2012, Keystone, Colorado
8. Naoyuki Sato, Shuko Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "PATHOLOGICAL INTERACTION BETWEEN ALZHEIMER DISEASE AND DIABETES MELLITUS" Present and Future Alzheimer's Research / Grobal Alzheimer's Research Summit, Sep 22-23, 2011, Madrid
9. Naoyuki Sato, Shuko Takeda, Mari Ueda, Hisahiro Yu, Atsushi Moriguchi, Kozue Uchio-Yamada, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "CHANGE IN PLASMA BETA-AMYLOID LEVEL AFTER GLUCOSE LOADING : A POSSIBLE BIOMARKER FOR ALZHEIMER DISEASE" AAIC (Alzheimer Association International Conference) 2011, 2011 July 18, Paris
10. Naoyuki Sato, Mitsuru Shinohara, Shuko Takeda, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. "Dual Effects of a Statin on Abeta Metabolism: Up-regulation of Degradation of APP-CTF and Abeta Clearance" The 10th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases (ADPD 2011), 2011 March 12, Barcelona, Spain (Oral presentation, Symposium 39 Drug Discovery and Development 2)
11. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. "Increased Blood-brain Barrier Vulnerability to Systemic Inflammation in Alzheimer Disease Mouse Model" The 10th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases (ADPD 2011), 2011 March 10, Barcelona, Spain (Oral presentation, Symposium 11 Inflammatory mediators in Neurodegeneration) (Awarded for Junior Faculty Award)
12. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Kozue Uchio-Yamada, Hisahiro Yu, Atsushi Moriguchi, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. "Alteration in Plasma Beta-amyloid Levels after Glucose Loading Could Be a Novel Diagnostic Marker for Alzheimer Disease" The 10th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases (ADPD 2011), 2011 March 9, Barcelona, Spain (Poster session 1)
13. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Kozue Uchio-Yamada, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. "Mechanistic Interaction between Alzheimer Disease and Diabetes Mellitus: Analysis of Novel Mouse Models of Alzheimer Disease with Diabetes" The 10th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases (ADPD 2011), 2011 March 9, Barcelona, Spain (Poster session 1)
14. Naoyuki Sato, Shuko Takeda, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita "Possible Mutual Interaction Between Diabetes Mellitus and Alzheimer Disease: Generation of Novel Transgenic Mice Models of Alzheimer Disease With Diabetes" Session Title: Microcirculation and Cerebral/Coronary/Peripheral Circulation (Oral presentation), AHA Scientific Sessions 2010, Chicago, U.S.A. (November 15, 2010)
15. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita "Increased brain vulnerability to systemic inflammation in Alzheimer disease transgenic mouse model" Nanosymposium 321-12(Oral presentation): Alzheimer Disease Abeta Toxicity and Downstream Effectors, The 40th annual meeting

of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2010), San Diego, U.S.A. (November 15, 2010)

16. Shuko Takeda "Mechanistic Interaction Between Diabetes Mellitus and Alzheimer Disease: Generation of Novel Transgenic Mouse Models of Alzheimer Disease With Diabetes" Oral Session 3 <Young Investigator in Asia> (国際 Y.I.A.受賞講演), The 4th AFLAS (Asian Federation of Laboratory Animal Science Associations) Congress Meeting, Taipei, Taiwan (November 9, 2010)

17. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Kozue Uchio-Yamada, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita "Diabetes Accelerated Memory Dysfunction via Cerebrovascular Inflammation and Beta-Amyloid Deposition in Alzheimer Mouse Model: Generation of Novel Transgenic Mouse Models of Alzheimer Disease with Diabetes" Oral Presentations; Vascular Consequences of Obesity and Insulin Resistance-Pathobiology and Pharmacology (# A-215-0022-00961), 23rd Scientific Meeting of the International Society of Hypertension (ISH2010), Vancouver, Canada (September 27, 2010)

18. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Masanobu Kano, Toshio Ogihara, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita "Angiotensin Receptor Blocker Prevented β -Amyloid-Induced Memory Impairment Associated with Recovery of Neurovascular Coupling" Poster Session B (PS2/TUE/16) (Selected for Highest scored posters), 23rd Scientific Meeting of the International Society of Hypertension (ISH2010), Vancouver, Canada (September 28, 2010)

19. Shuko Takeda, Naoyuki Sato, Kozue Uchio-Yamada, Kyoko Sawada, Takanori Kunieda, Mitsuru Shinohara, Hiromi Rakugi,

Ryuichi Morishita "Diabetes mellitus exacerbated learning impairment via cerebrovascular inflammation and disturbance of brain insulin signaling in Alzheimer mouse models with diabetes" Poster#:P2-346, Alzheimer's Association International Conference on Alzheimer Disease 2010(ICAD2010), Honolulu, Hawaii (July 12, 2010)

[産業財産権]

○取得状況 (計 1 件)

名称：『新規マイクロダイアライシス回路を用いた脳内物質の精密測定法』
発明者：西野博仁、生村和子、武田 朱公、里 直行、森下 竜一
権利者：
種類：
番号：特許第 4625914 号
出願年月日：2010 年 4 月 26 日
国内外の別

[その他]
ホームページ等
<http://www.cgt.med.osaka-u.ac.jp/>

http://www.osaka-u.ac.jp/en/research/annual-report/volume-11/100_select_paper/copy6_of_science02.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森下 竜一 (MORISHITA RYUICHI)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：40291439

(2) 研究分担者

島村 宗尚 (SHIMAMURA MUNEHISA)
大阪大学・その他研究科・准教授
研究者番号：60422317

(3) 研究分担者

里 直行 (SATO NAOYUKI)
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：70372612

(4) 研究分担者

内藤 こずえ (NAITO KOZUE)
独立行政法人医薬基盤研究所・その他部局等
研究者番号：70373397