

老年期認知症の画期的予防・治療法の開発研究

研究期間 平成17年度～平成21年度(予定)

研究体制

総括 柳澤 勝彦[国立長寿医療センター]

※平成21年度における研究体制

認知症の病態解明と薬剤開発研究で前進

Project
KeyWord

認知症

人口の高齢化とともに、認知症の患者数は増加し、医学・医療にとどまらず、大きな社会問題になっています。高齢者の5%が認知症に罹患しており、その半数がアルツハイマー病で、次いで血管性認知症の順となっています。

アルツハイマー病

アルツハイマー病は認知症の代表的な疾患ですが、その発症機序には不明の点が多く残されています。脳にはアミロイドという異常な蛋白質の凝集体が生じており、これを抑制することが治療上最も確実な方法と考えられています。

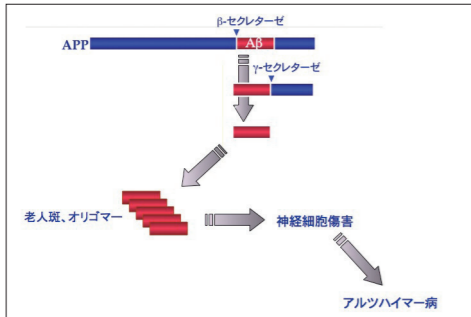
血管性認知症

血管性認知症は、高血圧、高脂血症、糖尿病といった生活習慣病がその原因である場合が多く、これらの早期発見と早期治療が大切です。脳の動脈硬化の起き方や虚血性神経細胞障害の分子機構の解明が今後の重要な課題です。

1 研究の背景・意義

アミロイドカスケードの病的意義

アルツハイマー病の脳の中なかでは、アミロイドβ蛋白(以下、Aβ)と呼ばれる小さな蛋白が、その前駆体蛋白(APPと呼ばれています)から生理的な代謝によって切断され、細胞の外側に排出され、何らかの理由により凝集しアミロイド(老人斑と呼ばれる200ミクロン程の斑状の構造物)になったり、老人斑よりは小さな固まり(オリゴマーと呼ばれます)になったりして、神経細胞を直接的あるいは間接的に傷害しています。Aβの産生、凝集、そして神経細胞傷害までの一連の過程はアミロイドカスケードと呼ばれ、その進行を阻止することが、アルツハイマー病の予防と治療において最も重要であり本質的であると考えられています。Aβの産生に関しては、それに関わる酵素(セクレターゼ)が解明されており、その活性に関わる様々な神経細胞内の要因の解析が進められています。Aβの凝集に関しても神経細胞膜が作る微小環境が重要な役割を果たしていることが明らかにされています。一方、Aβの凝集体の毒性機構については、様々な報告はあるものの完全には解明されていません。私達の研究プロジェクトでも、アミロイドカスケードに焦点をあて、これまで研究を続けてきました。

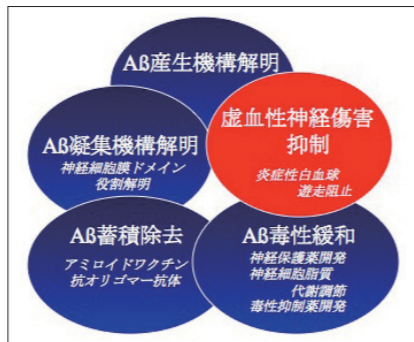


▲アルツハイマー病の脳内では、アミロイドβ蛋白(Aβ)が、その前駆体蛋白(APP)から切り出され、凝集し、神経細胞を傷害しています。

2 研究プロジェクトの目標

認知症の発症機序の解明と薬剤開発

本プロジェクトは、認知症の中なかでも特に患者数が多く、且つ、現時点で未だ病態機序が不明であり、真に有効な予防薬、治療薬が開発されていないアルツハイマー病を主要課題に据えています。本プロジェクトでは、アルツハイマー病の脳の中なかで中心的役割を果たしていると考えられているアミロイドβ蛋白(Aβ)に焦点をあて、その産生、凝集ならびに神経細胞毒性発現の分子機構の解明を目指しています。また、アルツハイマー病の新たな治療法として、脳内の異常なAβ蓄積であるアミロイドの除去を狙ったワクチン療法の開発研究を進めるとともに、神経細胞の直接的傷害因子として最近注目されるAβオリゴマーの除去を可能とする抗オリゴマー抗体の開発研究をも目指します。さらに、凝集したAβによる神経細胞傷害の緩和ならびに神経細胞保護を可能とする薬剤の開発を目指します。一方、アルツハイマー病に次いで患者数の多い血管性認知症については、その病態解明を進めるとともに、脳虚血に伴う神経細胞障害における重要性が注目されている炎症性白血球の脳実質内浸潤の抑制による新たな治療法の開発を目指します。

