

機関番号：36102
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20590592
 研究課題名(和文) アミロイドベータの立体構造変化に基づくアルツハイマー病血清診断法の開発
 研究課題名(英文) A new diagnostic approach of Alzheimer's Disease based on the conformational changes of A β in serum
 研究代表者
 松永 洋一 (MATSUNAGA YOICHI)
 徳島文理大学・薬学部・教授
 研究者番号：80239053

研究成果の概要(和文)：

アルツハイマー病の原因は、脳内異常構造アミロイド蛋白にある。脳内アミロイド蛋白は微量ながら血中でも検出できる。正常構造アミロイド蛋白は加温(38-40℃)で構造が変化するが、異常蛋白では変化が起こらない点に着目し、血液を用いたアルツハイマー病の客観的な新規診断法を開発した。加温によるアミロイド蛋白構造変化の有無を調べることで、アルツハイマー病の診断が可能である事を実際の患者血液で示し、臨床応用への可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文)：

We clarified the conformational changes of amyloid protein in serum between from normal and Alzheimer's patients to the temperature within physiological limits. The former exhibited the sensitivity to temperature and the latter did not exhibit the sensitivity to temperature. The present study suggest a new approach to the diagnostics of Alzheimer's disease with serum.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1,800,000	540,000	2,340,000
21年度	900,000	270,000	1,170,000
22年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：病態検査学

キーワード：アルツハイマー病、アミロイド蛋白、加温、蛋白立体構造変化、血清診断

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病はその症状発現前、数年間にわたる軽度認知能力低下の時期があり、この時期に早期発見することがその予後を左右する。病因として凝集性アミロイド蛋白の脳への沈着が重要視されている。しかしながら、これまでアルツハイマー病の客観的な

早期診断法は確立されていない。生体内でアミロイド蛋白を取り巻く物理化学的環境の一つとして温度変化に着目し、正常と異常凝集アミロイド蛋白を区別可能な方法が開発できれば、診断に有用である。

2. 研究の目的

- (1) 正常アミロイド蛋白の加温依存的凝集性変化による蛋白化学的特性の変化を観察。
- (2) 健常者とアルツハイマー病由来の血清中に含まれているアミロイド蛋白の蛋白化学的特性の相違点を明らかにする。
- (3) アルツハイマー病患者の重症度群、軽症群での血清中アミロイド蛋白の加温による蛋白化学的特変化の相違を解明する。
- (4) 動物実験で、アミロイド蛋白凝集阻止可能なブレーカーペプチドの有効性を確認。

3. 研究の方法

- (1) ELISA 法を用い正常アミロイド蛋白の加温依存的凝集性変化部位を特定する。
- (2) Circular Dichroism にて加温により誘導されるアミロイド蛋白の構造変化を観察。
- (3) 加温凝集性変化アミロイド蛋白の凝集性を Protease K に対する抵抗性で識別し、Dot blotting にて残存凝集蛋白量として評価する。
- (4) 健常者とアルツハイマー病由来の血清中に含まれているアミロイド蛋白を加温後に、それぞれのプロテアーゼ K 抵抗性(残存蛋白量)の相違を Dot blotting で評価する。
- (5) アルツハイマー病患者の各重症度別群より採血し、加温後にプロテアーゼ K 処理し残存する蛋白量を測定し相違を評価し診断法に応用する。
- (6) 加温誘導によるアミロイド蛋白凝集を阻止可能ブレーカーペプチドを検索する。
- (7) 上記ブレーカーペプチドの効果をラットでの迷路実験で証明する。

4. 研究成果

- (1) アミロイドベータ 40 は、37~38°C、40°C 付近の加温で蛋白構造変化を惹起する。
- (2) アミロイドベータ 40 において、加温依存的構造変化を誘導するペプチド部位はアミノ酸残基 9-14 と 16-23 である。
- (3) ブレーカーペプチド：A-beta16-23, A-beta17-24 で加温誘導アミロイド蛋白凝集は阻止可能である。
- (4) ラットを用いた行動薬理学的迷路実験にて、上記のブレーカーペプチドの効果が確認された。
- (5) 正常者に比しアルツハイマー病患者由来血清中に含有されるアミロイドベータ蛋白は加温依存性構造変化が乏しい。
- (6) 上記の相違点を用いてアルツハイマー病の血清学的診断が可能である。

