

令和 4 年 5 月 6 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K12780

研究課題名(和文)アルツハイマー病における脳内アミロイドオリゴマーの画像化試薬の開発

研究課題名(英文)Development of novel ligands for in vivo imaging of amyloid oligomers in the brain of Alzheimer's disease

研究代表者

田口 弘康 (Taguchi, Hiroyasu)

滋賀医科大学・神経難病研究センター・特任教授

研究者番号：90102912

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)の病態においてA β オリゴマーは発症前の初期段階において重要な役割を果たしている。本研究ではA β オリゴマーのフッ素MR画像化試薬Shiga-Y51を開発し、その有用性を検証した。野生型マウスとADモデルマウスにShiga-Y51を投与したところ、Shiga-Y51は血液脳関門を通過してADモデルマウス脳内のA β オリゴマー蓄積部位に集積した。さらに、ADモデルマウスにおいて野生型マウスよりも強いフッ素MR信号が検出されたことから、A β オリゴマーのMR画像化に世界で初めて成功したと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ADは発症後の治療が困難であることから、A β オリゴマーが蓄積し始める40-50代での正確な診断法の確立と治療法の開発が急務である。そこで、A β オリゴマーを標的にした診断・治療薬の開発が試みられているものの、実用化されたものはない。本研究では、A β オリゴマーのフッ素MR画像化試薬を開発し、その有用性をin vivoで検証することで、世界初となるA β オリゴマーのフッ素MR画像化に成功した。他に類を見ない画期的な研究成果であることから、学術的に非常に意義がある。

研究成果の概要(英文)：A β oligomers serve as an important role in early stage of AD pathology. The present study developed Shiga-Y51 as a fluorine-19 MR imaging probe for detecting A β oligomers. Wild-type and AD model mice that displayed accumulation of A β oligomers in the brain were subjected to MS imaging and MR measurements after the injection with Shiga-Y51. MS imaging revealed the accumulation of Shiga-Y51 in the brain where A β oligomers accumulated in AD model mice. Furthermore, Shiga-Y51-injected AD model mice showed significant fluorine MR signals in the brain, compared with wild-type mice. These results suggest that the current study succeeded in the first MR imaging of A β oligomers.

研究分野：有機化学

キーワード：認知症 MRI 画像診断 有機合成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国における認知症患者数は 500 万人を越え、2025 年には 700 万人に達すると推計されており、その解決は緊急かつ重要な課題である。認知症の中で最も多いアルツハイマー病 (AD) においては、根本治療薬の開発がことごとく失敗に終わっている。アルツハイマー病の脳病理は発症の 20-30 年前から進行しており、発症前の段階で診断して治療する先制医療の重要性が指摘されている。AD で最も早期に起こる現象は、アミロイド β ペプチド ($A\beta$) 凝集体の出現である。なかでも可溶性の $A\beta$ オリゴマーは神経毒性が強く、AD の発症前の初期段階における病態形成に、重要な役割を果たしていると考えられている。AD 発症後の治療は困難であることから、 $A\beta$ オリゴマーが蓄積し始める 40-50 代での正確な診断法の確立と治療法の開発が重要である。そこで、 $A\beta$ オリゴマーを標的とした診断・治療薬の開発が試みられているものの、まだ実用化されたものはない。

2. 研究の目的

我々は、 $A\beta$ 線維 ($A\beta$ が β シート構造を形成して重合した線維状の凝集体) にのみ結合する低分子化合物 Shiga-X と $A\beta$ 線維と $A\beta$ オリゴマーの両者に結合する低分子化合物 Shiga-Y の化学的性質の違いを詳細に検討することで、Shiga-Y のもつ「ケト・エノール互変異性」に $A\beta$ オリゴマー結合の鍵が存在することを突き詰めた。すなわち、Shiga-Y には Shiga-X と同じ板状のエノール型と Shiga-Y のみが持つ蝶番状のケト型が存在することから、「ケト型の Shiga-Y は $A\beta$ オリゴマーに結合する」と考えられる。本研究では、この仮説をもとに世界初となる $A\beta$ オリゴマーのフッ素 MR 画像化試薬を開発し、アルツハイマー病モデルマウスを用いて有用性を検証した。

