

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 1 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26500006

研究課題名(和文)アルツハイマー病病態に基づく発症予防法の解明

研究課題名(英文)Analysis of prevention of Alzheimer's disease based on underlying pathology

研究代表者

中川 敏幸 (Nakagawa, Toshiyuki)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00271502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、アルツハイマー病(AD)モデルマウス(APP23)を用い、記憶・学習障害に対するケルセチンの作用機序を明らかにする。さらに、ケルセチン高含有玉葱粉末を用いた介入試験を発症早期のAD患者に実施する。それにより、発症予防法の確立に重要な病態機序の解明を到達目標とする。APP23マウスにケルセチンを含む餌を与え、ケルセチン摂取によりAPP23マウスの記憶障害の進行が遅延すること、また、脳内GADD34タンパク質の発現の上昇を確認した。さらに、発症早期のAD患者の介入試験にて、ケルセチン高含有玉葱の摂取において改訂長谷川式簡易知能評価スケールの想起に関する評価項目の改善を確認した。

研究成果の概要(英文)：Purpose of this study is to explore the action of quercetin and its target gene GADD34 for amyloid-beta production and impairment of learning and memory in Alzheimer's disease (AD) model mice APP23. In addition, pilot study of intervention trial of quercetin high content onion to early stage AD patients was carried out. In this study, deterioration of memory impairment was delayed in AD mice feeding quercetin-containing food compared with AD mice feeding control food. The levels of GADD34 in the brains of AD mice feeding quercetin-containing food were higher than those of AD mice feeding control food. In addition, score of recall using HDS-R in early stage AD patients was significantly improved. These results suggest that quercetin may be promising functional food molecule to prevent memory impairment.

研究分野：神経内科

キーワード：小胞体ストレス フラボノイド 認知症 記憶 想起

1. 研究開始当初の背景

国内の認知症の患者数は、462 万人 (68% はアルツハイマー病、厚生労働省 2012) と急増していることから、アルツハイマー病の病態解明と新たな治療・予防法の開発は急務である。

従来の治療法に関する研究は、アミロイド- β 及びその産生酵素を対象とした創薬である。しかし、これら新規薬剤の臨床試験では、以下に示す毒性の問題が指摘されている。

- セクレターゼ阻害剤: Notch シグナルに関連した胃腸障害
- アミロイド- β 免疫療法: 脳髄膜炎、浮腫

一方、研究代表者は、アルツハイマー病の危険因子 (加齢、糖尿病、肥満) に関連する小胞体ストレスシグナルとアミロイド- β 産生との関連性を明らかにしてきた。また、この仮説を支持する報告として、アルツハイマー病剖検脳において、eIF2 のリン酸化 (小胞体ストレスシグナルの活性化) が明らかになった。本研究では、小胞体ストレスシグナルを制御する食品成分とその標的分子を中心に、毒性のないアミロイド- β 産生抑制作用を解明するという点で、従来の研究とは全く異なる位置づけとなる。

2. 研究の目的

本研究は、先行知見 (小胞体ストレスにより発現誘導された転写因子 ATF4 がアミロイド- β 産生を促進する [培養細胞] 機能性食品成分 [ケルセチン] は GADD34 の発現を誘導することにより ATF4 の発現を減少させ、アミロイド- β 産生を抑制する、ケルセチンが正常加齢マウスの記憶・学習を改善する) に基づき、アルツハイマー病モデルマウスを用い、脳内アミロイド- β 産生と記憶・学習障害に対するケルセチン及びその標的タンパク質 GADD34 の作用機序を明らかにする。さらに、ケルセチン高含有玉葱粉末を用いた介入試験を発症早期のアルツハイマー病患者に実施する。それにより、発症予防法の確立に重要な病態機序の解明を到達目標とする。

3. 研究の方法

(1) アルツハイマー病モデル (APP23) マウスに 0.5% のケルセチンを含む餌を長期間に与え、行動解析 (恐怖条件付け学習試験: 電気刺激と環境および音の条件付け) と脳内タンパク質の変動を検討した。

(2) ケルセチン高含有玉葱粉末の連日摂取による発症早期のアルツハイマー病患者の認知記憶障害の変化を検討した。

4. 研究成果

(1) APP23 マウス接種に必要なレンチウイルスを作成した。また、マウス神経初代培養細胞を用いて感染性と機能性を確認した。

(2) APP23 マウスにケルセチンを含む餌を

与え、行動解析とケルセチン摂取による脳内のタンパク質の変化を解析し、ケルセチン摂取により APP23 マウスの記憶障害の進行が遅延すること (図 1) また 脳内 GADD34 タンパク質発現の上昇 (図 2) を確認した。

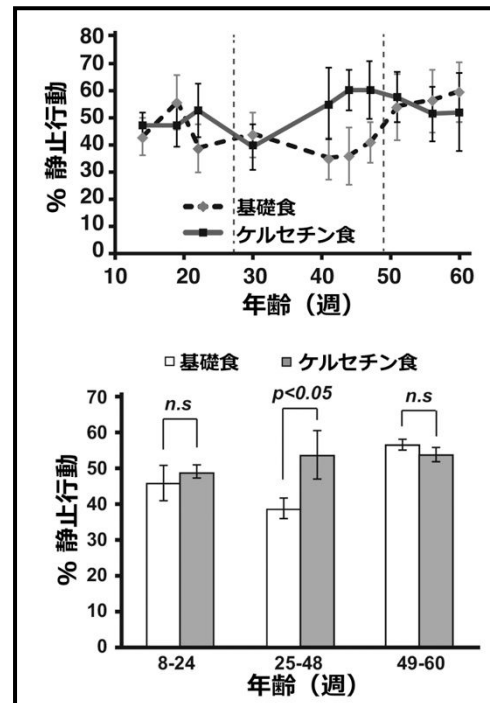


図 1 アルツハイマー病モデルマウス (APP23) ケルセチン摂取による認知記憶機能変化: アミロイド β の沈着が始まる生後 6 ヶ月から 1 年までの期間の認知記憶障害の遅延が観察される。

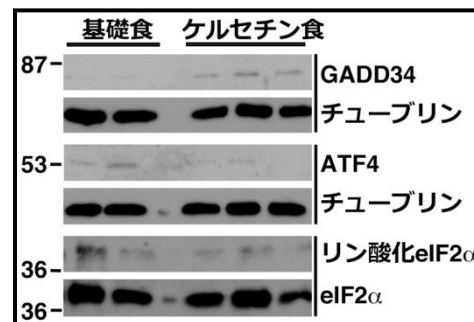


図 2 ケルセチン長期摂取後の脳内 GADD34 と ATF4 タンパク質の変化: ケルセチン摂取により、脳内 eIF2 脱リン酸化を促進する GADD34 の発現増加と転写因子 ATF4 の低下を認めた。

(3) APP23 マウスと肥満マウス (Lepr^{db/db}) を交配し、肥満を伴うアルツハイマーモデルマウスを作成した。このマウス脳内のタンパク質の変化を解析し、APP23 マウスに比べ早期に脳内 ATF4 タンパク質発現の上昇していることを確認した。

(4) APP23 マウスにケルセチンを含む餌を与え、記憶に関する行動解析 (恐怖条件付け学習試験: 電気刺激と環境および音の条件付け) を実施した。ケルセチン摂取により、記憶の再生 (想起) の改善を確認した。

(5) 発症早期のアルツハイマー病患者にケルセチン高含有玉葱を摂取する介入試験を実施した。ケルセチン含まないコントロール玉葱に比べ、ケルセチン高含有玉葱の摂取において改訂 長谷川式簡易知能評価スケール (HDS-R) の想起に関する評価項目 (3つの言葉; 5つの物品; 野菜の名前) の改善を確認した。摂食1年後の脳血流シンチ (SPECT) において、血流低下の領域の拡大を認めなが、HDS-R の有意な低下を認めなかった (図3)。これらの成果は、機能性食品成分によるアルツハイマー病の認知機能低下に対する予防法の確立、さらに、記憶の再生障害による行動・心理症状 (BPSD) への適切な対応に繋がると考えられる。

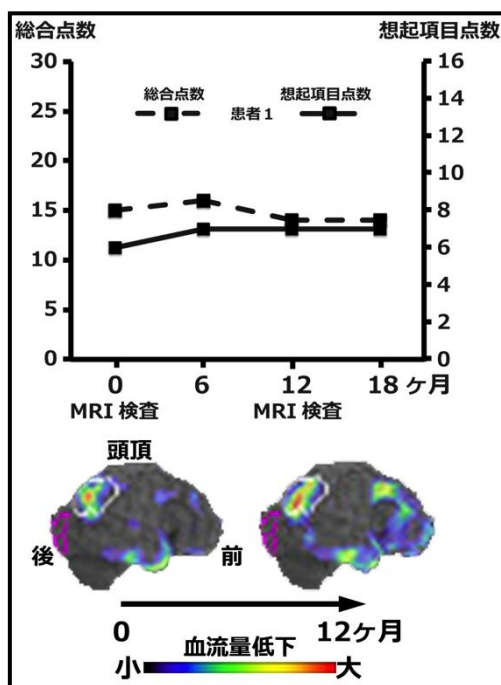


図3 改訂 長谷川式簡易知能評価スケールの変化 (上图) と玉葱粉末摂取前と摂取1年後脳血流シンチ (下图) を示す。

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4件)

1. Toshiyuki Nakagawa, Masanori Itoh, Kazunori Ohta, Yuichi Hayashi, Miki Hayakawa, Yasushi Yamada, Hiroshi Akanabe, Tokio Chikaishi, Kiyomi Nakagawa, Yoshinori Itoh, Takato Muro, Daisuke Yanagida, Ryo Nakabayashi, Tetsuya Mori, Kazuki Saito, Kaori Ohzawa, Chihiro Suzuki, Shimo Li, Masashi Ueda, Miao-xing Wang, Emika Nishida, Saiful Islam, Tana, Masuko Kobori, Takashi Inuzuka. Improvement of memory recall by quercetin in rodent contextual fear conditioning and human early-stage Alzheimer's disease patients. NeuroReport. 27: 671-676, 2016. 査読有, DOI: 10.1097/WNR.0000000000000594
2. Masashi Ueda, Shimo Li, Masanori Itoh, Miao-xing Wang, Miki Hayakawa, Saiful Islam, Tana, Kiyomi Nakagawa, Huayue Chen, Toshiyuki Nakagawa. Expanded polyglutamine embedded in the endoplasmic reticulum causes membrane distortion and coincides with Bax insertion. Biochem Biophys Res Commun. 474: 259-263, 2016. 査読有, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.04.034>
3. Miao-xing Wang, Masanori Itoh, Shimo Li, Yoko Hida, Kazunori Ohta, Miki Hayakawa, Emika Nishida, Masashi Ueda, Saiful Islam, Tana, Toshiyuki Nakagawa. CED-4 is an mRNA-binding protein that delivers ced-3 mRNA to ribosomes. Biochem Biophys Res Commun. 474: 259-263, 2016. 査読有, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.12.102>
4. Miki Hayakawa, Masanori Itoh, Kazunori Ohta, Shimo Li, Masashi Ueda, Miao-xing Wang, Emika Nishida, Saiful Islam, Chihiro Suzuki, Kaori Ohzawa, Masuko Kobori, Takashi Inuzuka, Toshiyuki Nakagawa. Quercetin reduces eIF2 phosphorylation by GADD34 induction. Neurobiol Aging. 36: 2509-2518, 2015. 査読有, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobi>

olaging.2015.05.006

〔学会発表〕(計5件)

1. 中川敏幸.
記憶の再生と小胞体ストレスシグナル、
第11回小細胞ストレス研究会、2016年
10月10～11日、岐阜大学サテライトキ
ャンパス(岐阜市)
2. Masanori Itoh, Emika Nishida, Saiful
Islam, Shimo Li, Masataka Osawa,
Dongsoo Lee, Huayue Chen, Masashi
Ueda, Miao-xing wang, Miki Hayakawa,
Tana, Gen Ikeno, Koki Ichihashi,
Kazuyuki Okamoto, Jun Tsutsumi,
Toshiyuki Nakagawa.
Motor neurons are impaired in prune2
gene deficient mice.
45th ANNUAL MEETING Neuroscience.
Chicago, USA, Oct 18, 2015.
3. Miki Hayakawa, Masanori Itoh,
Kazunori Ohta, Shimo Li, Masashi Ueda,
Miao-xing Wang, Emika Nishida, Masuko
Kobori, Takashi Inuzuka, Toshiyuki
Nakagawa.
The eIF2 phosphorylation-ATF4
signaling is activated in the brain of
aged and Alzheimer's disease model
mice 44th ANNUAL MEETING Neuroscience.
Washington, DC, USA, Nov 17, 2014.
4. 中川敏幸.
小胞体ストレス制御による記憶・認知機
能改善作用
第12回日本機能性食品医用学会総会、
2014年12月13～14日、国立京都国際
会館(京都市)
5. 早川実希、伊藤正徳、太田和徳、李 詩
沫、上田昌史、王 森星、西田江美香、
中川敏幸
肥満・糖尿病によるアルツハイマー病モ
デルマウスの病態解明
第12回日本機能性食品医用学会総会、
2014年12月13～14日、国立京都国際会館
(京都市)

〔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0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
<http://www1.gifu-u.ac.jp/~neurobio/>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
中川 敏幸 (NAKAGAWA, Toshiyuki)
岐阜大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：00271502