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)

(1) 雑誌論文

1. Hatip F F, Hatip-Al-Khatib I, Y. Matsunaga, M. Suenaga, N. Sen.
Effects of 8-residue beta sheet breaker peptides on Aged A β 40-Induced memory impairment and A β 40 expression in rat brain and serum following intraamygdaloid injection.
Curr Alzheimer Res, (7(7):602-614, 2010)
2. W. Fukushima, Y. Miyake, K. Tanaka, S. Sasaki, C. Kiyohara, Y. Tsuboi, T. Yamada, T. Oeda, T. Miki, N. Kawamura, N. Sakae, H. Fukuyama, Y. Hirota, M. Nagai, the Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group .
Alcohol drinking and risk of Parkinson's disease : a case-control study in Japan.
BMC Neurology (10:111, 2010)
3. K. Tanaka, Y. Miyake, W. Fukushima, S. Sasaki, C. Kiyohara, Y. Tsuboi, T. Yamada, T. Oeda, T. Miki, N. Kawamura, N. Sakae, H. Fukuyama, Y. Hirota, M. Nagai, the Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group.
Active and passive smoking and risk of Parkinson's disease.
Acta. Neurol. Scand. (122 : 377-382, 2010)
4. K. Murakami, Y. Miyake, S. Sasaki, K. Tanaka, W. Fukushima, C. Kiyohara, Y. Tsuboi, T. Yamada, T. Oeda, T. Miki, N. Kawamura, N. Sakae, H. Fukuyama, Y. Hirota, M. Nagai, and Fukuoka Kinki Parkinson's disease Study Group.
Dietary intake of folate, vitamin B6, vitamin B12 and riboflavin and risk

- of Parkinson's disease: a case-control study in Japan.
Br. J. Nutr (104:757-764, 2010)
5. Y. Miyake, T. Tanaka, W. Fukushima, S. Sasaki, C. Kiyohara, Y. Tsuboi, T. Yamada, T. Oeda, T. Miki, N. Kawamura, N. Sakae, H. Fukuyama, Y. Hirota, M. Nagai, the Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group.
Case-control study of risk of Parkinson's disease in relation to hypertension, hypercholesterolemia, and diabetes in Japan.
J Neurol Sci. (293:82-86, 2010)
6. T. Terada, Y. Tsuboi, T. Obi, K. Doh-ura, S. Murayama, T. Kitamoto, T. Yamada, K. Mizoguchi.
Less protease-resistant PrP in a patient with sporadic CJD treated with intraventricular pentosan polysulfate.
Acta. Neurol. Scand. (121:127-130, 2010)
7. Hatip B. F, M. Suenaga, T. Yamada, Y. Matsunaga.
Reversal of temperature-induced conformational changes in the Amyloid-beta peptide, A β 40, by the β -sheet breaker peptides 16-23 and 17-24.
Br J Pharmacol (158:1165-1172, 2009)
8. Y. Tsuboi, K. Doh-ura, T. Yamada.
Continuous intraventricular infusion of pentosan polysulphate : clinical trial against prion diseases.
Neuropathology (29(5):632-636, 2009)
9. F. Hatip, M. Suenaga, T. Yamada, Y. Matsunaga.
Reversal of temperature-induced conformational changes in the amyloid-beta peptide, A β 40, by the β -sheet breaker peptides 16-23 and 17-24.
10. M. Waragai, S. Mizumura, T. Yamada, H. Matsuda.
Differentiation of early-stage Alzheimer's Disease from other types of dementia using brain perfusion SPECT with eZIS analysis.
Dement. Geriatr. Cogn. Disord. (26 : 547-555, 2008)
11. Y. Uehara, T. Yamada, Y. Baba, S. I. Miura, S. Abe, K. Kitajima, M. Higuchi, T. Iwamoto, K. Saku.
ATP-binding cassette transporter G4 is highly expressed in microglia in Alzheimer's brain.
Brain Res (27(1217C):239-246, 2008)
12. Ai. Cho, M. Sugimura, S. Nakano, T. Yamada.
The Japanese MCI Screen for Early Detection of Alzheimer's Disease and Related Disorders.
Am J Alzheimer's Disease and Other Dementias (23 (2) 162-166, 2008)
- (邦文)
1. 合馬慎二、山田達夫
疫学と予防 5) Alzheimer 病の危険因子とライフスタイルの改善による予防効果
神経内科 (72 (6) 28-33, 2010)
2. 吉田香織、大久保みゆき、山田達夫
認知症予防のための安心院プロジェクト 9年間の歩み
地域保健 (10 (6) : 74-81, 2010)