3. 研究の方法

(1) ケト型クルクミン誘導体の合成

ケト型クルクミン誘導体 Shiga-Y17 と Shiga-Y51 を合成した。

(2) 水晶発振子マイクロバランス (QCM) 装置を用いた特異性の解析

$A\beta$ オリゴマーまたは $A\beta$ 線維を固定した電極に化合物を反応させ、直後から 20 分間の周波数変化を QCM 装置を用いて測定した。

(3) AD モデルマウスを用いた結合試験

AD モデルマウスとして APP/PS1 マウスを用いて、化合物が血液脳関門を通過し脳内の $A\beta$ オリゴマーに結合するかを検証した。APP/PS1 マウスの尾静脈から化合物 (200 mg/kg) を投与し、30 分後に安楽死した。脳を摘出し、質量分析イメージングを用いて化合物の分布を解析した。また、一部はパラホルムアルデヒドで固定後に免疫組織化学により $A\beta$ オリゴマーの分布を解析した。

(4) フッ素 MR による in vivo 画像化試験

APP/PS1 マウスおよび野生型マウスの尾静脈から化合物を投与し、7 テスラ MR 装置でフッ素 MR を測定した。

4. 研究成果

(1) ケト型クルクミン誘導体の合成

ケト型クルクミン誘導体として、C-4 位にジメチル基を有する Shiga-Y17 および C-4 位にメチル基とエチル基を有する Shiga-Y51 を合成した (図 1)。

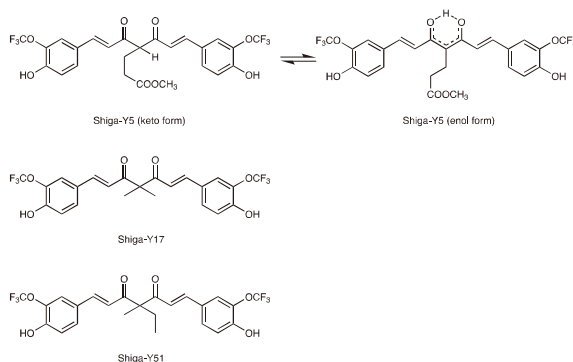


図 1. クルクミン誘導体 Shiga-Y の構造式

(2) QCM による A β 線維および A β オリゴマーとの結合性の解析

A β オリゴマーを固定したセンサーにケト・エノール互変異性を示す Shiga-Y5 を反応させると周波数の有意な減少が認められた(図2)。さらに、A β 線維を固定したセンサーを用いた場合でも周波数の有意な減少が認められたことから、Shiga-Y5 は A β オリゴマーとも A β 線維とも結合することが示唆された(図2)。一方、ケト型クルクミン誘導体 Shiga-Y17 は、A β オリゴマーでは周波数の有意な減少を示し、A β 線維では、有意差は認められたものの、周波数の減少幅は低下した(図2)。Shiga-Y51 は、A β オリゴマーでは周波数の有意な減少を示した一方、A β 線維では有意差は認められなかった。この結果から、Shiga-Y51 は、A β オリゴマーとは結合するが、A β 線維とは結合しないことが示唆された。

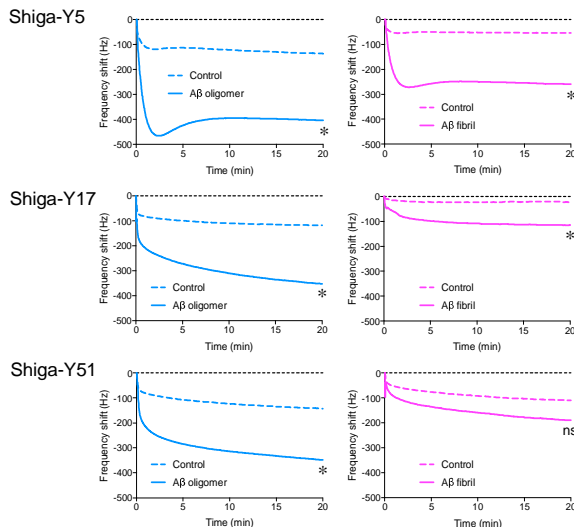


図2. QCM による結合特異性の解析

(3) AD モデルマウスを用いた結合試験

APP/PS1 マウスおよび野生型マウスに Shiga-Y51 を 200 mg/kg で尾静脈から投与して、30 分後に安楽死した。脳切片を作製して質量分析イメージングを実施したところ、APP/PS1 マウスでは A β オリゴマーが蓄積している大脳皮質や海馬などの脳領域で強い信号が検出された(図3)。一方、A β オリゴマーが蓄積していない野生型マウスでは、強い信号はほとんど検出されなかった(図3)。この結果から、Shiga-Y51 は血液脳関門を通過して、脳に到達すること、そして、脳内に蓄積した A β オリゴマーに結合することが示唆された。

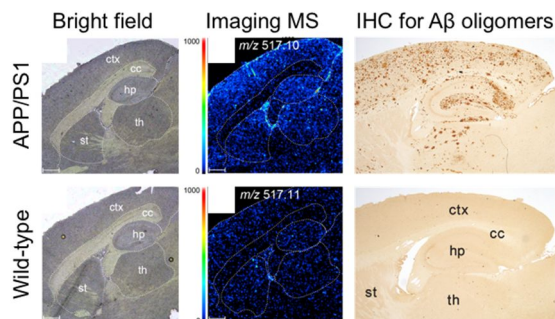


図3. 質量分析イメージングと免疫組織化学による結合性の解析

(4) フッ素 MR による in vivo 画像化試験

APP/PS1 マウスおよび野生型マウスに Shiga-Y51 を 200 mg/kg で尾静脈から投与して、7 テスラ MR 装置でフッ素 MR を測定した。投与終了 100 分後からの 50 分間のフッ素 MR 画像において、野生型では脳に信号はほとんど認められなかったが、APP/PS1 マウスでは前脳の上方に強い信号が検出された(図4)。そこで、脳を 5 つの区画に分け、それぞれの区画で検出された信号強度を定量した(図4)。その結果、野生型マウスに比べて、APP/PS1 マウスでは、区画 2 において有意なフッ素 MR 信号の集積が認められた(図4)。この結果から、APP/PS1 マウス脳内で蓄積している A β オリゴマーに結合した Shiga-Y51 をフッ素 MRI によって検出することに成功したと考えられる。

