

東京大学  
岡山大学  
科学技術振興機構 (JST)

## 「脳内のアルツハイマー病変を早期検出する血液バイオマーカーの産生機構を解明」

### 1. 発表者：

富田 泰輔（東京大学大学院薬学系研究科 薬学専攻 教授）  
横山 雅シャラ（東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 博士課程）  
松崎 将也（東京大学大学院薬学系研究科 薬学専攻 博士課程（研究当時））  
金子 直樹（島津製作所田中耕一記念質量分析研究所 係長）  
田中 耕一（島津製作所田中耕一記念質量分析研究所 所長／エグゼクティブリサーチフェロー）  
廣畑 聡（岡山大学 学術研究院 保健学域 教授）

### 2. 発表のポイント：

- ◆血液による脳内アルツハイマー病変の診断技術に用いられているバイオマーカー分子 APP669-711 の産生機構については一切不明でした。
- ◆ADAMTS4 と呼ばれるプロテアーゼが APP669-711 の産生に関わっていることを世界で初めて明らかにしました。
- ◆脳内の病変がどのように血液中の APP669-711 およびアミロイド  $\beta$  関連ペプチドの存在量に影響を与えるかが解明され、更に正確にアルツハイマー病を診断、予測できる技術開発に貢献すると考えられます。

### 3. 発表概要：

東京大学大学院薬学系研究科の富田泰輔教授、横山雅シャラ大学院生、松崎将也大学院生（研究当時）、島津製作所の金子直樹係長、田中耕一エグゼクティブリサーチフェロー、岡山大学学術研究院保健学域の廣畑聡教授が、アルツハイマー病の血液診断法に用いられるバイオマーカー分子（注1）APP669-711 の産生に関わるプロテアーゼ（注2）として ADAMTS4 を同定しました。

現在、アルツハイマー病の予防や治療にあたっては早期から介入することが必要であると理解され、脳内の病変を簡便かつ正確に診断する技術の開発が求められています。APP669-711 は血液バイオマーカー分子として 2014 年に同定された新しいペプチドですが、どのように産生されるのかについては一切不明でした。研究グループは培養細胞や動物モデルを用いて ADAMTS4 と呼ばれるメタロプロテアーゼが APP669-711 の産生に関わっていることや、APP669-711 もまた脳内に蓄積していることを明らかにしました。これらの発見は血液中の APP669-711 を利用した脳内病変診断技術が更に正確になることや、ADAMTS4 を標的とした新しいアルツハイマー病診断・治療法の開発に繋がる可能性があります。

本研究成果は、日本時間 2 月 1 日午前 10 時（英国標準時間 2 月 1 日午前 1 時）に米国科学誌「Molecular Psychiatry」のオンライン版に掲載されました。

#### 4. 発表内容：

##### <研究の背景>

超高齢化社会を迎え、認知症は大きな社会問題となっています。そのため、認知症の原因疾患として最も患者数が多いアルツハイマー病の予防・診断・治療法の開発が強く求められています。これまでに様々な研究から、アルツハイマー病の発症過程として、まず神経細胞の外側で「アミロイド  $\beta$  (注3)」と呼ばれるタンパク質が老人斑として凝集し、引き続いて神経細胞の中で「タウ」と呼ばれるタンパク質が神経原線維変化(注4)となり、神経細胞が死んでいくプロセスが考えられています。またアミロイド  $\beta$  に対する創薬研究が進められ、実用化が近づいています。

一方、脳内でのアミロイド  $\beta$  やタウの蓄積は認知症症状が現れるよりかなり前から始まっており、治療薬の投与も早期から始めることが重要であると考えられていることから、簡便かつ正確に脳内病変を検出、診断する技術の開発が求められていました。そこで島津製作所では国立研究開発法人国立長寿医療研究センターと共同し、高性能な質量分析装置(注5)を用いてヒトの血液数滴から脳内アミロイド  $\beta$  の蓄積量を推定するのに有効なバイオマーカーとして、APP669-711 とアミロイド  $\beta$  の存在比が有用である可能性を2014年に報告し、2018年に本邦のみならず海外の血液サンプルを用いて診断できることを報告しました(図1)(注6)。しかし APP669-711 はこの技術開発で見出された新たなペプチドであり、どこでどのように産生され血液中に出てくるのか、またアルツハイマー病病態にどのように関わるのかについては全く不明でした。

##### <研究内容>

アミロイド  $\beta$  は前駆体タンパク質である APP(注7)が  $\beta$  セクレターゼ、 $\gamma$  セクレターゼと呼ばれる2つの膜結合型プロテアーゼによる切断を受け、放出されます。APP669-711 はアミロイド  $\beta$  より3アミノ酸N末側が長い分子です。研究グループは、APP669-711 は  $\beta$  セクレターゼ以外のプロテアーゼが APP の 669 番目のアミノ酸である「APP669 位」で切断した後に  $\gamma$  セクレターゼが切断し、産生されるのではないかと考えました。そこで質量分析装置を用いて解析し、ヒトやマウスの培養細胞を用いて様々な細胞から APP669-711 が産生されていることや、C末側については実際に  $\gamma$  セクレターゼが関与していることを明らかにしました。

次に APP669-711 の N 末側の切断を行うプロテアーゼを探索するため、APP669 位近辺のアミノ酸配列を用いたデータベース解析や、様々な阻害剤処理に加え、複数の候補プロテアーゼの過剰発現や遺伝子ノックアウトを行い検討しました。最終的に、APP669-711 の N 末端側である APP669 位は ADAMTS4 と呼ばれる分泌型プロテアーゼによって切断されていることを明らかにしました。また酵素学的な解析により ADAMTS4 が直接 APP を切断していることも確認しました(図2)。

ゲノムワイド関連解析(注8)から ADAMTS4 はアルツハイマー病の発症リスクに関わる遺伝子としても報告されていますが、APP669-711 との関連については一切知られていませんでした。そこで研究グループはマウス血液中の APP669-711 およびアミロイド  $\beta$  関連ペプチドの検出技術を新たに開発し、実際に ADAMTS4 ノックアウトマウスの血液では APP669-711 量が減少していることを確認しました(図2)。またアルツハイマー病モデルマウス(APP/PS1)(注9)を用いてマウス血液中における APP669-711 とアミロイド  $\beta$  存在比が脳内アミロイド  $\beta$  蓄積に

応じて変化することや、APP669-711 も脳内に存在し、アミロイド  $\beta$  と一緒に蓄積していることを見出しました (図 3)。

#### <社会的意義と今後の予定>

これらの研究成果は、血液を用いたアルツハイマー病診断技術を支えるバイオマーカー分子 APP669-711 の体内動態の解明に繋がり、今後更に正確に血液による早期診断や病態進行の予測が可能となることが期待されます。また APP669-711 の病的意義の解明はアルツハイマー病発症リスク遺伝子としての ADAMTS4 の理解から、脳 - 血流 - 末梢臓器ネットワークの理解に基づき未病状態で発症リスクを予見し、画期的な予防・治療法の開発に繋がる可能性もあります。

#### <謝辞>

本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 「ムーンショット型研究開発事業 (JPMJMS2024)」、日本学術振興会科学研究費助成事業「基盤研究 (A) (15H02492、17H04313、19H01015、20H00548)」、日本学術振興会特別研究員事業 (22J14778)、日本医療研究開発機構 (AMED) 「脳とこころの研究推進プログラム (革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト (JP19dm0207073))」、Ban 平井 (大越) 貞子基金 研究奨励賞、島津製作所の支援により実施されました。

ムーンショット型研究開発事業では、脳と全身臓器ネットワークの機能とその破綻を分子・細胞・個体レベルで解明し、認知症関連疾患の超早期の発症予測法と予防法を開発し、先制医療を享受できる社会の実現を目指します。本研究成果は血液を用いたアルツハイマー病の超早期診断や進行予測技術の開発を精緻化し、適切な時期に先制医療を開始できることに繋がる可能性があります。

#### ・プロジェクトマネージャー 高橋良輔教授のコメント

本研究開発プロジェクトでは認知症を発症前に予測し、予防可能とすることを目指しています。本研究は本邦において開発された、アルツハイマー病の脳内病変を発症前に検出できる血液中コンポジットバイオマーカーを構成する新規分子 APP669-711 の産生機構を明らかにしました。この成果は本研究開発プロジェクトを通じたアルツハイマー病の予防へ向けて、正確な発症リスク診断や進行予測を可能とし、適切なタイミングで先制医療が行える可能性を示す重要な研究であると考えています。

#### 5. 発表雑誌:

雑誌名: 「Molecular Psychiatry」 (オンライン版: 2月1日)

論文タイトル: ADAMTS4 is involved in the production of the Alzheimer disease amyloid biomarker APP669-711

著者: Masaya Matsuzaki, Miyabishara Yokoyama, Yota Yoshizawa, Naoki Kaneko, Hiroki Naito, Honoka Kobayashi, Akihito Korenaga, Sadanori Sekiya, Kentaro Ikemura, Gabriel Opoku, Satoshi Hirohata, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka, and Taisuke Tomita\*

DOI 番号: 10.1038/s41380-023-01946-y

アブストラクト URL: <https://www.nature.com/articles/s41380-023-01946-y>

## 6. 問い合わせ先：

<研究に関するお問い合わせ>

東京大学大学院薬学系研究科 機能病態学教室

教授 富田 泰輔 (とみた たいすけ)

E-mail : taisuke@mol.f.u-tokyo.ac.jp

研究室 URL : <https://neuropsch.f.u-tokyo.ac.jp/>

<報道に関するお問い合わせ>

東京大学大学院薬学系研究科 庶務チーム

E-mail : shomu@mol.f.u-tokyo.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

E-mail : jstkohe@jst.go.jp

<JST 事業に関するお問い合わせ>

科学技術振興機構 ムーンショット型研究開発事業部

犬飼 孔 (いぬかい こう)

E-mail : moonshot-info@jst.go.jp

## 7. 用語解説：

(注1) バイオマーカー分子

疾患の有無や、進行状態を示す目安となる生理学的指標の分子のこと。治療効果や診断、疾患予防効果の指標として用いる。

(注2) プロテアーゼ

タンパク質を構成するアミノ酸をつないでいるペプチド結合において加水分解を起こし、切断する酵素。活性中心の種類によって更に分類される。特に切断活性に金属イオンを必要とするものをメタロプロテアーゼと呼ぶ。

(注3) アミロイドβ

40 アミノ酸前後からなるペプチド。アルツハイマー病患者脳に特異的に観察される病理構造物である老人斑の主要構成成分として同定された。

(注4) 神経原線維変化

アルツハイマー病患者脳に認められる特徴的な病理像の一つ。その主要構成成分は、脳に主に発現する分子量約5万の微小管結合タンパク質であるタウが過剰リン酸化、異常凝集したもの。

(注5) 質量分析装置

レーザー光線を当ててイオン化した分子の重さを調べる装置。共著者の田中耕一らによってタンパク質を壊さないでイオン化する技術の開発に成功したことから、質量分析によるタンパク質の解析が可能となった。



マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計「AXIMA Performance」

(注6) 血液診断に関する原著論文

Novel plasma biomarker surrogating cerebral amyloid deposition.

Kaneko N, Nakamura A, Washimi Y, Kato T, Sakurai T, Arahata Y, Bundo M, Takeda A, Niida S, Ito K, Toba K, Tanaka K, Yanagisawa K.

Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2014;90(9):353-364.

High performance plasma amyloid- $\beta$  biomarkers for Alzheimer's disease.

Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, Kato T, Doecke J, Doré V, Fowler C, Li QX, Martins R, Rowe C, Tomita T, Matsuzaki K, Ishii K, Ishii K, Arahata Y, Iwamoto S, Ito K, Tanaka K, Masters CL, Yanagisawa K.

Nature. 2018 Feb 8;554(7691):249-254.

(注7) APP

アミロイド $\beta$ の配列を含む一回膜貫通型タンパク質。 $\beta$ セクレターゼ、 $\gamma$ セクレターゼと呼ばれる2つのプロテアーゼによって連続的に切断されることにより、アミロイド $\beta$ が産生、分泌される。

(注8) ゲノムワイド関連解析

特定の病気や体質の特徴などに関連する遺伝的な特徴を見つけ出すため、多数の人々のゲノム情報を集めて網羅的に解析し、一塩基レベルでのゲノムのわずかな違いと病気や体質の関係を明らかにする。