3. 長 愛、山田達夫、鐘ヶ江秀樹、浜崎裕子、中島七海、平原一寿
軽度認知障害者への非薬物的介入効果
地域保健 (40 (12) : 64-69, 2009)
4. 八森 淳、安田朝子、本間 昭、朝田 隆、池田 学、河野禎之、稲葉百合子、木之下徹、内海久美子、奥村 歩、川嶋乃里子、川畑信也、繁田雅弘、繁信和恵、高橋 智、田北昌史、玉井 顕、長田 乾、橋本 衛、平井茂夫、藤沢嘉勝、水上勝義、山田達夫、小坂憲司
認知症医療によるアルツハイマー型認知症の本人および介護者の包括的健康関連 QOL 指標の変化
老年精神医学雑誌
(20 (9) : 1009-1021, 2009)
5. 八森 淳、河野禎之、本間 昭、朝田 隆、池田 学、安田朝子、稲葉百合子、木之下徹、内海久美子、奥村 歩、川嶋乃里子、川畑信也、繁田雅弘、繁信和恵、高橋 智、田北昌史、玉井 顕、長田 乾、橋本 衛、平井茂夫、藤沢嘉勝、水上勝義、山田達夫、小坂憲司
ドネペジル塩酸塩によるアルツハイマー型認知症患者とその家族の包括的健康関連 QOL 指標の変化に関する研究
老年精神医学雑誌 (20 (9) : 997-1008, 2009)
6. 浜崎裕子、山田達夫、中島七海、平原一寿
MCI の人に対するエンパワメント・ツールとしてのまちづくりワークショップの提案
地域保健 (40 (1) : 48-61, 2009)
7. 緒方真一、山田達夫、本橋伸高、山縣然太郎、天野恵子、篠遠 仁、吉井文均、石井敏仁、田中司朗
CogHealth の信頼性、妥当性、外挿可能性に関する検討

認知神経学 (10 (1) : 119-129, 2008)

(総説)

1. 福原藍加、山田達夫
治療・ケア 認知症ケア
Clinical Neuroscience
(2010, 28(9) : 1052-1053)
 2. 山田達夫
社会的・積極レジャー活動を中心とした非薬物療法による Mild Cognitive Impairment (MCI) からの認知症への進行予防 - 安心院プロジェクト
Geriatr. Med. (2010, 48 (5) 653-656)
 3. 山田達夫、玉木慶子
Q & A-神経科学の素朴な質問 年をとっても認知症にならない人がいるのはなぜですか?
Clinical Neuroscience (2010, 28 : 463)
 4. 山田達夫
特集 高齢者認知症の知識と理解 認知症の予防 栄養と生活習慣
臨床と研究(2008, 85(4) : 67-69)
 5. 杉村美佳、山田達夫
特集 今日のアルツハイマー病研究大手が掛った根治薬 アルツハイマー病臨床研究の最前線 予防
Current Therapy (2008, 26(4) : 59-63)
- (2) 学会発表
1. 高濃度 Vitamine D2 によるベータアミロイド凝の集促進、末永みどり、松永洋一、合馬信二、山田達夫、日本老年病学会、福岡市 2011, 3 月
 2. Reversal of temperature-induced conformational changes in A-beta40 by beta-breaker peptides 16-23 and 17-24.
M.Suenaga, T.Yamada, Y.Matsunaga,
第 8 2 回日本生化学会、神戸市
2010, 10 月

[雑誌論文] (計 24 件)

[学会発表] (計 2 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計◇件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松永 洋一 (MATSUNAGA YOICHI)

徳島文理大学・薬学部・教授

研究者番号:

(2) 研究分担者

山田 達夫 (YAMADA TATSUO)

福岡大学・医学部・教授

研究者番号:

末永 みどり (SUENAGA MIDORI)

徳島文理大学・薬学部・助教

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号:

