

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19890083
 研究課題名（和文） アルツハイマー病に対するワイン関連ポリフェノールの治療効果の検討
 研究課題名（英文） The effect of wine polyphenol for Alzheimer' s disease
 研究代表者
 濱口 毅（HAMAGUCHI TSUYOSHI）
 金沢大学・附属病院・助教
 研究者番号：70452109

研究成果の概要：赤ワインポリフェノールのアルツハイマー病（AD）に対する効果を検討するため、AD モデルマウスに赤ワインポリフェノールの 1 種であるケルセチンを経口投与した。ケルセチン投与によって、AD モデルマウスの体重は増加したが、生存率、運動機能、認知機能、脳病理での AD 変化に有意な差を認めず、ケルセチン経口投与による AD 治療は難しいものと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,330,000	0	1,330,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,680,000	405,000	3,085,000

研究分野：医学

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：アルツハイマー病、ワインポリフェノール、アミロイドβ

1. 研究開始当初の背景

現在までに、赤ワインを常時摂取するとアルツハイマー病（AD）の発病の危険を軽減するという疫学データが報告されている

(Lemeshow S, Letennerer L, Dartigues JF, et al. Illustration of analysis taking into account complex survey considerations: the association between wine consumption and dementia in the PAQUID Study. Am J Epidemiol 1998; 148: 298-306., Lindsay J, Laurin D, Verreault R, et al.

Risk factors for Alzheimer's disease: A prospective analysis from the Canadian study of health and aging. Am J Epidemiol 2002; 156: 445-453.) が、これは他のアルコール類を常時摂取していても AD の発病の危険は軽減されず、アルコールでは無く赤ワインの成分に AD の発病を予防する因子が含まれているものと推察されている。また、赤ワインに多く含まれる成分で、生体内で抗酸化作用や抗発

癌作用などの様々な生理活性を持つ物質としてポリフェノールが注目を集めている。また、近年の研究では、ADの原因としてAD脳の病理学的特徴である老人斑の構成成分のアミロイドβ蛋白 (Aβ) が強く関与していると考えられている。しかも、Aβ単体では毒性が低く、重合して多量体を形成することによって毒性が発現すると考えられている。そこで、アミロイド凝集抑制薬の開発はADに対する有力な治療アプローチの1つと考えられる。我々は、これまでに試験管内にてAβ凝集を定量化する方法を開発し、Aβ凝集抑制、あるいはすでに凝集・形成されたAβを不安定化する化合物を検索することを可能とした。この方法を用いて現在までにAβ凝集抑制、あるいはすでに凝集・形成されたAβを不安定化する化合物を報告してきたが、最近特に我々は、ワイン関連ポリフェノール (ケルセチン) に注目し、ケルセチンが *in vitro* にて強力にAβ凝集を抑制、あるいはすでに凝集・形成されたAβを不安定化することを報告した (Hamaguchi T, Ono K, Yamada M. Anti-amyloidogenic therapies: strategies for prevention and treatment of Alzheimer's disease. Cell Mol Life Sci 2006; 63: 1538-1552, Ono K, Hamaguchi T, Naiki H, Yamada M. Anti-amyloidogenic effects of antioxidants: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. Biochim Biophys Acta 2006; 1762: 575-586.)。

2. 研究の目的

加齢とともに脳内にAβが沈着することが知られているADモデルマウスを用いて、ワイン関連ポリフェノール (ケルセチン) の *in vivo* での脳内のAβ沈着抑制効果を検討する。

3. 研究の方法

脳内のAβ沈着と知能障害が表現できるAD

モデルマウスである Tg2576APP Swedish mice(Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, et al. Correlative memory deficits, Aβ elevation, and Amyloid plaques in transgenic mice. Science 1996; 274: 99-102.)をタコニック社より購入。マウスはコントロール、予防、治療の3群に分け、通常の餌に0.5%ケルセチンを混入した特殊飼料を作成し、予防群には生後6ヶ月後より特殊飼料投与を開始した。毎日生存の確認を行い、3ヶ月毎に体重測定を行った。生後5ヶ月、11ヶ月にはY-mazeを用いた行動試験を行い、マウスの認知機能評価を行った。生後12ヶ月からは治療群にも0.5%ケルセチン混入の特殊飼料投与を開始した。

生後17ヶ月にY-mazeにて再度行動試験を行った後、生後18ヶ月目にジエチルエーテルで麻酔後絶命した。取り出した脳は半切し、一方を凍結、他方をパラホルムアルデヒドにて固定する。パラホルムアルデヒドにて固定した脳を用いて4G8やAβ40、Aβ42に対する抗体で免疫染色を行い、マウス脳へのAβ沈着を画像解析ソフト (Win ROOF™) にて解析した。凍結脳を用いてELISA法でAβ沈着量の定量を行った。

4. 研究成果

累積生存率は、対照群、予防群、治療群の3群間で有意差を認めなかった。予防群の体重 (25.0±2.5g) は、生後12ヶ月目で、対照群の体重 (22.3±1.5g) と比較して有意に重く ($p<0.05$)、生後18ヶ月目には、治療群の体重 (26.3±3.5g) も対照群の体重 (22.5±2.5g) と比較して有意に重かった ($p<0.05$)。Y-mazeを用いた行動実験では、経過を通して、運動機能を示す arm entry、認知機能を示す percent alteration とも有意差を認めなかった。

マウス脳による免疫組織学的検討では、対照群、予防群、治療群の3群間でAβ沈着に有意差を認めなかった。ELISAによるAβ40

および A β 42 定量による比較でも、3 群間に有意差を認めなかった。

結果をまとめると、赤ワインポリフェノールの 1 つであるケルセチン経口投与は、アルツハイマー病モデルマウスの体重を増加させるが、行動や認知機能、脳への A β 沈着へは影響を与えないと考えられた。今回の投与量は、人間に換算すると 0.08g/kg/day (FDA criteria for converting drug equivalent dosage across species) に相当し、十分量が投与されており、ケルセチンでの AD 予防・治療は難しいものとする。

(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 16 件)

1. Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M. Medical procedures and risk for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, Japan, 1999-2008. *Emerg Infect Dis*, in press. 査読有
2. Hamaguchi T, Yamada M. Basiparallel anatomic scanning-magnetic resonance imaging in vertebral artery dissection. *Arch Neurol*, in press. 査読有
3. Yamada M, Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, Nozaki I, Kitamoto T, Sato T, Nakamura Y, Mizusawa H. Dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease in Japan: clinicopathological and molecular characterization of the two distinct subtypes. *Neuropathology*, in press. 査読有
4. Hamaguchi T, Fujisawa H, Sakai K, Okino S, Kurosaki N, Nishimura Y, Shimizu H, Yamada M. Acute encephalitis caused by intrafamilial transmission of enterovirus 71 in adult. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 828-830. 査読有
5. 浜口 毅, 山田正仁. アミロイドアンギオパチー *BRAIN and NERVE* 2008; 60: 1275-1283. 査読無
6. 浜口 毅, 野崎一朗, 篠原もえ子, 山田正仁. 孤発性 CJD MM2 皮質型と視床型. *神経内科* 2008; 69: 323-328. 査読無
7. 佐村木美晴, 森永章義, 野崎一朗, 篠原もえ子, 浜口 毅, 石田千穂, 山田正仁. 硬膜移植後クロイツフェルト・ヤコブ病の 1 剖検例: 二次感染予防の観点から. *治療学* 2008; 42: 106-108. 査読無
8. 浜口 毅, 山田正仁. アミロイドーシス. *総合臨床* 2008; 57 suppl: 436-439. 査読無
9. 浜口 毅, 野崎一朗, 篠原もえ子, 山田正仁. クロイツフェルト・ヤコブ病. *臨床床精神医学* 2008; 37: 537-539. 査読無
10. 浜口 毅, 野崎一朗, 篠原もえ子, 山田正仁. 医原性プリオン病. *神経内科* 2008; 68: 17-22. 査読無
11. 浜口 毅, 山田正仁. 脳アミロイドアンギオパチーとアルツハイマー病. *臨床検査* 2008; 52: 266-272. 査読無
12. Hamaguchi T, Iwasa K, Okino S, Yamada M. Carotid duplex ultrasonography during head-up tilt in patients with orthostatic hypotension. *Eur Neurol* 2007; 57: 219-222. 査読有
13. Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M. Ophthalmic surgery in prion diseases. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 162-164. 査読有
14. Hamaguchi T, Sakajiri K, Sakai K, Okino S, Sada M, Kusunoki S. Guillain-Barré syndrome with antibodies to GD1a/ GD1b complex. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; 78: 548-549. 査読有
15. Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T,

Kitamoto T, Sato T, Nakamura Y, Mizusawa H, Yamada M. Clinical features and diagnosis of dura mater graft associated Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology*. 2007; 69: 360-367. 査読有

16. 浜口 毅、篠原もえ子、山田正仁. *CJD, vCJD の世界的現状と将来*. 臨床と微生物 2007; 34; 417-423. 査読無

〔学会発表〕 (計 5 件)

1. Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M. Medical procedures and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: analyses with the Japanese CJD surveillance. *PRION* 2008. Madrid, 2008.10.8-10.
2. 浜口 毅、篠原もえ子、野崎一朗、中村好一、北本哲之、佐藤 猛、水澤英洋、山田正仁. 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病における医療行為の実態. 第 49 回日本神経学会総会 2008. 横浜, 2008.5.15-17
3. 浜口 毅、篠原もえ子、野崎一朗、中村好一、北本哲之、佐藤 猛、水澤英洋、山田正仁. シンポジウム II プリオン病: 最近のトピックス、3.医療行為に伴う医原性 CJD の危険性. 第 49 回神経病理学会総会学術研究会. 東京, 2008.5.20-21
4. Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M. Ophthalmic surgery in prion diseases. *PRION* 2007. Edinburgh, 2007.9.26-28.
5. 浜口 毅、篠原もえ子、野崎一朗、中村好一、北本哲之、佐藤 猛、水澤英洋、山田正仁. 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病における医療行為の実態. *PRION*

SYMPOSIUM 2007. 新潟, 2007.8.25-26

〔図書〕 (計 3 件)

1. 浜口 毅、山田正仁. プリオン病と遅発性ウイルス感染症. 14.各臨床病型の特徴と診断のポイント 1)特発性プリオン病 (孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病) (2)視床型と MM2 皮質型、印刷中
2. 浜口 毅、山田正仁. 亜急性に認知機能が低下した 65 歳女性 (クロイツフェルト・ヤコブ病). *New 専門医を目指す CASE METHOD APPROACH 神経疾患第 1 版. 6 神経疾患*. 日本医事新報社、東京、pp136-145、2008.
3. 浜口 毅、山田正仁. クロイツフェルト・ヤコブ病. 永井良三 (監修) 看護に役立つ疾患・症候事典. メジカルフレンド社、東京、pp572-574、2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱口 毅 (HAMAGUCHI TSUYOSHI)

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号: 70452109