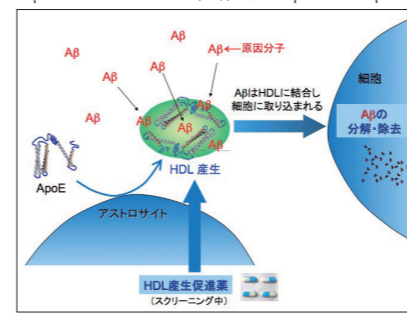


▲Aβに焦点をあて病態研究を進め、その蓄積を除去し、毒性を緩和する薬剤と、虚血性神経細胞傷害を抑制する薬剤開発を目指します。

3 研究プロジェクトの成果

アルツハイマー病の脂質代謝とHDL療法

脳内コレステロール輸送はアストロサイトが産生するApoEを含むHDLと、ApoE受容体を介した神経細胞へのコレステロール供給等の機構によって維持されています。ApoE-HDLによるコレステロール供給はシナプス形成などに必須とされる一方、ApoE-HDLはAβと結合し、その分解・除去に重要な役割を担っています。本プロジェクトでは、ApoEによるHDL産生作用にApoE3>ApoE4の違いがあることを基

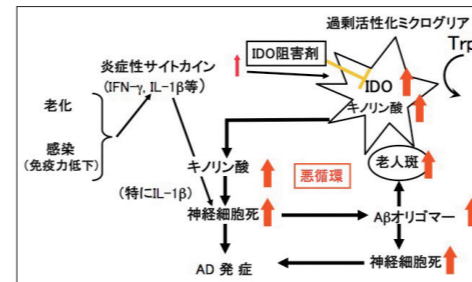


▲HDL産生を介したアポリポ蛋白EによるAβ除去を制御する薬剤開発を目指します。

に、機能の劣っているApoE4のHDL産生作用を補い、またApoE3によるHDL産生能をさらに増強することは、アルツハイマー病病態進行を抑制すると考え、脳内HDL産生増加を標的と薬剤探索を開始し、複数の候補薬剤を得ました。

キノリン酸を介したAβの神経細胞傷害

アルツハイマー病では神経毒キノリン酸の産生を伴うトリプトファン代謝異常が生じている可能性が考えられます。本プロジェクトではトリプトファン代謝酵素(IDO)阻害活性を示す幾つかの化合物を得ることに成功し、薬剤開発に向け研究を進めています。一方、アルツハイマー病脳におけるIDO発現増強メカニズムを研究し、Aβと炎症性サイトカインであるIFN-γで活性化されたミクログリア内でIDO誘導が生じていることを見出しました。これらの新発見は、アルツハイマー



▲キノリン酸による神経細胞傷害を抑制法する薬剤開発を目指します。

虚血性神経細胞傷害機序の解明と抑止法開発

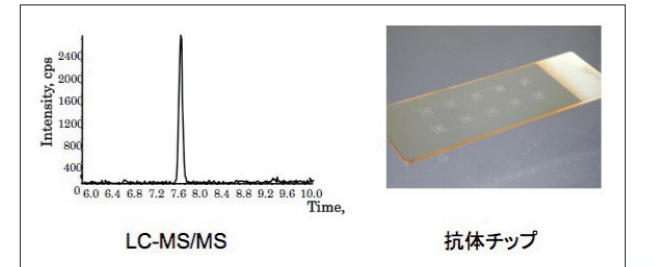
脳血流の低下が原因で発病する血管性認知症は、アルツハイマー病に次ぐ患者数があります。脳血流の低下による神経細胞障害には炎症反応が関与していることが明らかとなりました。この炎症反応は、脳血流低下部位の血管内皮細胞に白血球の脳内侵入に必要な細胞接着分子E-selectinが産生されることから始まります。Sialyl Lewis X修飾リポソームは、この血管内皮細胞上のE-selectinと結合するため、白血球の脳内侵入阻害作用を持ちます。そのため、Sialyl Lewis X修飾リポソームは従来の治療法にはない神経細胞死を導く炎症反応を抑制する作用を持つ治療薬としての応用が期待できます。

