

機関番号：14401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590697

研究課題名 (和文) Abeta 離散・クリアランスをターゲットとした認知症治療法に関する研究

研究課題名 (英文)

Development of therapeutics for dementia targeting Abeta clearance

研究代表者

里 直行 (SATO NAOYUKI)

大阪大学・大学院医学系研究科・寄付講座准教授

研究者番号：70372612

研究成果の概要 (和文)：スタチンがマウスにおいて脳内ベータ・アミロイドを低下させることおよびその機序を明らかにした。スタチンはベータ・アミロイドの産生を抑制し、かつベータ・アミロイドのクリアランスを増大させた。ベータ・アミロイドのクリアランス増大の機序としては LRP-1 の増加が考えられた。両者においてイソプレニル化が関与していた。

研究成果の概要 (英文)：We found that statin reduced Abeta level in mouse brain and identify its mechanism. Statin inhibited Abeta production and up-regulated Abeta clearance. Up-regulation of Abeta clearance seemed likely to be mediated by the increase of LRP-1 expression. Inhibition of protein isoprenylation is involved in both inhibition of Abeta production and up-regulation of Abeta clearance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：基礎研究

科研費の分科・細目：ライフサイエンス

キーワード：アルツハイマー病、ベータ・アミロイド

## 1. 研究開始当初の背景

家族性アルツハイマー病の原因遺伝子の発見よりベータ・アミロイドを原因の最上流に置くアミロイド・カスケード仮説が提唱されており、この仮説に基づき、ベータ・アミロイドを標的とした治療法が現在、30 以上臨床試験中である。ベータ・アミロイドの量は産生とクリアランスのバランスにより制御されている。現在、産生を修飾する薬剤は多く、臨床試験中であるが、クリアランスを制御する薬剤はワクチンや抗体を除いて皆無である。

## 2. 研究の目的

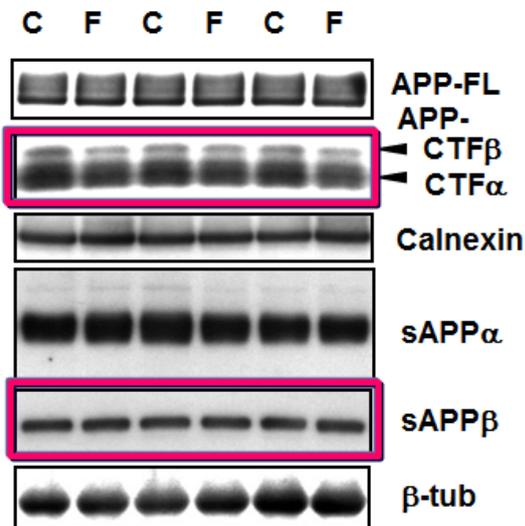
ベータ・アミロイドのクリアランスをターゲットとした認知症、特にアルツハイマー病の治療法の確立を研究の目的とする。

## 3. 研究の方法

マウスおよび培養細胞を用いて、スタチンのベータ・アミロイドに対する作用を明らかにする。マウスは野生型マウスおよびアルツハイマー病トランスジェニックマウスを用いた。スタチンとしては臨床でヒトに使用される量をマウスに換算して投与を行った。

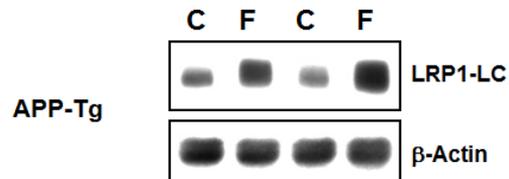
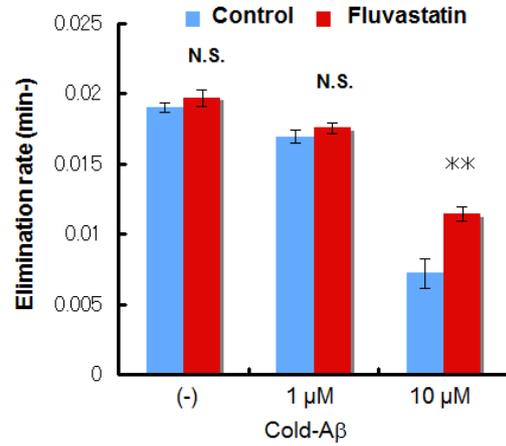
#### 4. 研究成果

我々はスタチンをマウスに投与し脳内ベータ・アミロイドが低下することおよびその機序を明らかにした(Shinohara, Sato, et al. JBC2010)。スタチンはベータ・アミロイドの産生を抑制し、かつベータ・アミロイドのクリアランスを増大させた。ベータ・アミロイドの産生抑制の機序としてはその前駆体である Amyloid Precursor Protein-C terminal fragment (APP-CTF)の細胞内輸送を促進して、そのライソゾームでの分解を促進しているように考えられた(下図:スタチンによるAPP-CTFの低下)。



培養細胞においても同様の作用が見いだされ、スタチンによるAPP-CTF低下はメバロン酸添加によりキャンセルされたことからスタチンによるタンパクのイソプレニル化抑制作用を介していることが示唆された。また、ベータ・アミロイドは産生とクリアランスのバランスでその脳内レベルが決定されるが、スタチンはベータ・アミロイド・クリアランスをも増加させていた。ベータ・アミロイドのクリアランスの担うとされている分子をスクリーニングしたところ、そのうち、LDL receptor-related protein(LRP)-1の発現をスタチンは増加させていた(右上図:スタチンによるベータ・アミロイドのクリアランス増加とLRP-1の発現亢進)。細胞レベルでもスタチンはLRP-1の発現を亢進させていた。さらにLRP-1の阻害をRAPやLRP-1抗体を用いて行ったところ、細胞へのベータ・アミロ

イドの取り込みは抑制された。また、スタチンによるLRP-1の発現亢進はメバロン酸添加によりキャンセルされたことからスタチンによるタンパクのイソプレニル化抑制作用を介していることが示唆された。

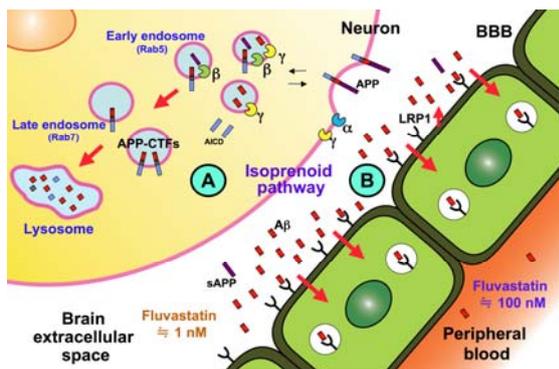


臨床においてスタチンは、アルツハイマー病発症抑制効果があることが示唆されている(The Rotterdam Study: Haag MD, et al. Statins are associated with a reduced risk of Alzheimer disease regardless of lipophilicity. The Rotterdam Study. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2009; 80(1): 13-7)。

しかし、軽度～中等度アルツハイマー病を対象としたランダム化臨床試験(Feldman HH, et al. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease: LEADe. Neurology; 74(12):956-964.)ではアトロバスタチンは約1年半の投与では認知機能を改善することができなかった。この相違をどう説明されるのであろうか?「スタチンはアルツハイマー病予防には有効であるが、一旦発症すると進行抑制には効果がない」と仮説を立てることができる。この仮説は以下の事実により、支

持されるであろう。アルツハイマー病の原因物質とされているベータ・アミロイドはアルツハイマー病発症を遡ること 10~20 年前より蓄積し始めること、スタチンには A・量を抑制する効果があることである。

我々の今回の研究により、スタチンのアルツハイマー病発症抑制効果の機序が明らかにされた (下図)。



もちろん、脳内 A・量の抑制のみならず、コレステロール低下作用や抗炎症作用・抗酸化作用などの多面的作用もアルツハイマー病発症抑制に寄与していると考えられる。今後は、ランダム化臨床試験による「スタチンはアルツハイマー病予防に有効である」ことの証明が必要であると考えられた。

##### 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 12 件)

- ① Sato N, Takeda S, Uchio-Yamada K, Ueda H, Fujisawa T, Rakugi H, Morishita R. Role of insulin signaling in the interaction between Alzheimer disease and diabetes mellitus: a missing link to therapeutic potential. *Current Aging Science*, in Press, 2011 査読有
- ② Takeda S, Sato N, Uchio-Yamada K, Sawada K, Kunieda T, Takeuchi D, Kurinami H, Shinohara M, Rakugi H, Morishita R. Diabetes-accelerated memory dysfunction via cerebrovascular inflammation and Aβ deposition in an Alzheimer mouse with diabetes. *Proceeding of National Academy of Sciences of United States of America*, 107, 7036-41, 2010 査読有
- ③ Takeda S, Sato N, Rakugi H, Morishita R. Plasma β-amyloid as potential biomarker of Alzheimer disease: possibility of diagnostic tool for Alzheimer disease. *Molecular BioSystems*, 6, 1760-6, 2010 査読有
- ④ Shinohara M, Sato N, Kurinami H, Takeuchi D, Takeda S, Shimamura M, Yamashita T, Uchiyama Y, Rakugi H, Morishita R. Reduction of Brain β-amyloid (Aβ) by fluvastatin, a hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor, through increase in degradation of amyloid precursor protein C-terminal fragments (APP-CTFs) and Aβ clearance. *The Journal of Biological Chemistry*, 285, 22091-102, 2010 査読有
- ⑤ Takeda S, Sato N, Uchio-Yamada K, Sawada K, Kunieda T, Takeuchi D, Kurinami H, Shinohara M, Rakugi H, Morishita R. Elevation of Plasma β-amyloid level by Glucose Loading in Alzheimer Mouse Models. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 385, 193-197, 2009 査読有
- ⑥ Takeda S, Sato N, Niisato K, Takeuchi D, Kurinami H, Shinohara M, Rakugi H, Kano M, Morishita R. Validation of Aβ 1-40 Administration into Mouse Cerebroventricles as an Animal Model for Alzheimer Disease. *Brain Research*, 1280, 137-147, 2009 査読有
- ⑦ Fournier A, Oprisiu-Fournier R, Serot JM, Godefroy O, Achard JM, Faure S, Mazouz H, Temmar M, Albu A, Bordet R, Hanon O, Gueyffier F, Wang J, Black S, Sato N. Prevention of dementia by antihypertensive drugs: how AT1-receptor-blockers and dihydropyridines better prevent dementia in hypertensive patients and ACE-inhibitors. *Expert Rev Neurother*. 2009, Sep;9(9):1413-31 査読有
- ⑧ Hayashi S, Sato N, Yamamoto A, Ikegame Y, Nakashima S, Ogihara T, Morishita R. Alzheimer

disease-associated peptide, amyloid beta40, inhibits vascular regeneration with induction of endothelial autophagy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009, 29, 1909-15 査読有

- ⑨ Takeda S, Sato N, Takeuchi D, Kurinami H, Shinohara M, Niisato K, Kano M, Ogihara T, Rakugi H, Morishita R. Angiotensin Receptor Blocker Prevented  $\beta$ -Amyloid-Induced Cognitive Impairment Associated with Recovery of Neurovascular Coupling. *Hypertension*, 2009, 54, 1345-52. 査読有
- ⑩ Takeda S, Sato N, Ogihara T, Morishita R. The Renin-Angiotensin system, Hypertension and cognitive dysfunction in Alzheimer's Disease: New Therapeutic Potential. *Frontiers in Bioscience*. 2008, 13, 2253-65. 査読有
- ⑪ Kurinami H, Sato N, Shinohara M, Takeuchi D, Takeda S, Shimamura M, Ogihara T, Morishita R. Prevention of amyloid beta-induced memory impairment by fluvastatin, associated with the decrease in amyloid beta accumulation and oxidative stress in amyloid beta injection mouse model. *Gene Therapy*, 2008, 15, 561-71 査読有
- ⑫ Wakayama K, Shimamura M, Sata M, koibuchi N, Sato N, Ogihara T, Morishita R. A model of cerebrovascular injury in rats. *Neurosci Methods*. 2008, 175, 187-95, 査読有

[学会発表] (計 30 件)

- ① Sato N, Shinohara M, Takeda S, Rakugi H, Morishita R. Dual Effects Of A Statin On Abeta Metabolism: Up-Regulation Of Degradation Of APP-CTF And Abeta Clearance. The 10<sup>th</sup> International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases, March 12, 2011, Barcelona, Spain
- ② Takeda S, Sato N, Rakugi H, Morishita R. Increased Blood-Brain Barrier Vulnerability To Systemic Inflammation In Alzheimer Disease Mouse Model, The 10th International

Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases. March 10, 2011, Barcelona, Spain

- ③ 里 直行, 篠原 充、島村 宗尚、武田 朱公、楽木 宏実、森下 竜一、スタチンによるアルツハイマー病予防効果の機序の解明、第 18 回日本血管生物医学学会学術集会、2010 年 12 月 1 日、大阪
- ④ 里 直行、武田 朱公、湯 久浩、守口 篤、楽木 宏実、森下 竜一、症病棟入院患者の周辺症状に対する抑肝散、非定型抗精神病薬、アンジオテンシン受容体拮抗薬の効果の検討、第 21 回日本老年医学会近畿地方会、2010 年 11 月 20 日、大阪
- ⑤ 武田 朱公、里 直行、楽木 宏実、森下 竜一、increased blood-brain barrier vulnerability to systemic inflammation in Alzheimer disease mouse model、第 21 回日本老年医学会近畿地方会、2010 年 11 月 20 日、大阪
- ⑥ 篠原 充、里 直行、武田 朱公、野間 基子、森下 竜一、HMG還元酵素阻害薬フルバスタチンのA $\beta$ 代謝作用の解析、第 29 回日本認知症学会総会、2010 年 11 月 5-6 日、名古屋
- ⑦ Takeda S, Sato N, Kano M, Ogihara T, Rakugi H, Morishita R. Angiotensin Receptor Blocker Prevented  $\beta$ -Amyloid-Induced Memory Impairment Associated with Recovery of Neurovascular Coupling. 23<sup>rd</sup> Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, September 28, 2010, Vancouver, Canada
- ⑧ M. Shinohara, N. Sato, H. Kurinami, D. Takeuchi, S. Takeda, M. Noma, H. Rakugi, R. Morishita. Fluvastatin (an HMG-CoA reductase inhibitor) reduces Abeta levels in brain by upregulating APP-CTFs degradation and Abeta clearance. *Neuroscience* October 18 2009, Chicago
- ⑨ M. Shinohara, N. Sato, H. Kurinami, D. Takeuchi, S. Takeda, M. Noma, H. Rakugi, R. Morishita. Fluvastatin (an HMG-CoA reductase inhibitor) reduces A $\beta$  levels in brain by upregulating

APP-CTFs degradation and A $\beta$  clearance. International Conference on Molecular Neurodegeneration May18-20 2009,

- ⑩ M. Shinohara, N. Sato, H. Kurinami, D. Takeuchi, S. Takeda, F. Nakagami, R. Morishita. The protective effect of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on the A $\beta$  brain accumulation. Neuroscience. November 15-19 2008. Washington DC.

[その他]

ホームページ

[http://www.cgt.med.osaka-u.ac.jp/cont/norm04\\_c\\_4.html](http://www.cgt.med.osaka-u.ac.jp/cont/norm04_c_4.html)

#### 6. 研究組織

(1) 里 直行 (SATO NAOYUKI)

大阪大学・大学院医学系研究科・

寄付講座准教授

研究者番号：70372612

(2) 研究分担者

なし