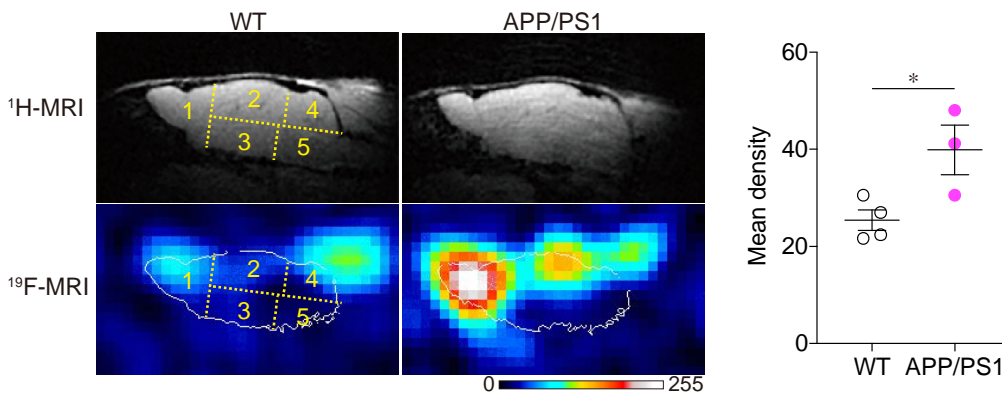


図4. フッ素 MRI による画像化試験

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Buyandelger Undral、Walker Douglas Gordon、Taguchi Hiroyasu、Yanagisawa Daijiro、Tooyama Ikuo	4. 巻 532
2. 論文標題 Novel fluorinated derivative of curcumin negatively regulates thioredoxin-interacting protein expression in retinal pigment epithelial and macrophage cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 668 ~ 674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.08.114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yanagisawa Daijiro、Kato Tomoko、Taguchi Hiroyasu、Shirai Nobuaki、Hirao Koichi、Sogabe Takayuki、Tomiyama Takami、Gamo Keizo、Hirahara Yukie、Kitada Masaaki、Tooyama Ikuo	4. 巻 270
2. 論文標題 Keto form of curcumin derivatives strongly binds to A oligomers but not fibrils	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 120686 ~ 120686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2021.120686	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yanagisawa Daijiro、Ibrahim Nor Faeizah、Taguchi Hiroyasu、Morikawa Shigehiro、Tomiyama Takami、Tooyama Ikuo	4. 巻 26
2. 論文標題 Fluorine-19 Magnetic Resonance Imaging for Detection of Amyloid Oligomers Using a Keto Form of Curcumin Derivative in a Mouse Model of Alzheimer's Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1362 ~ 1362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26051362	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsui Atsuya、Bellier Jean-Pierre、Kanai Takeshi、Satooka Hiroki、Nakanishi Akio、Terada Tsukasa、Ishibe Takafumi、Nakamura Yoshiaki、Taguchi Hiroyasu、Naruse Nobuyasu、Mera Yutaka	4. 巻 23
2. 論文標題 The Effect of Ethanol on Disassembly of Amyloid-1-42 Pentamer Revealed by Atomic Force Microscopy and Gel Electrophoresis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 889 ~ 889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23020889	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Pahrudin Arrozi Aslina, Abu Bakar Zulzikry Hafiz, Taguchi Hiroyasu, Yanagisawa Daijiro, Tooyama Ikuo	4. 巻 26
2. 論文標題 A Fluorine-19 Magnetic Resonance Probe, Shiga-Y5, Downregulates Thioredoxin-Interacting Protein Expression in the Brain of a Mouse Model of Alzheimer ' s Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 5342 ~ 5342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26175342	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 柳沢大治郎、田口弘康、遠山育夫
2. 発表標題 Therapeutic effects of a curcumin derivative Shiga-Y5 in the brain of a mouse model of Alzheimer ' s disease
3. 学会等名 The 13th Japan-China Joint Seminar on Histochemistry and Cytochemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳沢大治郎、Hamizah Shahirah Hamezah, Aslina Pahrudin Arrozi、田口弘康、遠山育夫
2. 発表標題 タウ遺伝子改変マウスrTg4510のタウ蓄積における遺伝的背景の影響
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳沢大治郎、田口弘康、遠山育夫
2. 発表標題 フッ素MRIによるアミロイド ・ タウ病理の画像化研究
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 アミロイドオリゴマーの画像診断薬	発明者 遠山育夫、田口弘 康、柳沢大治郎、加 藤智子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-033405	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

ケト型のクルクミン誘導体はA オリゴマーに結合するがフィブリルには結合しない https://www.shiga-med.ac.jp/research-and-collaboration/priority-projects-and-research-results/latest-research-papers#20210225

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	柳沢 大治郎 (Yanagisawa Daijiro) (50581112)	滋賀医科大学・神経難病研究センター・准教授 (14202)	
研究 分担者	加藤 智子 (Kato Tomoko) (90754367)	滋賀医科大学・神経難病研究センター・特任助教 (14202)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------