▲血管内皮上のE-selectinへの結合抑止による白血球の脳内浸潤抑制法の開発を目指します。

4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

アルツハイマー病早期診断法の開発

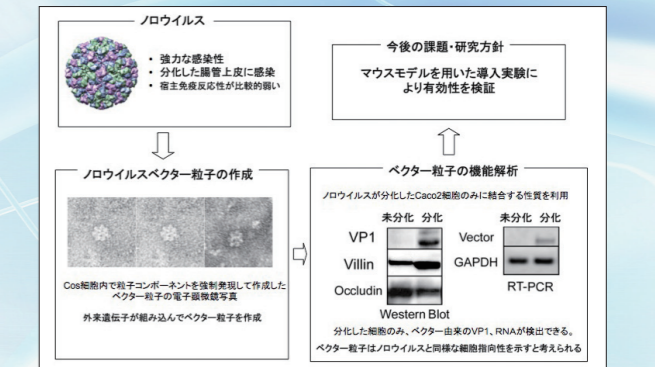
本プロジェクトでは、酸化傷害により高次構造が変化したタンパク質(酸化修飾タンパク質)に対する特異抗体を複数作製しました。これらタンパク質は酸化ストレスのマーカーであるだけでなく、神経細胞死の原因に関わる可能性があります。実際、アルツハイマー病罹患脳に一部の酸化修飾タンパク質が蓄積していること、さらにこれらの異常タンパク質の細胞毒性が確認されました。一方、アルツハイマー病脳内に蓄積していたのと同じ異常な酸化修飾タンパク質が脳脊髄液の中でも増加していることが示されました。現在、脳脊髄液より採取が簡単な血清でも同様な酸化修飾タンパク質の増加が認められるかどうか検討しています。血清には脳脊髄液よりも多くのタンパク質が含まれるため、微量のタンパク質を正確かつ簡単に測定することは困難であり、特異抗体をスライドグラスに特殊な方法でコーティングした抗体チップを作製中です。現在開発している抗体チップは従来のELISA法に比べて感度が数十倍高く、一度に最大百種類のタンパク質を同時測定することができます。また、測定値をコンピューターで処理し、多変量解析を行なうことで、自動診断システムを作成することが可能となります。アルツハイマー病の発症前リスク診断や早期診断に役立てたいと考えています。



▲アルツハイマー病罹患患者の脳脊髄液をLC-MS/MSで解析後、診断マーカー候補分子に対し特異抗体を作製し、抗体チップを開発中です。

経口ウイルスベクターの開発

本プロジェクトでは、アルツハイマー病ワクチンに特化したノロウイルスを用いた経口用ウイルスベクターの開発を検討中です。これまでの経口ワクチン療法の試みでは、通常のウイルスベクターが利用されており、標的の腸管への導入効率が高く、他の組織・細胞に感染してしまうなどの懸念があります。一方、ノロウイルスは強力な感染性を持ち、分化した腸管上皮特異的に感染するといわれています。また感染後の抗ウイルス抗体の生成は一時的であるため、ノロウイルスに感染したことがある方でもベクターを使用できるという利点があります。このようにノロウイルスは経口ワクチン用ベクターとして極めて有望ですが、培養細胞に感染せず通常の方法ではベクター作製は不可能です。本研究ではCos細胞内でウイルスカプシドタンパク質VP1やベクターRNAなどのウイルス粒子の各コンポーネントを同時に大量発現させることで、ベクター様粒子の作製に成功しました。ノロウイルスは分化した腸管細胞にのみ結合するという性質をもちますが、ベクター様粒子も分化誘導されたヒト腸管細胞(Caco2)にのみ吸着を観察できました。今後、マウスモデルを利用した導入実験により経口ワクチン用ベクターとしての有効性を検証する予定です。



▲ノロウイルスを用いたアルツハイマー病治療用の経口ウイルスベクターの開発を目指します。