

平成21年4月28日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19390234
 研究課題名（和文） プリオン病とアルツハイマー病の両疾患に共通する治療戦略論の確立
 研究課題名（英文） Research of therapeutic strategy applying to both prion diseases and Alzheimer's disease
 研究代表者
 堂浦 克美（DOH-URA KATSUMI）
 東北大学・大学院医学系研究科・教授
 研究者番号：00263012

研究成果の概要：

プリオン病とアルツハイマー病では、難溶性蛋白質（プリオンとA β ）が脳組織内に沈着して神経細胞障害がおこる。インビトロ及びインビボにおけるアミロイド親和性化合物の構造活性相関解析研究を通じて、治療学の側面から両疾患に共通する病態発生のメカニズムの存在を検証した。その結果、難溶性凝集体としての物性は似ているものの、プリオンとA β では凝集能や毒性に関与する立体的化学構造は異なっていることが明らかとなった。また、両疾患でアミロイド親和性化合物のインビボでの効果がほぼインビトロでの効果と相関しており、インビトロでの作用メカニズムの共通性から、プリオンとA β の産生や病態発生には共通なメカニズムがあり、アミロイド親和性化合物はこのメカニズムを抑制することにより治療効果を発揮しているものと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
2008年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：神経病態生化学、治療学

1. 研究開始当初の背景

プリオン病とアルツハイマー病では、難溶性蛋白質が脳組織内に沈着して神経細胞障害がおこる。アルツハイマー病の難溶性蛋白質（A β ）も発病素因をもつ個体では疾患伝達性であることが最近指摘されており、両疾患の病態発生には共通の機序が存在することが想定されているが、この共通の病態発生機序を直接実証するデータはない。

2. 研究の目的

本研究は、プリオン病モデル動物とアルツハイマー病モデル動物で共通に治療効果を発揮する化合物Bをもとに、両疾患に共通する病態発生機序の存在を実証するものであり、その成果は両疾患の治療戦略に関する新たな概念の確立をもたらし、神経難病の治療学および病態学に新たな進展を与える。

3. 研究の方法

構造活性相関解析：

化合物Bの母核となる構造を持つ化合物群を市販の各種化合物ライブラリーを探索して入手した。それらの化合物について、プリオン持続感染細胞を用いて抗プリオン活性を検定した。またA β アミロイド-Heparin結合阻害、A β 凝集阻害活性、凝集A β によるアストログリア初代培養細胞への毒性を抑制する活性を調べて抗A β 活性を検定した。これらの検定結果を踏まえて、抗プリオン活性および抗A β 活性に必要な化合物の化学構造を抽出した。

薬物動態解析：

有効な化合物について、静脈注射後の化合物の体内動態をマウスを用いて解析した。臓器および体液より化合物含有画分を調製し、液クロにて化合物濃度を測定して血中や脳での動態を調べた。

薬理学的解析：

有効な化合物について、プリオン病モデル動物 (Tga20早発系マウス-RMLプリオンのモデル系) を用いたインビボ薬効評価実験を行った。評価内容は、潜伏期間・脳病理所見・異常型プリオン蛋白量・感染力価の解析であった。また、アルツハイマー病モデルマウス (Tg2576) での薬効評価実験も行った。神経病理学および生化学的解析による脳中A β 量の評価を行った。さらに、代表的な有効化合物について、化合物の安全性や安定性 (P450アイソザイム阻害活性、急性毒性、代謝安定性など) について検討を行った。

4. 研究成果

構造活性相関解析：

化合物Bの母核となる構造を持つ化合物群の解析から、抗プリオン活性や抗A β 活性に必要な基本的化学構造を抽出した。その結果、抗プリオン活性と抗A β 活性は必ずしも相関しないことが明らかとなった。高い抗プリオン活性にはオキサゾール・ベンゼン構造が、高い抗A β 活性にはピリジンのメチレン・ヒドラジン構造が必要であった。両者の構造を持つものは抗プリオン活性と抗A β 活性の両方に優れていた。

薬物動態解析：

有効化合物の静脈注射後の脳移行性に関して、優れた抗プリオン活性と抗A β 活性を持つものは、脳移行性に優れていることが明らかとなった。

薬理学的解析：

プリオン病モデルマウスとアルツハイマー病モデルマウスによるインビボ薬効評価において、インビトロで優れた抗プリオン活性と抗A β 活性を持つものは、インビボでも優れた治療効果を発揮することが明らかとな

った。

以上の研究から、難溶性凝集体としての物性は似ているものの、プリオンとA β では凝集能や毒性に関与する立体的化学構造は異なっていることがわかった。また、両疾患でアミロイド親和性化合物のインビボでの効果がほぼインビトロでの効果と相関しており、インビトロでの作用メカニズムの共通性が以前から指摘されていることより、プリオンとA β の産生や病態発生には共通なメカニズムがあり、化合物Bのようなアミロイド親和性化合物はこのメカニズムを抑制することにより治療効果を発揮しているものと考えられた。

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11件)

- 1) Teruya K, Kawagoe K, Kimura T, Chen CJ, Sakasegawa Y, Doh-ura K: Amyloidophilic compounds for prion diseases. Infect Disord Drug Targets. 9(1):15-22, 2009 査読有
- 2) Nguyen TH, Lee CY, Teruya K, Ong WY, Doh-ura K, Go ML: Antiprion activity of functionalized 9-aminoacridines related to quinacrine. Bioorg Med Chem. 16(14):6737-6746, 2008 査読有
- 3) Shiga Y, Satoh K, Kitamoto T, Kanno S, Nakashima I, Sato S, Fujihara K, Takata H, Nobukuni K, Kuroda S, Takano H, Umeda Y, Konno H, Nagasato K, Satoh A, Matsuda Y, Hidaka M, Takahashi H, Sano Y, Kim K, Konishi T, Doh-Ura K, Sato T, Sasaki K, Nakamura Y, Yamada M, Mizusawa H, Itoyama Y: Two different clinical phenotypes of Creutzfeldt-Jakob disease with a M232R substitution. J. Neurol., 254:1509-1517, 2007 査読有
- 4) Kawasaki Y, Kawagoe K, Chen CJ, Teruya K, Sakasegawa Y, Doh-Ura K: Orally administered amyloidophilic compound is effective in prolonging the incubation periods of animals cerebrally infected with prion diseases in a prion strain-dependent manner. J. Virol., 81(23):12889-12898, 2007 査読有
- 5) Hao HP, Doh-Ura K, Nakanishi H: Impairment of microglial responses to facial nerve axotomy in cathepsin S-deficient mice. J. Neurosci. Res., 85(10):2196-2206, 2007 査読有
- 6) Doh-Ura K, Kuge T, Uomoto M, Nishizawa K, Kawasaki Y, Iha M: Prophylactic effect of dietary seaweed Fucoidan against enteral prion infection.

- Antimicrob. Agents Chemother., 51(6):2274-2277, 2007 査読有
- 7) Doh-ura K, Tamura K, Karube Y, Naito M, Tsuruo T, Kataoka Y: Chelating compound, chrysoidine, is more effective in both antiprion activity and brain endothelial permeability than quinacrine. Cell. Mol. Neurobiol., 27(3):303-316, 2007 査読有
 - 8) Rainov NG, Tsuboi Y, Krolak-Salmon P, Vighetto A, Doh-Ura K: Experimental treatments for human transmissible spongiform encephalopathies: is there a role for pentosan polysulfate? Expert Opin. Biol. Ther., 7: 713-726, 2007 査読有
 - 9) 堂浦克美: 神経感染症の治療の進歩と将来の展望 プリオン病への治療アプローチ。神経治療学, 24(6):647-650, 2007 査読無
 - 10) 逆瀬川裕二, 堂浦克美: プリオン病の診断支援・治療への試み。日本臨床, 65(8):1417-1422, 2007 査読無
 - 11) 逆瀬川裕二, 堂浦克美: プリオン病の分子標的治療。神経研究の進歩, 59(4):405-414, 2007 査読無
- [学会発表] (計30件)
- 1) Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K, Doh-ura K: Heat shock protein 90 (Hsp90) stimulates polymerization of a copper-loaded prion protein. Prion2008, Madrid, October 8-10, 2008
 - 2) 堂浦克美: ヤコブ病克服プロジェクトの成果と課題ー治療・発症機序研究。食と医療の安全に関する市民講座「プリオンから見た食と医療の安全: プリオンはもう怖くないの? ウシ海綿状脳症(BSE)とヤコブ病(CJD)」, 札幌, 2008年9月14日
 - 3) 木村朋寛, 西村有起, 堂浦克美: プロテアーゼ抵抗性プリオン蛋白産生に關与する内因性因子。2008年プリオン研究会、新得(北海道)、2008年8月29日、30日
 - 4) 逆瀬川裕二, 堂浦克美: 持続性プリオン感染細胞におけるPrPresの産生を抑制する新規ヒートショック蛋白質 90 阻害剤。2008年プリオン研究会、新得(北海道)、2008年8月29日、30日
 - 5) 濱中大一, 川越敬一, 陳忠正, 照屋健太, 堂浦克美: 抗プリオン活性を有するアミロイド親和性化合物の構造的特徴。2008年プリオン研究会、新得(北海道)、2008年8月29日、30日
 - 6) 坪井義夫, 田中美紀, 岡村信行, 志賀裕正, 堂浦克美, 本田裕之, 佐々木健介, 山田達夫: BF-227を用いたプリオンアミロイドメーキングーGerstmann-Straussler-Scheinker病における画像と病理の対比ー。2008年プリオン研究会、新得(北海道)、2008年8月29日、30日
 - 7) 戸邊美智子, 宮庄拓, 野村幸子, 伊藤暁史, 松田一哉, 川崎ゆり, 堂浦克美, 毛利資郎, 横田博: スクレイピーマウス血清中における疾患特異的蛋白質の検出。2008年プリオン研究会、新得(北海道)、2008年8月29日、30日
 - 8) Teruya K, Wakao T, Nishimura T, Kimura Y, Sakasegawa Y, Suda Y, Doh-ura K: Binding of mouse prion protein to heparin. Meeting of 17th Methods in Protein Structure Analysis (MPSA2008), Sapporo, August 26-29, 2008
 - 9) 堂浦克美: ヤコブ病克服プロジェクトの成果と残されている課題ー治療・発症機序研究。食と医療の安全に関する市民講座「プリオンから見た食の安全と医療の安全: プリオンはもう怖くないの? ウシ海綿状脳症(BSE)とヤコブ病(CJD)」, 東京, 2007年12月16日
 - 10) 堂浦克美: プリオン病ー診断・治療研究の最近の進歩と課題ー。第12回SRL感染症フォーラム, 東京, 2007年12月15日
 - 11) 篠原正将, 海野昌喜, 照屋健太, 酒井隆一, 堂浦克美, 佐々木 誠, 齋藤正男: ヒト由来のグルタミン酸受容体GluR5 リガンド結合部位の結晶構造解析。第80回日本生化学会大会、横浜 2007年12月11~15日
 - 12) 照屋健太, 山田有希, 西澤桂子, 堂浦克美: C末端をコレステロールで修飾した蛋白質の半合成と細胞膜への結合。第44回ペプチド討論会、富山市, 2007年11月7-9日
 - 13) Doh-ura K: Amyloidophilic chemicals for therapeutics of prion diseases. CJD2007, Vancouver, November 5-6, 2007
 - 14) 堂浦克美: プリオン病の治療の試み。第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月21日~23日
 - 15) 篠原正将, 海野昌喜, 照屋健太, 酒井隆一, 堂浦克美, 佐々木 誠, 齋藤正男: ヒト由来のグルタミン酸受容体GluR5 リガンド結合部位の結晶構造解析。第22回生体機能関連化学シンポジウム「若手フォーラム」, 仙台, 2007年9月28-29日
 - 16) Teruya K, Yamada Y, Nishimura T, Suda Y, Doh-ura K: Characterization of the interaction between prion protein and heparin. Prion2007, Edinburgh, September 26-28, 2007
 - 17) Kimura T, Ishikawa K, Nishimura Y, Schatzl HM, Doh-ura K: Screening for endogenous factors involved in the formation of protease resistant prion protein. Prion2007, Edinburgh,

