

## 平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

## 1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名	脳科学研究戦略プログラム	
研究開発課題名	革新的技術を活用し、加齢による脳機能低下と異常蛋白蓄積につながる病理過程の上流を追求・解明し、認知症の血液診断マーカーと治療薬を開発する	
機関名	国立大学法人大阪大学	
研究開発 担当者	所属 役職	保健センター 特任教授
	氏名	武田 雅俊

## 2. 研究開発成果の内容

① アミロイド  $\beta$  42 産生機構の解析①-1 血漿中 APL1  $\beta$  のアルツハイマー病との関連

血液中に存在する脳脊髄液由来の微量 APL1  $\beta$  ペプチドを科学的に測定できていることに疑いの余地のない測定法を確立した。

専用の実験部屋を準備し SCIEX 社製 QTRAP6500 型最新 LC/MS/MS を購入設置した。この精密機器を立ち上げ点検保守しながら、過去に国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所で確立した方法で測定を開始した。次いで APL1  $\beta$  各分子種測定の再現性の確認、前処理法の細部を点検し改良することで APL1  $\beta$  測定感度を数倍上昇させた。

①-2 血漿中 APL1  $\beta$  のプレクリニカル・アルツハイマー病との関連

CSF 中の p-tau や CSF 中の A  $\beta$  42 比率といった確立した CSF バイオマーカーと血漿中 APL1  $\beta$  28 比率の間に同様の関連が認められた。つまり、脳脊髄液中での APL1  $\beta$  28 比率は既存の脳脊髄液中バイオマーカーと関連するが、その傾向は血液中 APL1  $\beta$  28 比率でもほぼ保存されるという決定的示唆を得た。重要なことに血漿中の APL1  $\beta$  28 比率は脳脊髄液中の APL1  $\beta$  28 比率と似たような分布を示し、血漿中の APL1  $\beta$  28 比率で脳内でアルツハイマー病の病理過程の進行の程度を推測することができることが示された。

①-3 診断薬としての血液中 APL1  $\beta$  開発

APOE4 検査結果を組み込まない場合、認知機能低下発症年齢と血漿中 APL1  $\beta$  28 比率の間にはほとんど相関が認められなかった。ところが、AD の強いリスクファクターである APOE4 を持つ患者を解析から省いたところ、認知機能低下発症年齢と血漿中 APL1  $\beta$  28 比率の間に相関が認められるようになった ( $R^2=0.23$ )。今後の追跡研究なしには結論は出せないが、20 歳代の若い時代から A  $\beta$  42 産生活性が高い個体が相当の割合で存在し、高率にアルツハイマー病を発症している可能性がある。結論として血漿中の APL1  $\beta$  28 バイオマーカーは脳内アルツハイマー病病理形成を予測できる血液バイオマーカーとして有用であることが強く示唆された。また血漿中 APL1  $\beta$  は現在開発

中の $\gamma$ セクレターゼ阻害剤、 $\gamma$ セクレターゼ修飾薬、 $\beta$ セクレターゼ阻害剤などの薬効評価に有用である可能性がある。製薬各社に被験者血漿中 APL1  $\beta$  測定を行い POM マーカーとしての有用性を検討できるか協力を依頼している。

#### ①-4 診断薬としての APL2 $\beta$ 開発

平成 27 年度は、新たに共同研究施設から得た数十例の CSF 検体中の APL2  $\beta$  35 比率を測定し、さらに解析をすすめ今までの結果、弧発性 AD 群では非 AD 群に比較して APL2  $\beta$  35 比率が下がっていることを再現できた。

#### ①-5 $\gamma$ セクレターゼによる病原性 A $\beta$ 42 産生機構の解析

平成 27 年度、CSF 中に存在する A  $\beta$  分解産物に関する解析データをまとめ論文投稿した。また、今までに国際第 3 相治験で使用された GSI コンパウンドの薬理作用について発見し論文投稿した。

#### ② タウ修飾機構の解析

1) N 末端修飾タウ蛋白とアポトーシス関連蛋白との相互作用解析を目標として研究を進めてきたが、今までの研究からタウ蛋白の N 末端の部分分解がアポトーシス促進に関連していることが明らかになり、さらにタウ蛋白の分解経路の一部には N 末端の部分分解がトリガーになっていることも判明し、N 末端の配列の重要性が明らかとなった。

2) N 末端修飾タウ蛋白のバイオマーカーとしての有用性を検討してきたが、アルツハイマー病と他の認知症疾患との鑑別に有用であると同時に、病態レベルでも値が異なることが分かり、疾患鑑別と度進行度の評価に有効であることが示唆された。

3) アルツハイマー病リスク遺伝子候補の細胞生物学的機能を検討し、神経変性疾患への関与を解析したが、この酵素によるタウ蛋白のリン酸化が亢進することによって、微小管重合能の低下が確認された。しかし、その他のタウの機能への有意な影響は確認できなかった。

#### ③ 脳機能低下に関与する遺伝子群の解析

1) 一連の KLC1 variants の siRNA 機能解析等を計画的に行った。KLC1vE に加え、複雑なスプライシングの鍵となる exon X (未発表) も A  $\beta$  産生に関与していることを強く示唆する結果を得た。

2) 本研究の大きな流れである mouse-to-human translation の一つの出口としてヒトゲノムを多面的かつ計画的に解析した。ヒトの場合、KLC1 領域のゲノム変異では KLC1 vE の発現量やアルツハイマー病理は説明つかないという結論が得られた。逆の見方をするとヒトゲノム解析で発見できない重要遺伝子産物を我々の考案した mouse-to-human translational study では同定できることを示したことになる。

3) 平成 27 年度の血液 mRNA 検体収集目標 (新規 30) は達成できた。新たに収集した検体 (n=63) でアルツハイマー病バイオマーカー開発を進めた。測定用検体は論文発表済みも含めて合計 150 検

体为目标としていた。検体の品質および疾患の偏り等があり合計 117 検体にとどまったが、本質的な目標は達したと考える。

④ プロジェクトの総合的推進および拠点長としての連携・協力・調整

課題 F「脳老化」チームの拠点長として、1 年に 2 回分科会を開催し、活発な討論と意見交換をおこなった。認知症に関する病態メカニズムの理解を深め、認知症に対するバイオマーカー開発、薬剤開発などに向けた踏み込んだ議論をおこなうことができた。

また、通常の業務活動として、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所の朝長氏とは頻りに交流、およびサンプル測定技法に関する詳細な議論を重ねてきた。国立研究開発法人長寿医療研究センターの柳澤氏とも、メールその他の交流において情報交換と協力を行った。また、タウ研究に関しては、井原班（学校法人同志社）の高島氏（国立研究開発法人長寿医療研究センター）、宮坂氏（学校法人同志社）とも情報交換と協力を行った。