
A β 凝集に焦点をあてたアルツハイマー病の予防・治療薬の開発

The development of agents for the preventives and therapeutics of Alzheimer's disease with a focus on A β aggregation

昭和大学医学部内科学講座神経内科学部門教授

小野賢二郎*

金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科）教授

山田正仁**

1. はじめに

高齢者人口の増加に伴い、全世界で認知症患者は急速に増加しており、認知症、その中で最も多いアルツハイマー病（Alzheimer's disease; AD）は、特に大きな社会問題として理解されるようになってきている。わが国ではドネペジルが、1999年にAD治療薬として承認されて以来、広く使用されてきた唯一の薬剤であったが、2011年より新たな薬剤としてガランタミン、リバスチグミン、メマンチンが許可された。ただ、これらの薬剤は投与を続けても患者の認知機能低下の速度は低下できないことから対症療法薬に分類され、対症療法薬では大きな限界があるため、AD患者の認知機能低下の速度を低下させる薬剤、

すなわち、早くからADの病理過程そのものを修正できる疾患修飾薬（disease-modifying drug）の開発が期待されている。

ADは、アミロイド β 蛋白（amyloid β -protein: A β ）を主成分とする老人斑、タウ蛋白を主成分とする神経原線維変化によって特徴づけられる。機序としては、A β 凝集蓄積が初めに起こり、これが神経原線維変化や神経細胞死などの病変を引き起こして、認知症を発症すると考えられている（アミロイド仮説）¹⁾。現在、世界中でこの仮説に基づいた予防・治療法の開発が精力的に行われており、我々の研究グループは、特にA β 凝集抑制にターゲットをしばって研究を行っている。

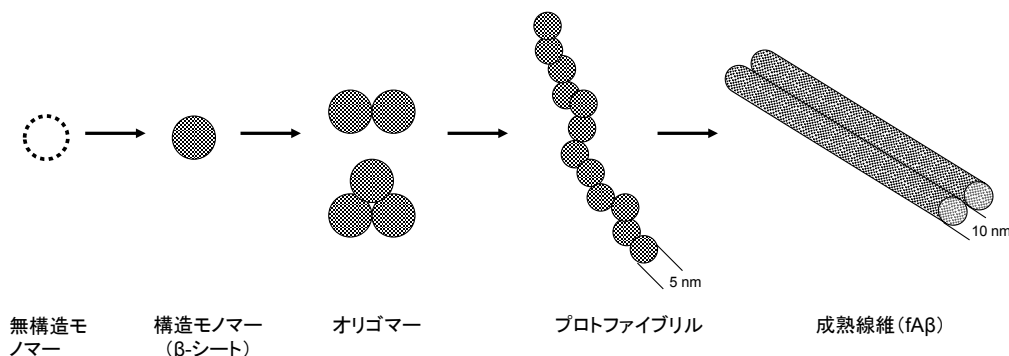


図1 A β 凝集モデル（文献2より）

* Kenjiro Ono (Professor): Department of Neurology, Showa University School of Medicine

** Masahito Yamada (Professor): Department of Neurology and Neurobiology of Aging, Kanazawa University Graduate School of Medical Science

2. Aβ凝集とオリゴマー

Aβが凝集していく過程では、無構造のモノマーからβシートへの構造変換を起こし、続いて重合核が形成され、プロトファイブリル、さらには成熟線維(Aβ fibrils: fAβ)が形成される(図1)²⁾。従来、脳アミロイドとして蓄積するfAβが神経毒性を發揮すると考えられていたが、近年、可溶性オリゴマーの研究に注目が集まっている²⁾。

我々は、Photo-induced cross-linking of unmodified proteins (PICUP)を用いてAβオリゴマーを安定化した状態で抽出し(図2)³⁾、ダイマー、トリマー、テトラマーがモノマーに比し、βシート構造の割合だけでなく、細胞毒性も増加し、特にモノマー→ダイマーの過程がADの重要な治療ターゲットになる可能性があることを示した³⁾。

3. フェノール化合物によるAβ凝集抑制

1) *in vitro* および humanにおける検討

最近の疫学的研究は、緑茶等の天然フェノール化合物含有食品の摂取は認知症の発症率を下げることを示唆しているが⁴⁾、我々は、ミリセチン、ロスマリン酸をはじめとするフェノール化合物が*in vitro*にてfAβ形成を抑制することを明らかにした(図3)⁵⁻⁷⁾。

近年、凝集の中間段階であるオリゴマーこそが最も毒性があるとして注目されているが、我々はブドウ種子由来ポリフェノールが、Aβ凝集の全過程、すなわち、fAβ、プロトファイブリル、オリゴマー、さらに2次構造変換の全てを抑制し、細胞毒性を軽減させることを確認した(図4、5)⁸⁾。

更に我々は、マウスの海馬スライスを用いて、オリゴマー化によってLTPは抑制され、Long-term depression (LTD)は増強されるが、ミリセチンやロスマリン酸によってこれらのシナプス毒性は軽減されることを示した⁹⁾。

