

機関番号：13501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591387

研究課題名（和文） 最軽度アルツハイマー病脳における酸化傷害：認知機能障害発現との関連性

研究課題名（英文） Oxidative Damage Is Associated with the Onset of Cognitive Impairment in Very Mild Alzheimer's Disease

研究代表者

布村 明彦（NUNOMURA AKIHIKO）

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・准教授

研究者番号：60241436

研究成果の概要（和文）：

大脳皮質神経細胞における核酸の酸化傷害について剖検脳を用いて免疫細胞化学的に検討した。核酸の酸化傷害レベルは対照例（0.3～86 歳）において加齢に伴って増加し、酸化される核酸は主として RNA であった。また、RNA の酸化傷害レベルは、発症前期(preclinical stage)の Alzheimer 病(AD)では対照と有意差がなかったが、最軽度 AD および軽度 AD では顕著な増加が認められた。神経細胞内 RNA の酸化傷害は AD 初期の認知機能障害発現に関連している。

研究成果の概要（英文）：

An *in situ* approach was used to identify an oxidized nucleoside, 8-hydroxyguanosine in the cerebral cortex of postmortem brains. Density measurements of the immunoreactions revealed a modest but statistically significant increase in neuronal RNA oxidation during aging (0.3 to 86 years old). In the subjects with very mild Alzheimer's disease (AD), but not preclinical AD, neurons showed higher burden of oxidized RNA compared to age-matched controls. Prominent levels of neuronal RNA oxidation are associated with the earliest changes marking the onset of cognitive impairment in the prodromal stage of AD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：脳神経疾患、認知症、老化、酸化ストレス、アルツハイマー病、8-hydroxyguanosine、核酸、免疫細胞化学

1. 研究開始当初の背景

わが国では諸外国に先立って人口高齢化率が 20%を超え、認知症対策の重要性が益々クローズアップされている。認知症の原因疾患の中でも大きな比率を占め、加齢との関連が深い Alzheimer 病(AD)の原因究明ならびに治療・予防法開発は、老年精神医学の最重要課題のひとつである。加齢に伴う種々の退行性変化が酸化ストレスと関連することは、多数

の研究によって支持されているが、近年、AD の病態にも酸化ストレスが密接に関連することが示唆されてきた。脳の酸化傷害と AD 初期の認知機能障害発現との関連性が明らかにされれば、今後 AD の治療・予防法を開発する上で意義深い。

2. 研究の目的

本研究では、脳の酸化傷害、とくに神経細胞

内の核酸の酸化傷害に焦点を絞り、
(1) 核酸の酸化傷害レベルの正常加齢における変化
(2) 核酸の酸化傷害レベルと AD 初期の認知機能障害発現との関連性
以上の2点についてについて解明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では材料として以下の剖検脳を用いた(山梨大学医学部倫理委員会承認 524 号)。

(1) 実験 1

認知症がない 0.3~86 歳の対照例の海馬支脚 (27 例) および側頭葉皮質 (38 例)

(2) 実験 2

- ① preclinical AD 群 (AD に合致する病理変化はあるが、Clinical Dementia Rating (CDR) スコア 0 の認知機能正常例)
- ② 最軽度群 (AD 病理変化があり、CDR スコア 0.5 の軽度認知障害例)
- ③ 軽度 AD 群 (AD 病理変化があり、CDR スコア 1 の軽度認知症例)
- ④ 年齢を一致させた対照群

以上 4 群 (各群 4~6 例) の側頭葉皮質および小脳皮質

以上の各群の剖検脳組織切片上で核酸の酸化傷害の指標である 8-hydroxyguanosine を免疫細胞化学的に検出し、画像解析による免疫反応強度の半定量的解析を行った。また、ヌクレアーゼ前処理による免疫反応性の変化も検討した。

4. 研究成果

(1) 実験 1

海馬支脚および側頭葉皮質錐体細胞内の核酸酸化傷害レベルは、認知症のない対照例 (0.3~86 歳) において加齢に伴って増加していた (海馬支脚, $r=0.55$, $p<0.01$; 側頭葉皮質 $r=0.47$ $p<0.01$)。また、ヌクレアーゼ前処理による検討によって、酸化される核酸は主として RNA であることが明らかになった。なお、核酸酸化傷害レベルは死後経過時間や死因とは有意な関連性がなかった。

(2) 実験 2

側頭葉皮質の錐体細胞内の核酸酸化傷害レベルは、preclinical AD 群では対照群と有意差がなかったが、最軽度 AD 群および軽度 AD 群では対照群に比べて有意な増加が認められた (ANOVA with post hoc,

