

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430059

研究課題名(和文) スフィンゴシン1リン酸によるA β 産生・分解の同時制御法の開発

研究課題名(英文) Simultaneous control of the production and degradation of Amyloid beta by Sphingosine kinase/sphingosine-1-phosphate signaling

研究代表者

高杉 展正 (TAKASUGI, NOBUMASA)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：60436590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)は、進行性の認知機能障害を呈する神経変性疾患である。現在、AD患者脳の病理学的特徴である老人斑の主要構成成分であるアミロイドタンパク(A β)の産生および蓄積がADの発症に深く関係しているとする「アミロイド仮説」が強く支持されている。本研究において、神経炎症反応を制御する脂質系セカンドメッセンジャーであるSphingosine-1-phosphate及びその産生酵素の一つであるSphingosine kinase2がAD患者脳で活性化されており、A β の産生、及びその代謝を同時に制御する因子としてAD根治療法のターゲットとなりうることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease. The over-production and aggregation of Amyloid beta (A β) peptides in brains are considered to be the major pathogenic event for AD. We identified Sphingosine kinase 2 (SphK2) activity is upregulated in AD, and caused to increase the level of A β . These results strongly suggest SphK2 and its product sphingosine-1-phosphate are the therapeutic target for AD.

研究分野：生物系薬学

キーワード：アルツハイマー病 S1P SphK2 脂質代謝酵素

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は進行性の認知機能の低下を症状とする神経変性疾患であり、高齢化が進む我が国では、その根治療法の開発が喫緊の課題である。Amyloid- β (A β) ペプチドはADにおける病理学的特徴の一つ、老人斑の主要構成成分であり、病態初期から蓄積し毒性の高い凝集体を形成する。そのため、A β の産生と分解のバランスが崩れることが発症の原因とする「アミロイド仮説」が遺伝学的・生化学的検証から、広く支持されている(図1, Takasugi et al., Nature 2003)。

一方で、アミロイド仮説に基づいた根治療法の開発は、臨床試験段階で治療効果を示せず失敗を続けている。その原因として、(1) 孤発性ADにおいてA β 代謝のバランスが崩れる要因について未解明な部分が多い、(2) 病態が進行すると、神経炎症反応の活性化、神経細胞死などの副次的な病態が起こる、ことなどがあげられる。

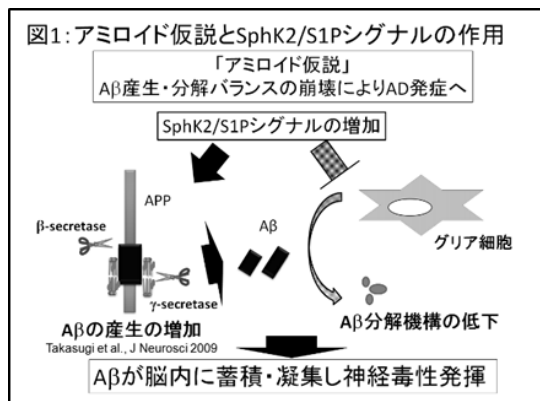
すなわち、単純な脳内A β レベルの調節だけでは、AD発症を引き起こす病態の完全な改善に至らず、十分な治療効果が得られていない可能性がある。

そのため、アミロイド仮説のさらに上流に位置する発症機構に基づき、かつ、炎症反応などの副次的な病態を改善できるAD根治療法の開発が必要とされていた。

2. 研究の目的

研究代表者らは、脂質系セカンドメッセンジャーの一つ Sphingosine-1-phosphate (S1P) を産生する Sphingosine kinase 2 (SphK2) の活性がAD患者脳において上昇していること、さらに、SphK2活性上昇により、A β の産生が増加していることを見出していた(図1)。

本研究課題では、SphK2/S1Pシグナルに基づき、A β の産生・分解の双方を制御し、かつ、炎症反応を抑制できる多機能性のAD根本的治療薬の開発を目指して解析を行った。



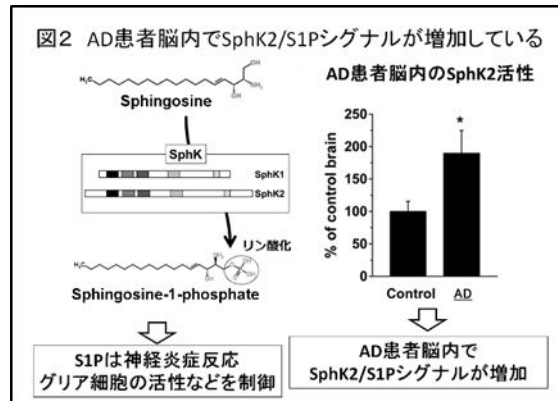
3. 研究の方法

主にヒト由来アストログリオーマ U87 細胞、ラット由来初代培養アストロサイト細胞を用い、SphK2/S1Pシグナル関連遺伝子の発現、阻害剤の使用により、LXR/RXRなどの核内受容体のアゴニスト処理によるAPOE発現誘導、

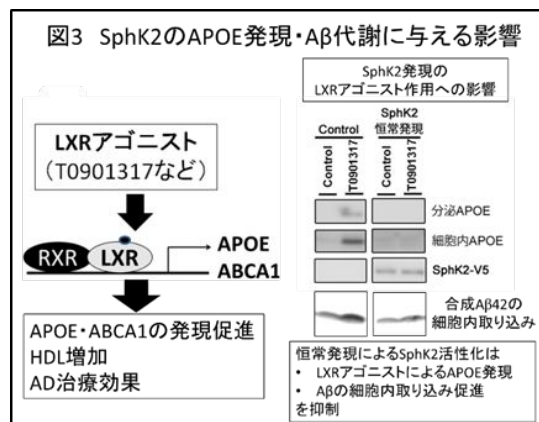
A 代謝の亢進について、感受性を検討した。

4. 研究成果

S1Pは細胞表面でリガンドとしてGタンパク質結合型受容体であるS1P受容体と結合するとともに、核内でヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)などに結合し、転写を制御するなど、様々な生理活性調節機構を持っていることが知られている。申請者らは、AD患者脳においてS1Pの産生酵素の一つであるSphingosine kinase 2 (SphK2)の活性が上昇し、神経細胞A β 産生を増加させる可能性を見出している(図2, Takasugi et al., J Neurosci 2009)。

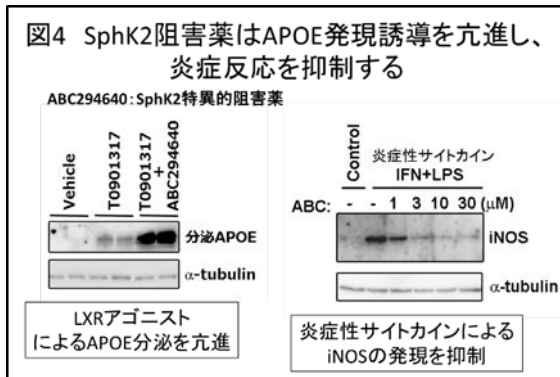


一方、これまでにSphK2/S1PシグナルがADにおいてグリア細胞に及ぼす影響については知られていなかった。興味深いことに、S1PはADの最大の遺伝的リスクファクターであるApolipoprotein E (APOE)と、高密度リポタンパク質(HDL)構成因子として共局在する。HDLはグリア細胞でのA β の取り込みと分解に寄与し、核内受容体である肝臓X受容体(LXR)のアゴニストはHDL産生を制御するタンパク質(APOE, ABCA1など)の発現を誘導し、ADモデルマウスのA β 代謝・認知機能を改善する。我々は、グリア由来細胞へLXRアゴニスト処理を行い、APOE発現が誘導され、A β の細胞内取り込みが亢進することを確認した。一方、SphK2恒常発現細胞ではLXRアゴニストによるAPOE発現誘導・A β 取り込みの増加がともに抑制された(図3)。

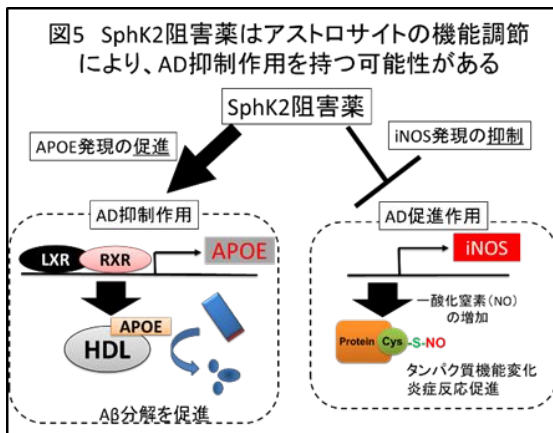


興味深いことに、SphK2 特異的な阻害薬で

ある ABC294640 は APOE の発現を亢進する一方で、炎症性サイトカインにより誘導され、炎症反応を促進する誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の発現を抑制することが明らかとなった (図 4)。



これらの知見より SphK2 阻害薬が神経細胞における A の産生抑制効果とともに、アストロサイトにおける A 分解を促進し、炎症反応を抑制する可能性が示唆された (図 5)。



また、A 代謝制御に関わる脂質代謝酵素のスクリーニングを行い、AD 関連遺伝子 APP に結合する新たな脂質代謝酵素を同定しており、その解析も進めている。

本研究成果により、これまでのアミロイド仮説に基づいた AD 根本治療薬の開発とは一線を画し、AD 患者脳で SphK2 活性が上昇するという AD 病態に基づき、A の産生・代謝の両方を調節でき、さらに抗神経炎症作用が期待できるユニークなコンセプトを持つ根本治療薬の開発につながることを期待される。

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 2 件)

Kamikubo Y, Takasugi N, Niisato K, Hashimoto Y, Sakurai T; Consecutive Analysis of BACE1 Function on Developing and Developed Neuronal Cells. J Alzheimers Dis. 査読あり、56: 641-653,

2017、DOI: 10.3233/JAD-160806

Takasugi N, Sasaki T, Shinohara M, Iwatsubo T, Tomita T; Synthetic ceramide analogues increase Aβ42 production by modulating γ-secretase activity. Biochem Biophys Res Commun. 査読あり、457: 194-199、2015、DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.12.087

[学会発表](計 5 件)

野田 祐佳、高杉 展正, SphK2/S1P シグナルによるアルツハイマー病治療法の開発、2016 年 6 月 24 日、第 129 回日本薬理学会近畿部会、広島県医師会館 (広島県)

高杉 展正 APP- CTF に特異的に結合するエンドソームタンパク質の解析、2016 年 3 月 27 日、日本薬学会、パシフィコ横浜 (神奈川県)

高杉 展正 The analysis of endosomal proteins, which interact with APP- CTF 第 128 回 日本薬理学会近畿部会 2015 年 11 月 20 日、千里ライフサイエンスセンター (大阪府)

TAKASUGI Nobumasa The analysis of endosomal proteins, which interact with APP- CTF、2015 年 10 月 18 日、Neuroscience 2015、McCormick Place in Chicago, USA

高杉 展正 APP- CTF に特異的に結合するエンドソームタンパク質の解析、第 88 回日本薬理学会年会、2015 年 3 月 19 日、名古屋国際会議場 (愛知県)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 1 件)

名称: アルツハイマー病予防薬のスクリーニング法

発明者: 高杉 展正 新家 瑠奈 櫻井 隆

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2014-132309

出願年月日: 2014-06-17

国内外の別: 国内

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

高杉 展正 (TAKASUGI, Nobumasa)

岡山大学, 医歯(薬)学総合研究科, 准教授

研究者番号：60436590

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

富田 泰輔 (TOMITA, Taisuke)

東京大学大学院 薬学系研究科 教授

研究者番号：30292975

(4)研究協力者

()