

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04271

研究課題名(和文)細胞外タウ除去機構の破綻に基づくアルツハイマー病の病態解明と新規抗糖化療法の開発

研究課題名(英文)Development of anti-glycosylation agents for Alzheimer disease

研究代表者

猪原 匡史 (IHARA, MASAFUMI)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・部長

研究者番号：00372590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,790,000円

研究成果の概要(和文)：抗糖化薬タキシフォリンがアルツハイマー病モデルにおいて、アミロイドの蓄積による神経変性を抑え、認知機能障害を改善することを明らかにした。また、血管壁に沈着したアミロイドはタウの蓄積を促進することから、タキシフォリンはタウの蓄積を抑える可能性も示唆された。研究者らのグループは現在、シロスタゾールの抗認知症効果を検証する医師主導治験を行っている。この度得られた結果を基に、タキシフォリンの有効性を検証する臨床試験を行うことを計画している。

研究成果の概要(英文)：Taxifolin, a biologically active polyphenol with antiglycation activity, was found to suppress amyloid beta-induced neurodegeneration and restored cognitive impairment in an animal model of Alzheimer's disease. In addition, crossbleeding of amyloid beta-overexpressing mice with tau-overexpressing mice showed that vascular amyloid beta accelerated tau accumulation, suggesting that taxifolin can suppress tau accumulation in the brain. The researchers are conducting a clinical trial using cilostazol for patients with mild cognitive impairment. Based on the findings shown above, we are planning to start a clinical trial of taxifolin for patients with cognitive impairment.

研究分野：臨床神経学

キーワード：タキシフォリン 抗糖化作用 アルツハイマー病

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は未解決で最重要課題の一つである。100 を超えるその疾患修飾薬の開発が不調に終わった今、その解決を指向するための本質的な治療標的は、今後登場するものではなく既知の重要なものであると考えたい。それこそが、「血管」である。我々は血管を標的とした AD の治療可能性について研究を進めてきた。その根拠となったのは、脳循環不全をマウスに再現する独自の手法 (Stroke 2004, 2006, 2007, 2010a/b/c) を、3 種の アミロイド (A β) 過剰発現マウスに適用して得られた以下の基盤データであった。

1. 脳循環不全をアミロイド前駆体タンパク質過剰発現マウス (J9 マウス) に誘導すると、細胞外可溶性画分における A β の重合と海馬の神経細胞死が加速した (Brain Res 2009)。

2. 脳循環不全をアミロイド前駆体タンパク質過剰発現マウス (J20 マウス) に誘導すると、認知・学習機能が相乗的に悪化した (PLoS One 2011)。

3. 脳循環不全を脳血管指向性に A β が蓄積するモデル (Tg-SwDI マウス) に誘導すると、血管壁への A β 沈着が増強し、微小梗塞が誘導された (Acta Neuropathologica 2012)。

つまり、脳循環不全が A β 蓄積を招くことが明らかとなった。

さらに研究を進め、脳循環を改善する作用のある血管作動薬シロスタゾールが、「脳内リンパ系」とも言われる血管周囲ドレナージ経路を介して A β の排泄を促進することが明らかとなった (Ann Clin Transl Neurol 2014)。

2. 研究の目的

アルツハイマー病は未解決で最重要課題の一つである。100 を超えるその疾患修飾薬の開発が不調に終わった今、その解決を指向するための本質的な治療標的は、今後登場するものではなく既知の重要なものであると考えたい。それこそが、「血管」である。本申請課題では、A β の血管壁への沈着 (脳アミロイド血管症) を招く A β 排泄障害を標的とし、抗糖化薬による終末糖化産物受容体の下方制御を介したアルツハイマー病の新たな治療法を探索する。さらには、細胞外 Tau を除去する免疫療法によって Tau 病理が改善したという報告を踏まえ、血管依存性の Tau 排泄機構を明らかにし、脳アミロイド血管症を起点とする新たなアミロイド仮説の検証を行うことにより、血管を標的としたアルツハイマー病の新規治療法の確立を目的とする。

3. 研究の方法

(1) A β が蓄積してできる「A β オリゴマー (毒性をもつ立体構造)」が初期の脳アミロイド

血管症の主因であると仮定し、アミロイド凝集抑制作用を有する物質「タキシフォリン」を脳アミロイド血管症モデルマウスに投与して、タキシフォリン非投与のモデルマウスおよび正常マウスと比較した。

(2) 我々は過去の報告で、脳アミロイド血管症 (cerebral amyloid angiopathy: CAA) と密接に関連する乏血や虚血が A β 沈着を促進させることを報告した。一方タウは、GSK-3 等のリン酸化酵素によってその凝集性が亢進するが、GSK-3 は低酸素によって、活性が亢進することが知られている。今回我々は、慢性脳低灌流や CAA がタウ病理に与える影響を検討し、脳血管を標的としたタウの新規治療薬の可能性について検討した。3 ヶ月齢の野生型マウスおよび P301S 変異タウ過剰発現マウス (PS19) の右総頸動脈を結紮し慢性脳低灌流を誘導し、左右の海馬のリン酸化タウの蓄積を病理学的に解析した。PS19 マウスと CAA モデルマウス (Tg-SwDI) を交配させ、ダブルトランスジェニックマウス (double-Tg) を作成し、CAA、慢性脳低灌流、タウ病理の関連を検討した。

(3) 二大認知症であるアルツハイマー病と血管性認知症の異同を規定する病理学的変化、神経原線維変化 (主成分タウ) と脳アミロイド血管症 (主成分アミロイド β) を核イメージング検査にて検出する特異的 PET/SPECT トレーサーを開発する。

4. 研究成果

(1) タキシフォリン群において脳内の A β オリゴマー量は大幅に減少し、脳血流量や認知機能も正常に近い状態まで回復することが明らかになった。具体的には、脳アミロイド血管症のマウス (認知症モデルマウス) にタキシフォリンを投与したマウスの脳内の状況と認知機能障害の程度について、タキシフォリン非投与のモデルマウスおよび野生型 (正常) と比較した。その結果、脳内で重積して毒性を呈する A β オリゴマーの量はタキシフォリン投与群が非投与群の 4 分の 1 程度にまで減少していた。また、記憶の中核である海馬への A β 沈着量も、投与群は非投与群の半分程度であった。また、投与群の脳血流量はほぼ野生型と同等まで回復し、水迷路試験による空間記憶能テストでも野生型と変わらない結果であった。

(2) 右総頸動脈を結紮したマウスでは、手術 5 ヶ月後においても脳血流量は非手術側の約 90% であり、慢性脳低灌流が確認された。PS19 マウスの海馬では、非閉塞側に比して閉塞側で、タウのリン酸化が有意に亢進していた。脳血流量の低下は Tg-SwDI マウスと PS19 マウスを交配させた double-Tg マウスでも確認された。double-Tg マウスでは、Tg-SwDI マウスや PS19 マウスに比して、A β の沈着やタウのリン酸化が亢進しており、加えて神経細胞脱落および astrocyte や microglia の活性化が認められた。行動試験においても、

double-Tg マウスでは、不安行動の異常や視空間記憶障害が増悪していた。慢性脳低灌流はタウのリン酸化を促進させた。CAA への治療介入はタウ病理や神経細胞脱落にも有効である可能性が示唆された。

(3) 神経原線維変化(主成分タウ)と脳アミロイド血管症(主成分アミロイド)を核イメージング検査にて検出する特異的PET/SPECT トレーサーを開発し、2つの特許出願を京都大学薬学部とともにいった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 20 件)

1. Ihara M, Washida K. Linking atrial fibrillation with Alzheimer's disease: epidemiological, pathological, and mechanistic evidence. *J Alzheimers Dis* 2018;62(1):61-72. doi: 10.3233/JAD-170970.
2. Kuriyama N, Ozaki E, Mizuno T, Ihara M, Mizuno S, Koyama T, Matsui D, Watanabe I, Akazawa K, Takeda K, Takada A, Inaba M, Yamada S, Motoyama K, Takeshita W, Iwai K, Hashiguchi K, Kobayashi D, Kondo M, Tamura A, Yamada K, Nakagawa M, Watanabe Y. Association between α -Klotho and deep white matter lesions in the brain: A pilot case control study using brain MRI. *J Alzheimers Dis* 2018;61(1):145-155. doi: 10.3233/JAD-170466.
3. Watanabe H, Ariyoshi T, Ozaki A, Ihara M, Ono M, Saji H. Synthesis and biological evaluation of novel radioiodinated benzimidazole derivatives for imaging α -synuclein aggregates. *Bioorg Med Chem* 2017;25(24):6398-6403. doi: 10.1016/j.bmc.2017.10.010.
4. Yasuno F, Kudo T, Yamamoto A, Matsuoka K, Takahashi M, Iida H, Ihara M, Nagatsuka K, Kishimoto T. Significant correlation between openness personality in normal subjects and brain myelin mapping with T1/T2-weighted MR imaging. *Heliyon* 2017;3(9):e00411. doi: 10.1016/j.heliyon.2017.e00411
5. Kitamura A, Manso Y, Duncombe J, Searcy J, Koudelka J, Binnie M, Webster S, Lennen R, Jansen M, Marshall I, Ihara M, Kalaria RN, Horsburgh K. Long-term cilostazol treatment reduces gliovascular damage and memory impairment via endothelial protection in a mouse model of chronic cerebral hypoperfusion. *Sci Rep* 2017;7(1):4299. doi: 10.1038/s41598-017-04082-0.
6. Uemura M, Ihara M, Maki T, Nakagomi T, Kaji S, Uemura K, Matsuyama T, Kalaria RN, Kinoshita A, Takahashi R. Pericyte-derived bone morphogenetic protein 4 underlies white matter damage after chronic hypoperfusion. *Brain Pathol* in press doi: 10.1111/bpa.12523.
7. Saito S, Yamamoto Y, Maki T, Hattori Y, Ito H, Mizuno K, Harada-Shiba M, Kalaria RN, Fukushima M, Takahashi R, Ihara M. Taxifolin inhibits amyloid- β oligomer formation and fully restores vascular integrity and memory in cerebral amyloid angiopathy. *Acta Neuropathol Commun* 2017;5:26. doi: 10.1186/s40478-017-0429-5
8. Yasuno F, Kazui H, Kajimoto K, Ihara M, Morita N, Taguchi A, Yamamoto A, Matsuoka K, Takahashi M, Nakagawara J, Tsuji M, Iida H, Kishimoto T, Nagatsuka K. Mutual effect of cerebral amyloid β and peripheral lymphocytes in cognitively normal older individuals. *Int J Geriatr Psychiatry* 2017; 32(12):e93-e99. doi: 10.1002/gps.4660.
9. Yasuno F, Kazui H, Morita N, Kajimoto K, Ihara M, Taguchi A, Yamamoto A, Matsuoka K, Takahashi M, Nakagawara J, Iida H, Kishimoto T, Nagatsuka K. Use of T1-weighted/T2-weighted magnetic resonance ratio to elucidate changes due to amyloid β accumulation in cognitively normal subjects. *Neuroimage Clin* 2016;13: 209-214. doi: 10.1016/j.nicl.2016.11.029.
10. Saito S, Kojima S, Oishi N, Kakuta R, Maki T, Yasuno F, Nagatsuka K, Yamamoto H, Fukuyama H, Fukushima M, Ihara M. A multicenter, randomized, placebo-controlled trial for cilostazol in patients with MCI: the COMCID study protocol. *Alzheimers Dement (N Y)* 2016; 2: 250-257. doi: 10.1016/j.trci.2016.10.001.
11. Iikuni S, Ono M, Watanabe H, Yoshimura M, Ishibashi-Ueda H, Ihara M, Saji H. Novel Bivalent ^{99m}Tc -Complex with N-Methyl-Substituted Hydroxamamide as Probe for Imaging of Cerebral Amyloid Angiopathy. *PLOS ONE* 2016; 11(9): e0163969. doi: 10.1371/journal.pone.0163969.
12. Ono M, Watanabe H, Kitada A, Matsumura K, Ihara M, Saji H. Highly Selective Tau-SPECT Imaging Probes for Detection of Neurofibrillary Tangles in Alzheimer's Disease. *Sci Rep* 2016; 6: 34197. doi: 10.1038/srep34197.
13. Ihara M. Comment: Autosomal dominant small vessel disease due to heterozygous *HTRA1* mutations. *Neurology* 2016;86 (21): 1972. doi: 10.1212/WNL.0000000000002711.
14. Iikuni S, Ono M, Watanabe H, Matsumura K, Yoshimura M, Kimura H, Ishibashi-Ueda H,

- Okamoto Y, Ihara M, Saji H. Imaging of Cerebral Amyloid Angiopathy with Bivalent ^{99m}Tc-Hydroxamate Complexes. *Sci Rep* 2016;11(9): e0163969. doi: 10.1371/journal.pone.0163969.
15. Ono M, Doi Y, Watanabe H, Ihara M, Ozaki A, Saji H. Structure-Activity Relationships of Radioiodinated Diphenyl Derivatives with Different Conjugated Double Bonds as Ligands for α -Synuclein Aggregates. *RSC Advances* 2016; 6, 44305-44312. doi : 10.1039/C6RA02710E
 16. Saito S, Ihara M. Interaction between cerebrovascular disease and Alzheimer pathology. *Curr Opin Psychiatry* 2016;29(2):168-173. doi: 10.1097/YCO.0000000000000239.
 17. Manousopoulou A, Saito S, Yamamoto Y, Al-Daghri NM, Ihara M, Carare RO, Garbis SD. Hemisphere asymmetry of response to treatment in an Alzheimer's disease mouse model. *J Alzheimers Dis* 2016;51(2):333-338. DOI: 10.3233/JAD-151078
 18. Yasuno F, Kazui H, Morita N, Kajimoto K, Ihara M, Taguchi A, Yamamoto A, Matsuoka K, Kosaka J, Kudo T, Iida H, Kishimoto T, Nagatsuka K. High amyloid- β deposition related to depressive symptoms in older individuals with normal cognition: a pilot study. *Int J Geriatr Psychiatry* 2016;31(8):920-928. doi: 10.1002/gps.4409.
 19. Matsumura K, Ono M, Kitada A, Watanabe H, Yoshimura M, Iikuni S, Kimura H, Okamoto Y, Ihara M, Saji H. Structure-Activity Relationship Study of Heterocyclic Phenylethenyl and Pyridinylethenyl Derivatives as Tau-Imaging Agents That Selectively Detect Neurofibrillary Tangles in Alzheimer's Disease Brains. *J Med Chem* 2015;58(18):7241-57. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b00440.
 20. Banik A, Brown RE, Bamburg J, Lahiri DK, Khurana D, Friedland RP, Chen W, Ding Y, Mudher A, Padjen AL, Mukaetova-Ladinska E, Ihara M, Srivastava E, Srivastava MVP, Masters CL, Kalara RN, Anand A. Translation of pre-clinical studies into successful clinical trials for Alzheimer's disease: what are the roadblocks and how can they be overcome? *J Alzheimer Dis* 2015;47(4):815-843. doi: 10.3233/JAD-150136.
2. Ihara M. Strategy to tackle MCI: a drug repositioning approach. The 3rd Bordeaux-Kyoto Symposium (Bordeaux). Jun 30, 2017.
 3. Ihara M. Vascular cognitive impairment in Asia. STROKE2017 (Osaka). Mar 18, 2017.
 4. Ihara M. Vascular Dementia. Invited lecture in Pre-Conference Symposium II: Bridge Over Troubled Water: Issues in Translational Stroke Research. International Stroke Conference (Houston). Feb 21, 2017.
 5. Ihara M. A bench to bedside approach for vascular cognitive impairment and stroke. National University of Singapore, Department of Pharmacology Seminar Series (Singapore). Oct 31, 2016.
 6. Ihara M. Animal Model of VCI. Educational lecture: Vas-Cog International (Tokyo) Sep 16, 2015.
 7. Ihara M. Bench to Bedside: Using Mouse Models of Chronic Cerebral Hypoperfusion to Identify New Treatment for Dementia. Vas-Cog International (Tokyo) Sep 18, 2015.
 8. Ihara M. Experimental evidence linking vascular factors to Alzheimer's disease. Alzheimer's Association International Conference(AAIC) 2015 (Washington, D.C, USA) July 18, 2015
 9. Ihara M. Strategy to tackle MCI: a drug repositioning approach. International Symposium on Alzheimer's Disease Prevention strategy (2nd World Centenarians Initiative)- In Search of the Road to New Horizon- June 27th, 2015, Tokyo

〔図書〕(計3件)

1. 猪原匡史. 血管性認知症 (VaD). 認知症治療薬の考え方, 使い方. 中島健二 (編著). 中外医学社. P140 - 153, 2017
2. 猪原匡史. 血管性認知症. 猿田享男, 北村惣一郎 (監修)「1336 専門医による私の治療 2017 - 18 年度版」. 日本医事新報社. P593, 2017
3. 猪原匡史. アルツハイマー型認知症と血管性認知症の接点と治療戦略. 小林祥泰, 水澤英洋, 山口修平 (編)「神経疾患最新の治療 2015 - 2017 (株)南江堂 P21-24, 2015.

〔産業財産権〕

出願状況 (計4件)

1. 出願番号: 特願 2016-100092

〔学会発表〕(計9件)

1. Ihara M. Clinical trial on human lymphatic drainage system. XXI Symposium Neuroradiologicum (SNR2018) (Taipei). Mar 23, 2018

発明者:猪原匡史,齊藤聡,松本忠冒,福島雅典

発明の名称:認知症の予防及び/又は治療のための薬剤

出願人:国立研究開発法人国立循環器病研究センター,松本忠冒,公益財団法人先端医療振興財団

出願日:2016年5月19日出願

2. 出願番号:特願2016-254919

発明者:猪原匡史,山本由美,井上治久,月田香代子,江浪貴子

発明の名称:細胞増殖分化誘導方法

出願人:国立研究開発法人国立循環器病研究センター,国立大学法人京都大学

出願日:2016年12月28日

3. 出願番号:特願2015-161472

発明者:小野正博,佐治英郎,猪原匡史,松本博樹,関育也

発明の名称:放射性ハロゲン標識ピリド[1,2-a]ベンゾイミダゾール誘導体化合物

出願人:京都大学,日本メジフィジックス

出願日:2015年8月19日出願

4. 出願番号:特願2015-042748

発明者:佐治英郎,小野正博,猪原匡史,関育也

発明の名称:放射性ヨウ素標識ピリド[1,2-a]ベンゾイミダゾール誘導体化合物

出願人:京都大学,日本メジフィジックス

出願日:2015年3月4日出願

取得状況(計1件)

5. 出願公開番号:特開2015-110665

発明者:猪原匡史,眞木崇州,田口明彦
発明の名称:間質流改善薬及び軽度認知障害の治療剤

出願人(権利者):公益財団法人・先端医療振興財団

出願日2015年3月12日

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ncvc.go.jp/hospital/section/scd/cerebrovascular/b-group.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

猪原 匡史 (IHARA, Masafumi)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・部長

研究者番号:00372590

(2)研究分担者

飯田 秀博 (IIDA, Hidehiro)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・非常勤研究員

研究者番号:30322720

植田 初江 (UEDA, Hatsue)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・部長

研究者番号:40522983

シュウ ビン (ZHOU, Bin)

公益財団法人先端医療振興財団・その他部局等・その他

研究者番号:00598774

(3)連携研究者

富本 秀和 (TOMIMOTO, Hidekazu)

三重大学・医学研究科・教授

研究者番号:80324648

小野 正博 (ONO, Masahiro)

京都大学・薬学研究科・教授

研究者番号:80336180

(4)研究協力者

齊藤 聡 (SAITO, Satoshi)

山本 由美 (YAMAMOTO, Yumi)