

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域： 疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤技術の創出
2. 研究開発課題名： パーキンソン病の代謝産物バイオマーカー創出およびその分子標的機構に基づく創薬シーズ同定
3. 研究開発代表者： 服部信孝（学校法人順天堂 順天堂大学）
4. 研究開発の成果

本研究開発ではパーキンソン病（以下 PD）における、I. 候補代謝産物バイオマーカー探索・同定、II. 候補代謝産物バイオマーカー検証、III. 候補 BM を指標とした創薬シーズ探索、の 3 つのプロジェクトを並行して進めた。以下各項目について述べる。

I. では服部が 2 回の PD 血漿代謝産物の網羅的解析（キャピラリー電気泳動-質量分析器(CE-TOFMS)および液体クロマトグラフィー-質量分析器（LC-TOFMS）による）を、徳田が 1 回の PD 血漿および脳脊髄液代謝産物の網羅的解析（CE-TOFMS による）を行い、PD 特異的な候補代謝産物バイオマーカー（M-BM）の同定を図った。合計 3 回の血漿での検討で同様な変化を呈した化合物を 3 つ同定した。また脳脊髄液代謝産物 profiling は明確に血漿 profiling と異なっていたが、2 種の化合物が血漿・髄液両方で有意な同方向性変化を呈しており疾患分子病態との関連が示唆された。また服部は 2014 年度に PD 血清における caffeine・その代謝産物の低下を報告したが（コントロール 15 例、PD35 例）、同変化をさらに大きなコホート（コントロール 32 例、PD109 例）にて検証し、同様の結果を得た。さらに caffeine の主要分解酵素 CYP1A2 をコードする遺伝子変異を検討したが、コントロール群と比較し PD 群において有意な変化を認めなかった。

II. では高橋・服部らが I で同定した候補 M-BM の妥当性検証に使用する各種動物モデル・細胞モデルの樹立を進め、同モデルの病態解析を行った。具体的には  $\alpha$ -synuclein トランスジェニックマウス・glucocerebrosidase (GBA)ヘテロ変異マウス・GBA 欠損 PD モデルメダカ・遺伝性 PD 患者由来-iPS 細胞と誘導された神経細胞の検討を進めた。またカルニンチは PD22 例・コントロール 10 例における核酸発現プロファイリング解析を施行し、PD において有意な上昇又は低下を示す mRNA を 4 つ同定した。さらに戸田は PD50 例のエクソーム解析を完了し、得られたデータについて、I の血漿代謝産物変化（服部グループのデータ）との関連を検討している。

III. では PD 血清メタボローム解析データ（Hatano et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015）および PD 培養細胞モデルのライセート・培養上清でのメタボローム解析データに基づき、創薬スクリーニングシステムの構築を進めた。井本は Bilirubin をモニタリングするシステムを蛍光色素 UnaG（Bilirubin と結合すると緑色蛍光を発する）を用いて作製し、high throughput 化合物スクリーニングを開始している。また服部はポリアミン代謝の変化（PD 培養細胞モデルにて確認）を化合物スクリーニングに利用できるかを PD 患者血漿で検証したが、spermidine/spermine/putrescine のいずれにも有意な上昇を認めなかった。しかし関連代謝産物として N-acetylputrescine などの上昇を検出したことから同変化を化合物スクリーニングの指標にすべく、現在新たな定量化システムを構築している。