(注9) アルツハイマー病モデルマウス APP/PS1

家族性アルツハイマー病に連鎖する遺伝子変異を含むヒトAPPと、家族性アルツハイマー病変異に連鎖する遺伝子変異を含む別の原因遺伝子ヒトPS1を、同時に過剰発現するトランスジェニックマウス。6ヶ月齢からアミロイド $\beta$ の脳内蓄積が認められはじめ、10~12ヶ月齢で広範にわたって蓄積が観察される。一方、高齢となってもタウの蓄積は認められない。

8. 添付資料：

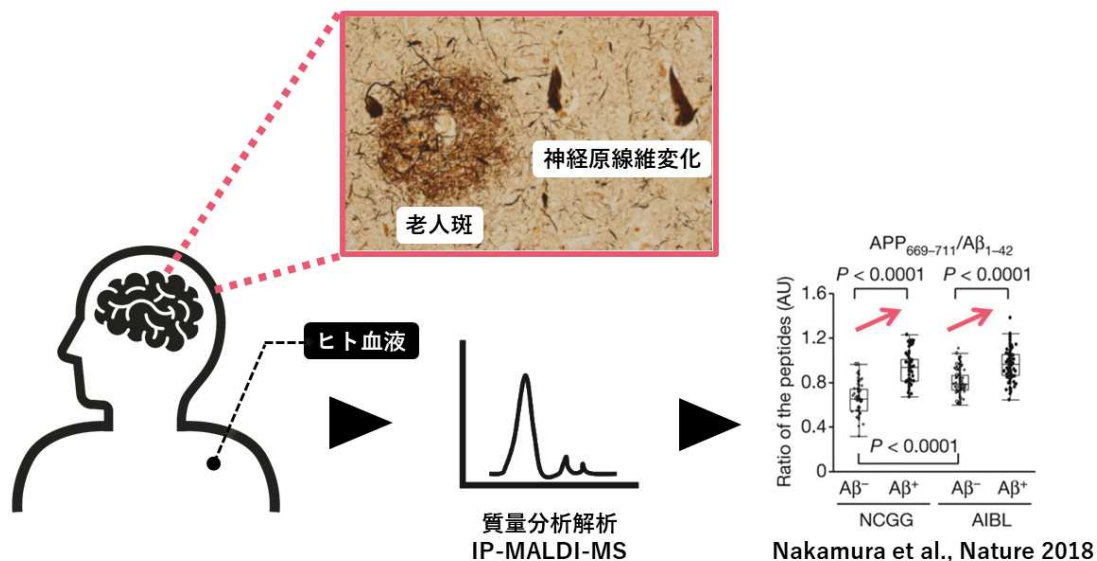


図1：高性能質量分析技術による血液を用いた脳内老人斑蓄積診断技術  
アルツハイマー病患者脳に特徴的な病理像である老人斑と神経原線維変化は認知機能低下前から出現する。高性能な質量分析解析技術の開発により、血液を用いてAPP669-711とアミロイドβの量を測定することで老人斑の有無を見分けることができるようになった。

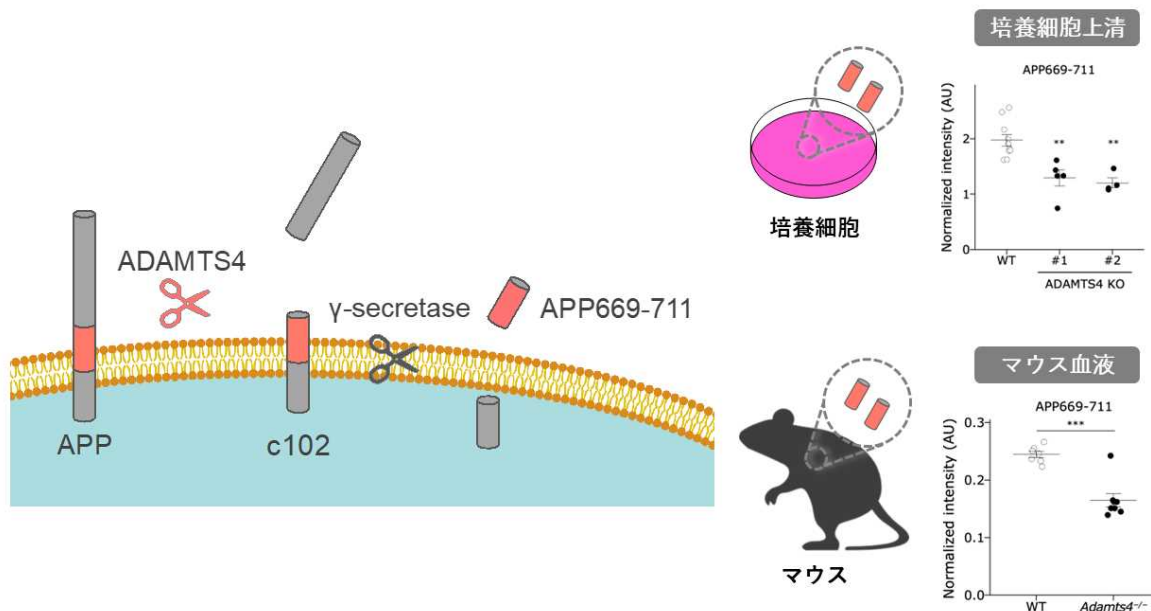


図2：遺伝子欠損（ノックアウト）を用いたAPP669-711産生に対するADAMTS4の影響  
様々な解析からAPP669-711の産生メカニズムとして、APPがADAMTS4、γセクレターゼによって切断を受けて分泌されることを見出した。ADAMTS4を欠損した細胞やマウスでは、APP669-711の量が約4割低下する。



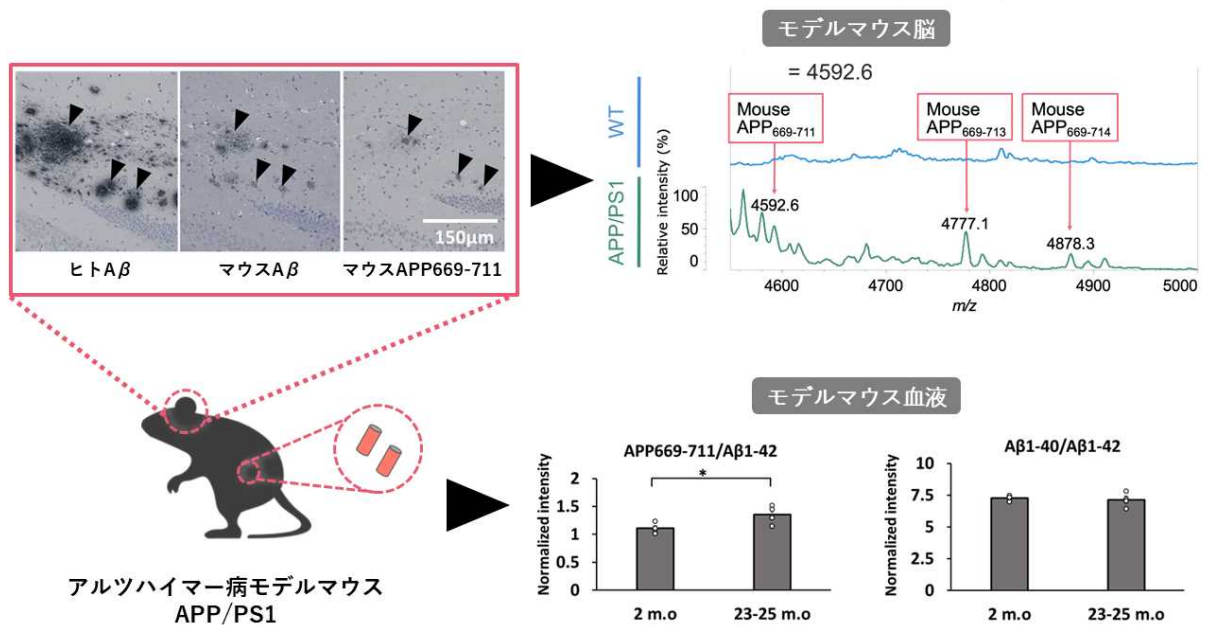


図 3 : アルツハイマー病モデルマウス APP/PS1 における APP669-711 および関連ペプチドの脳内蓄積および血液中の変動

アルツハイマー病モデルマウス APP/PS1 の脳内に APP669-711 がアミロイド β と共に蓄積していること、またモデルマウス血液中の APP669-711 とアミロイド β の量を測定することで脳内アミロイド β 蓄積を診断できることを明らかにした。