- September 26-28, 2007
- 18) Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K, Doh-ura K: HSP90 family proteins modify the conformation of copper-loaded prion protein in a nucleotide-dependent manner. Prion2007, Edinburgh, September 26-28, 2007
 - 19) 木村朋寛、石川謙介、西村有起、Schatzl HM、堂浦克美: プロテアーゼ抵抗性プリオン蛋白産生に関する内因性因子のスクリーニング。2007年プリオン研究会、津南(新潟)、2007年8月25日、26日
 - 20) Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K, Doh-ura K: The C-terminal chaperone domain of heat shock protein 90 kDa is responsible for the conformational modification of copper-loaded recombinant prion protein. 2007年プリオン研究会、津南(新潟)、2007年8月25日、26日
 - 21) 照屋健太、山田有希、隅田泰生、堂浦克美: ヘパリンとプリオン蛋白質相互作用のキャラクタリゼーション。2007年プリオン研究会、津南(新潟)、2007年8月25日、26日
 - 22) 濱中大一、堂浦克美: 抗プリオン活性を持つ担子菌成分に関する研究。2007年プリオン研究会、津南(新潟)、2007年8月25日、26日
 - 23) 坪井義夫、山田達夫、堂浦克美: ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の臨床研究-11例の臨床経過と問題点。2007年プリオン研究会、津南(新潟)、2007年8月25日、26日
 - 24) 末吉 真、樋口隆一、堂浦克美、宮本智文: フェオフィチン類の異常型プリオンタンパク質産生阻害機構の解明。2007年プリオン研究会、津南(新潟)、2007年8月25日、26日
 - 25) 川崎ゆり、河原佐智代、宮澤正顕、堂浦克美: 末梢で異常型プリオン蛋白の形成に関与するリンパ球サブセット。2007年プリオン研究会、津南(新潟)、2007年8月25日、26日
 - 26) 野村幸子、宮庄 拓、戸邊美智子、志賀康弘、前田尚之、堂浦克美、横田 博: ウシ海綿状脳症罹患牛血清に検出されたグリア線維性酸性蛋白質に対する自己抗体。2007年プリオン研究会、津南(新潟)、2007年8月25日、26日
 - 27) Doh-ura K: Development of potential therapeutics for prion diseases. CJD Foundation Family Conference, Washington DC, July 6-9, 2007
 - 28) 堂浦克美: プリオン病への治療アプローチ。第25回日本神経治療学会総会、仙台、2007年6月21日、22日

- 29) 照屋健太、魚本 幸、藤田智司、堂浦克美: プリオン感染細胞からの迅速なPrPres回収法。第7回日本蛋白質科学会年会、仙台、2007年5月24-26日
- 30) 山口恭史、三浦隆史、照屋健太、堂浦克美、竹内英夫: 銅イオンにより誘起されるプリオンタンパク質の構造変化。第7回日本蛋白質科学会年会、仙台、2007年5月24-26日

〔産業財産権〕

○出願状況(計4件)

堂浦克美: コンフォメーション病医薬組成物。PCT/JP2007/058566 2007年4月20日、東北大学、伊藤ハム株式会社、国内移行 カナダ(2008年10月14日)、米国(2008年10月20日)、豪州(2008年11月4日)、欧州(2008年11月14日)、外国

堂浦克美、木村朋寛: プリオン病の予防及び/又は治療用薬、並びに異常プリオン蛋白質の発現抑制方法。特願2009-059468 2009年3月12日、東北大学、国内

堂浦克美、照屋健太、隅田泰生: プリオン病治療薬及びそのスクリーニング方法。特願2007-102005、2007年4月9日、東北大学、鹿児島大学、国内

宮田直樹、鈴木孝禎、中川秀彦、太田茂、堂浦克美、福内友子: 抗プリオン活性剤及び異常型プリオン蛋白質生成の阻害方法。PCT/JP2007/70748、2007年10月23日、名古屋市立大学、外国

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堂浦 克美 (DOH-URA KATSUMI)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 00263012

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

逆瀬川 裕二 (SAKASEGAWA YUJI)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 90418616

照屋 健太 (TERUYA KENTA)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 30372288