最軽度 AD 群 vs. 対照群 $p<0.01$; 最軽度 AD 群 vs. preclinical AD 群 $p<0.01$; 軽度 AD 群 vs. 対照群 $p<0.05$; 軽度 AD 群 vs. preclinical AD 群 $p<0.05$)。一方、小脳プルキンエ細胞内の核酸酸化傷害レベルは、4 群間に差がなかった。

以上のことから、脳の酸化傷害が AD 初期における認知機能障害発現と密接に関連していることが示唆された。今後 AD の早期治療法や予防法を開発する上で、酸化ストレスは重要な標的の一つであると考えられる。

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)

[雑誌論文] (計 18 件) すべて査読有

- ① Nunomura A, Tamaoki T, Tanaka K (他 9 名、1 番目). Intra-neuronal amyloid β accumulation and oxidative damage to nucleic acids in Alzheimer disease. *Neurobiol Dis* 37:731-737, 2010
- ② Nakamura M, Shishido N, Nunomura A (他 4 名、3 番目). Specific reaction of Met 35 in amyloid β peptide with hypochlorous acid. *Free Radic Res* 44:734-741, 2010
- ③ Smith MA, Zhu X, Nunomura A (他 10 名、12 番目). Increased iron and free radical generation in preclinical Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis* 19:363-372, 2010
- ④ Bonda DJ, Wang X, Nunomura A (他 4 名、4 番目). Oxidative stress in Alzheimer disease: a possibility for prevention. *Neuropharmacology* 59:290-294, 2010
- ⑤ Lee HP, Zhu X, Nunomura A (他 5 名、5 番目). Antioxidant approaches for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother* 10:1201-1208, 2010
- ⑥ Moreira PI, Sayre LM, Nunomura A (他 3 名、4 番目). Detection and localization of markers of oxidative stress by *in situ* methods: application in the study of Alzheimer disease. *Methods Mol Biol* 610:419-434, 2010
- ⑦ Moreira PI, Zhu X, Nunomura A (他 5 名、5 番目). Mitochondria: a therapeutic target in neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* 1802:212-220,

2010

- ⑧ Nunomura A, Hofer T, Moreira PI (他 3 名、1 番目). RNA oxidation in Alzheimer disease and related neurodegenerative disorders. *Acta Neuropathol* 118:151-166, 2009
- ⑨ Lee HG, Casadesus G, Nunomura A (他 7 名、3 番目). The neuronal expression of MYC causes a neurodegeneration phenotype in a novel transgenic mouse. *Am J Pathol* 174:891-897, 2009
- ⑩ Castellani RJ, Lee HG, Nunomura A (他 6 名、4 番目). Reexamining Alzheimer's disease: evidence for a protective role for amyloid- β protein precursor and amyloid- β . *J Alzheimers Dis* 18:447-452, 2009
- ⑪ Friedlich AL, Smith MA, Nunomura A (他 4 名、5 番目). Oxidative stress in Parkinson's disease. *Open Pathol J* 3:38-42, 2009
- ⑫ Perry G, Moreira PI, Nunomura A (他 3 名、4 番目). Natural oxidant balance in Parkinson disease. *Arch Neurol* 66:1445, 2009
- ⑬ Friedlich AL, Rolston RK, Nunomura A (他 7 名、6 番目). Treatment advances in Alzheimer's disease based on the oxidative stress model. *F1000 Med Rep* 1: 5 pages (online), 2009
- ⑭ Nunomura A, Smith MA, Perry G. RNA oxidation in neurodegenerative diseases: sublethal damage as a mechanism for chronic degeneration. *Yamanashi Med J* 23:75-95, 2008
- ⑮ Moreira PI, Nunomura A, Nakamura M (他 5 名、2 番目). Nucleic acid oxidation in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med* 44:1493-1505, 2008
- ⑯ Castellani RJ, Nunomura A, Lee HG (他 2 名、2 番目). Phosphorylated tau: toxic, protective, or none of the above. *J Alzheimers Dis* 14:377-383, 2008
- ⑰ Su B, Wang X, Nunomura A (他 5 名、3 番目). Oxidative stress signaling in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 5:525-532, 2008
- ⑱ Aliev G, Obrenovich ME, Nunomura A (他 6 名、6 番目). Antioxidant therapy in Alzheimer's disease: theory and practice. *Mini Rev Med Chem* 8:1395-1406, 2008

[学会発表] (計 10 件)

- ① Blair JA, et al.

Intracellular amyloid- β is a consistent feature of hippocampal neurons and unrelated to age or Alzheimer disease. Microscopy Society of Northeastern Ohio Fall Meeting 2010, 平成 22 年 11 月 4 日, Akron, USA

- ② Castellani RJ, et al. Alzheimer disease neuropathology is pathognomonic but not pathogenic. The 4th World Congress on Controversies in Neurology (CONy), 平成 22 年 10 月 28-31 日, Barcelona, Spain
- ③ 布村明彦. アルツハイマー病とパーキンソン病における酸化ストレスの役割. J-CAN 2010 (Japanese Consortium for Age-related Neurodegenerative Disorders), 平成 22 年 8 月 28 日, 東京
- ④ 布村明彦. 酸化ストレスと神経ホルミシスの観点から見た認知症予防. 第 16 回日本未病システム学会, 平成 21 年 10 月 31 日, 大阪
- ⑤ 宍戸直美ら. アミロイドペプチドと次亜塩素酸およびタウリンクロロミンとの反応. 第 82 回日本生化学会, 平成 21 年 10 月 21 日-24 日, 神戸
- ⑥ Smith M.A., et al. Pleuripotent treatments for pleuripotent mechanisms in Alzheimer disease: lessons from nature. 22nd Biennial Meeting of the International Society for Neurochemistry /Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 平成 21 年 8 月 23~28 日, Busan, South Korea
- ⑦ 布村明彦. 酸化ストレス制御と神経ホルミシス: 認知症予防のストラテジー. 第 24 回日本老年精神医学会, 平成 21 年 6 月 19 日, 横浜
- ⑧ 布村明彦. アンチエイジングと認知症予防 —酸化ストレス研究からの展望—. 第 9 回日本抗加齢医学会, 平成 21 年 5 月 28 日, 東京

- ⑨ Nakamura M., et al. Specific reaction of Met 35 in amyloid beta peptide with hypochlorous acid. 6th International Human Peroxidase Meeting, 平成 21 年 4 月 19~22 日, Chapel Hill, North Carolina, USA
- ⑩ 布村明彦. 酸化ストレスと神経ホルミシス: 認知症予防のキーワード. 第 31 回日本神経科学大会 Neuroscience 2008, 平成 20 年 7 月 11 日, 東京

In: Advances in Alzheimer's and Parkinson's Disease: Insights, Progress, and Perspectives, Fisher A, Memo M, Stocchi F, Hanin I (Eds) Springer, New York, NY, 133-148, 2008

- ⑥ 布村明彦. 老化とその制御. 老化はなぜ起こるか. 酸化ストレスと老化. In: 老年医学の基礎と臨床 I, 大内尉義(編), 浦上克哉(監) ワールドプランニング, 東京, 21-27, 2008

[図書] (計 6 件)

- ① Lee HP, Rolston RK, Nunomura A (他 7 名、6 番目). Targetting oxidative mechanisms in Alzheimer disease. In: Emerging Drugs and Targets for Alzheimer's Disease. Vol. 2, Martinez A (Ed) RSC Publishing, London, 97-107, 2010
- ② Stone JG, Nunomura A, Hayashi T (他 5 名、2 番目). Iron-mediated neurotoxicity in Alzheimer disease: causes, consequences, and future therapeutic directions. In: Metals and Neurodegeneration. Huang S (Ed) Research Signpost, Kerala, India, 83-100, 2010
- ③ Nunomura A, Takeda A, Moreira PI (他 5 名、1 番目). Neurofibrillary tangle formation as a protective response to oxidative stress in Alzheimer's disease In: Current Hypotheses and Research Milestones in Alzheimer's Disease, Maccioni RB, Perry G (Eds) Springer Science, New York, NY, 103-113, 2009
- ④ 布村明彦. アルツハイマー病と酸素ストレス. In: からだと酸素の事典, 酸素ダイナミクス研究会(編集責任者: 田村守)(編) 朝倉書店, 東京, 411-413, 2009
- ⑤ Nunomura A, Moreira PI, Zhu X (他 3 名、1 番目). The role of oxidative insult and neuronal survival in chronic neurodegenerative diseases.

[その他]

ホームページ

http://erdb.yamanashi.ac.jp/rdb/A_DisplayInfo.Scholar?ID=7A340E6805978836

6. 研究組織

(1) 研究代表者

布村 明彦 (NUNOMURA AKIHIKO)
山梨大学・大学院医学工学総合研究部・准教授
研究者番号: 60241436

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし