

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18500279
 研究課題名（和文）アルツハイマー病の病態進展過程におけるグリア細胞の役割
 研究課題名（英文）Possible role of glial cells in the progression of
 Alzheimer's disease pathology.
 研究代表者
 森 隆（MORI TAKASHI）
 埼玉医科大学・医学部・准教授
 研究者番号：60239605

研究成果の概要（和文）：活性化アストロサイトから分泌される S100B 蛋白に着目し、arundic acid [S100B 蛋白の抑制剤：(R)-(-)-2-propyloctanoic acid] のアルツハイマー病モデル動物への病態軽減効果を明らかにした。続いて、ヒト S100B 蛋白を過剰発現させた遺伝子改変動物とアルツハイマー病モデル動物を交配させ、病態進展における S100B 蛋白の関与を明らかにし、さらに、S100B 蛋白のアルツハイマー病態に対する増悪メカニズムを解明した。以上、アルツハイマー病の治療・病態進展の遅延に対する S100B 蛋白を標的とした治療の可能性に結びつく研究結果が得られた。

研究成果の概要（英文）：Here, we aimed to examine the possible role of astrocyte-derived S100B in the progression of Alzheimer's disease pathology. First, using Alzheimer's disease model mice, we showed that Alzheimer's disease-like pathology was significantly ameliorated by the treatment of arundic acid [(R)-(-)-2-propyloctanoic acid], which is known to negatively regulate astrocyte synthesis of S100B. Subsequently, to dissect the relationship between S100B and Alzheimer's disease-like pathology, we took a genetic approach by crossing transgenic mice expressing human S100B with Alzheimer's disease model mice. We demonstrated evidence that (over)-expression of S100B acts to accelerate Alzheimer's disease-like pathology. Taken together, these data suggest that inhibiting astrocytic activation by blocking S100B biosynthesis may be a promising therapeutic strategy to delay Alzheimer's disease progression.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,300,000	0	1,300,000
2007 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008 年度	600,000	180,000	780,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,600,000	690,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学、神経解剖学・神経病理学

キーワード：神経科学、脳神経変性疾患、神経病理学、細胞・組織、獣医学

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病は脳の老化を背景に発症し、記憶障害を中心とした臨床症状を呈する疾患である。罹患脳においては、老人斑や神経原線維変性などの特徴的病理所見が部位選択的に認められる。近年、脳内で異常蓄積されたアミロイド 蛋白質に対する炎症反応、特に、老人斑周囲のグリア細胞（ミクログリア・アストロサイト）の動態がアルツハイマー病の病態進展に重要な役割を演じている可能性が指摘されてきた。アルツハイマー病研究者は「グリア細胞性炎症仮説」を提唱し、新たな治療法の糸口を探求している。研究代表者および研究分担者らは、これまで脳虚血に起因する梗塞巣周辺（虚血辺縁領域）でのアストロサイト活性化とサイトカインネットワークの異常亢進が、遷延性の脳梗塞体積増大と神経症状の増悪に關与することを実験的に示してきた。また、アルツハイマー病の重要な危険因子として知られるアポリポ蛋白 E の E4 アイソフォームが、虚血性脳損傷においても梗塞病変と神経症状の重要な増悪因子となることを、遺伝子改変動物を用いて実験的に明らかにしてきた。さらに、その E4 アイソフォーム特異的な神経細胞の脆弱性に、アストロサイト活性化とアストロサイト由来蛋白（S100B 蛋白）の異常亢進が關与していることを明らかにしてきた。このようにアストロサイトの活性化が、脳梗塞とアルツハイマー病の病態間における共通機序として、脳損傷の増悪に關与する可能性を世界に先駆けて提示してきた。老年性認知症は、高齢化が急速に進行している現代社会においては極めて重要な社会問題である。その主要な原因であるアルツハイマー病（アルツハイマー型認知症を含む）と脳血管性認知症に共通した病因と想定される「グリア細胞性炎症仮説」において、アストロサイトの活性化の役割をさらに詳細に追究することにより、そのいずれに対しても有効な新規治療薬の開発が可能になることを期待し、本研究課題を遂行した。

2. 研究の目的

先に記載した研究背景を踏まえて、本研究課題では、アルツハイマー病と脳梗塞の両病態におけるアストロサイト活性化の役割を、行動薬理的、生化学的、そして神経病理学的見地から詳細に検討し、既に部分的に *in vivo* での有効性が確認されている新規薬剤

の臨床応用を目指す translational research の展開を目的とした。さらに、S100B 蛋白がどのようなメカニズムでアルツハイマー病の病態進展（増悪）に關与しているかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

初めに、アルツハイマー病の病態モデルマウスの入手と長期飼育管理体制の構築を行った。即ち、アミロイド前駆体蛋白（APP）遺伝子変異が組換えられた遺伝子改変マウス（Tg APPsw mice, line 2576）を Taconic Farms, Inc. から免疫生物研究所（株）を經由して 3 ヶ月齢にて購入し、その後約 16 ヶ月飼育した。比較のため、littermate マウスも購入し長期飼育を行った。続いて、活性化アストロサイトから分泌される蛋白（S100B 蛋白）に着目し、S100B 蛋白を抑制する arundic acid（ONO-2506: アストロサイト由来の S100B 蛋白の産生を抑制するアストロサイト機能改善薬）を 12 ヶ月齢から 26 週間の反復経口投与を行い、アルツハイマー病の病態モデル動物（Tg APPsw mice, line 2576）に対する行動薬理的改善効果、生化学的抑制効果、そして神経病理学的 [脳アミロイドーシス（老人斑形成）とグリオーシス] 抑制効果を検討した。投与量設定に関しては、3 mg/kg 以上の用量で SAMP8 マウスの水迷路試験における空間認知障害を改善した予備実験データより有効性を評価するのに十分な投与用量として 10 mg/kg を設定した。続いて、arundic acid の therapeutic time window（26 週間投与より短い投与期間の設定）を検討し、12 ヶ月齢より 4 週間の反復経口投与（10 mg/kg）あるいは 12 ヶ月齢より 12 週間の反復経口投与のスケジュールで行動薬理的改善効果、生化学的抑制効果、そして神経病理学的 [脳アミロイドーシス（老人斑形成・脳血管アミロイド症）とグリオーシス] 抑制効果を検討した。さらに、ヒト S100B 蛋白を過剰発現させた遺伝子改変動物（Tg huS100B mice）を The Jackson Laboratory Inc. から日本チャールスリバー（株）を經由して 3 ヶ月齢にて購入し、繁殖コロニーを構築した。このヒト S100B 蛋白を過剰発現させた遺伝子改変マウスと、先に導入していたアルツハイマー病の病態モデルマウス（Tg APPsw mice, line 2576）を交配させ、ダブル遺伝子改変マウスを作製した。そして、ヒト S100B 蛋白の過剰発現導入に伴うアルツハイマー病の病態モデルマウス（Tg APPsw mice, line 2576）に

おける病態進展(増悪)への影響を経時的(7, 9, 12, 15, 19ヶ月齢にて)に生化学的及び神経病理学的に観察した。

4. 研究成果

2006年度は、活性化アストロサイトから分泌されるS100B蛋白に着目し、S100B蛋白の産生を抑制するarundic acid [(R)-(-)-2-propyloctanoic acid: アストロサイト由来のS100B蛋白産生を抑制するアストロサイト機能改善薬]を26週間経口投与して、アルツハイマー病の病態モデル動物(Tg APPsw mice, line 2576)に対する生化学的抑制効果及び神経病理学的抑制効果[脳アミロイドーシス(老人斑形成)とグリオーシス抑制効果]を明らかにした。2007年度は、本薬剤のtherapeutic time window [2006年度の研究計画(26週間投与)より短い投与期間の設定]を検討した。即ち、arundic acid (10 mg/kg 経口投与)を12ヶ月齢より4週間反復投与あるいは12ヶ月齢より12週間反復投与し、アルツハイマー病の病態モデル動物(Tg APPsw mice, line 2576)に対する本薬剤の有効性を確認した。2008-2009年度は、ヒトS100B蛋白を過剰発現させた遺伝子改変動物(Tg huS100B mice)とアルツハイマー病の病態モデル動物(Tg APPsw mice, line 2576)を交配させ、病態進展におけるS100B蛋白の関与を明らかにすることを目的として研究を行った。その結果、S100B蛋白の遺伝的過剰発現がアルツハイマー病の神経病理学的な病態[脳アミロイドーシス(老人斑形成・脳血管アミロイド症)及びグリオーシス]を進展(増悪)させることを明らかにした。続いて、S100B蛋白がアルツハイマー病の病態を進展(増悪)させるメカニズムを解明することを目的とした研究を行った。その結果、S100B蛋白の過剰発現がアミロイド蛋白に関連した反応性グリオーシス(アストロサイトーシス・ミクログリオーシス)の悪化そして炎症性サイトカイン産生の増加に深く関与し、アルツハイマー病のアミロイド蛋白病態を増悪することを明らかにした。さらに、S100B蛋白の過剰発現がアルツハイマー病の原因蛋白の1つであるアミロイド蛋白産生に関わる鍵酵素(BACE1)の発現そして活性を亢進させることを明らかにした。以上の研究成果より、アルツハイマー病の治療あるいは病態進展の遅延に対するS100B蛋白を標的とした新たな治療の可能性に結びつく研究結果が得られた。

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9件)

Takashi Mori, Naoki Koyama, Gary W. Arendash, Yuko Horikoshi-Sakuraba, Jun Tan, Terrence Town. Overexpression of human S100B exacerbates cerebral amyloidosis and gliosis in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Glia*, 58 (3): 300-314, 2010. (査読有)

Chuanhai Cao, John R. Cirrito, Xiaoyang Lin, Lilly Wang, Deborah K. Verges, Alexander Dickson, Malgorzata B. Mamcarz, Chi Zhang, Takashi Mori, Gary W. Arendash, David M. Holtzman, Huntington Potter. Caffeine suppresses amyloid- levels in plasma and brain of Alzheimer's disease transgenic mice. *J Alzheimer's Dis*, 17 (3): 681-697, 2009. (査読有)

Gary W. Arendash, Takashi Mori, Chuanhai Cao, Malgorzata B. Mamcarz, Melissa J. Runfeldt, Alexander Dickson, Kavon Rezai-Zadeh, Jun Tan, Bruce A. Citron, Xiaoyang Lin, Valentina Echeverria, Huntington Potter. Caffeine reverses cognitive impairment and decreases brain amyloid- levels in aged Alzheimer's disease mice. *J Alzheimer's Dis*, 17 (3): 661-680, 2009. (査読有)

Terrence Town, Yasmina Laouar, Christopher Pittenger, Takashi Mori, Christine A. Szekely, Jun Tan, Ronald S. Duman, Richard A. Flavell. Blocking TGF- β /SMAD 2/3 innate immune signaling mitigates Alzheimer-like pathology. *Nat Med*, 14 (6): 681-687, 2008. (査読有)

William V. Nikolic, Huayan Hou, Terrence Town, Yuyan Zhu, Brian Giunta, Cyndy D. Sanberg, Jin Zeng, Deyan Luo, Jared Ehrhart, Takashi Mori, Paul R. Sanberg, Jun Tan. Peripherally administered human umbilical cord blood cells reduce parenchymal and vascular β -amyloid deposits and suppress CD40-CD40L interaction. *Stem Cells Dev*, 17 (3): 423-440, 2008. (査読有)

Demian F. Obregon, Huayan Hou, Yun Bai, William Nikolic, Takashi Mori, Deyan Luo, Jin Zeng, Jared Ehrhart, Frank

Fernandez, Dave Morgan, Brian Giuntan, Terrence Town, Jun Tan. CD40L disruption enhances A vaccine-mediated reduction of cerebral amyloidosis while minimizing cerebral amyloid angiopathy and inflammation. *Neurobiol Dis*, 29 (2): 336-353, 2008. (査読有)

Jennifer R. Cracchiolo, Takashi Mori, Stanley J. Nazian, Jun Tan, Huntington Potter, Gary W. Arendash. Enhanced cognitive activity over and above social or physical activity is required to protect Alzheimer's mice against cognitive impairment, reduce A β deposition, and increase synaptic immunoreactivity. *Neurobiol Learn Mem*, 88 (3): 277-294, 2007. (査読有)

William V. Nikolic, Yun Bai, Demian F. Obregon, Huayan Hou, Takashi Mori, Jin Zeng, Jared Ehrhart, R. Douglas Shytle, Brian Giunta, Dave Morgan, Terrence Town, Jun Tan. Transcutaneous -amyloid peptide immunization reduces cerebral -amyloid deposits without T cell infiltration and microhemorrhage. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.*, 104 (7): 2507-2512, 2007. (査読有)

Takashi Mori, Terrence Town, Jun Tan, Nobumichi Yada, Yuko Horikoshi, Junki Yamamoto, Taiji Shimoda, Yoshihisa Kamanaka, Narito Tateishi, Takao Asano. Arundic acid ameliorates cerebral amyloidosis and gliosis in Alzheimer transgenic mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 318 (2): 571-578, 2006. (査読有)

[学会発表](計3件)

小山直基, 堀越(櫻庭)優子, 森 隆. ヒト S100B 蛋白の過剰発現はアルツハイマー様病態(脳アミロイド症・グリオシス)を増悪させる. 第147回日本獣医学会学術集会 2009年4月3日(栃木, 日本).

Takashi Mori, Jun Tan, Yoshiko Nojima, Naoki Koyama, Yuko Horikoshi-Sakuraba, Masamitsu Hoshikawa, Rika Shinagawa, Yoshihisa Kamanaka, Gary W. Arendash, Terrence Town. Overexpression of S100B exacerbates cerebral

amyloidosis and gliosis in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *38th Annual Meeting of Society for Neuroscience*, November 18, 2008, (Washington D.C., U.S.A.).

Takashi Mori, Terrence Town, Jun Tan, Nobumichi Yada, Junki Yamamoto, Masamitsu Hoshikawa, Rika Shinagawa, Yoshihisa Kamanaka, Naoki Koyama, Takao Asano. A new therapeutic agent for Alzheimer disease: Arundic acid (ONO-2506) attenuates cerebral amyloidosis and gliosis in Alzheimer transgenic mice. *International Psychogeriatric Association (IPA) 2007 Osaka Silver Congress*, October 17, 2007, (Osaka, Japan).

[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・准教授
研究者番号: 60239605

(2) 研究分担者

山口 晴保 (YAMAGUCHI HARUYASU)
群馬大学・医学部・教授
研究者番号: 00158114

浅野 孝雄 (ASANO TAKAO)
埼玉医科大学・医学部・客員教授
研究者番号: 70090496

(3) 連携研究者 なし