2) *in vivo*における検討

我々は、アミロイド前駆体蛋白(amyloid precursor protein: APP)遺伝子改変度物であるTg2576マウスを用いてブドウ種子由来ポリフェノールが脳内のAβ沈着だけでなく、可溶性Aβオリゴマーも減少させ、さらに高次脳機能障害も改善することを示した¹⁰⁾。我々は、さらに、Tg2576モデルマウスに数種類のフェノール化合物を経口投与し、ロスマリン酸は、脳内のAβ沈着だけでなく、Aβオリゴマーも抑制すること、ミリセチンやクルクミンは、Aβオリゴマーを減少させるが、脳内のAβ沈着には効果はないことを発見した¹¹⁾。

我々は健常者におけるポリフェノールの安全性試験(第1相試験)にて忍容性および安全性を確認し¹²⁾、現在、少数のAD患者さんにおけるプラセボ対照の第2相試験(ランダム化二重盲検)を施行中である。

4. おわりに

我々の研究も含めて、現在、Aβ凝集抑制薬候補として、*in vitro*だけでなく、*in vivo*実験系においても凝集抑制効果を示し、臨床試験まで進んでいる化合物が報告されている。Aβ凝集抑制薬は、ADの根本治療において重要な位置を占める可能性がある。

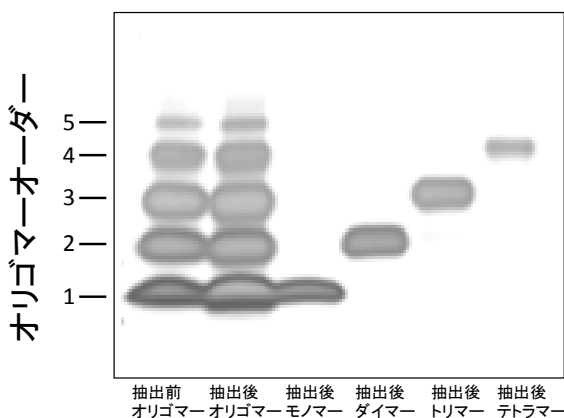


図2 Aβオリゴマーの電気泳動(文献3より)

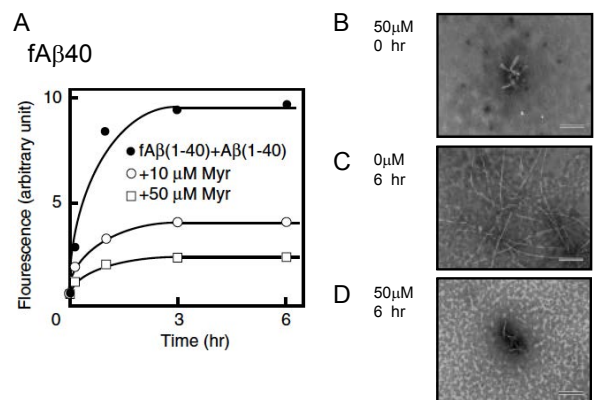


図3 Aβ線維伸長反応におけるミリセチン(Myr)の抑制効果(A-D) Aβを超音波により切断したfAβ(B)と混合して37°Cにてインキュベートすると、チオフラビンTの蛍光値が飽和曲線的に増加し、明らかな伸長反応を認める(C)。この混合液にフェノール化合物であるMyrを加えるとチオフラビンTの蛍光値が低下し、線維伸長を認めない(D)。スケールバー=250 nm。(文献5より)

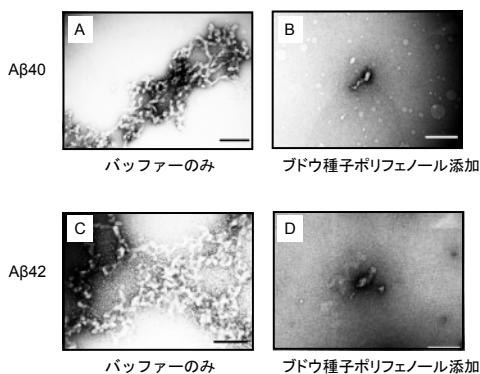


図 4 Aβ のプロトファイブリル形成におけるブドウ種子由来ポリフェノールの効果(A-D) Aβ40, または Aβ42 溶液を 37℃ にて 10 日間インキュベートするとプロトファイブリルが形成されるが (A, C)、ブドウ種子由来ポリフェノールを加えるとプロトファイブリルはほとんど認められない (B, D)。スケールバー=100 nm。(文献 8 より)

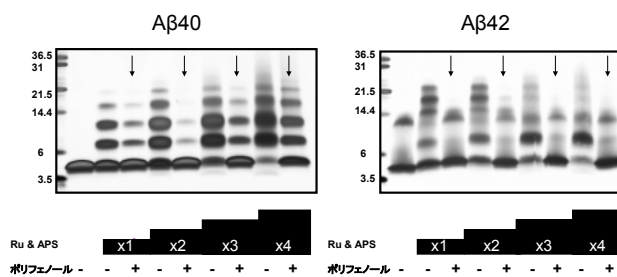


図 5 Aβ オリゴマー形成におけるブドウ種子由来ポリフェノールの効果
Aβ40, または Aβ42 溶液に ammonium persulfate (APS) と tris (2,2'-bipyridyl) dichlororuthenium (II) (Ru) を加え、光照射を加える (PICUP) と、Aβ オリゴマーが形成される。しかし、この反応溶液にブドウ種子由来ポリフェノールを加えると、オリゴマー形成が抑制される。(文献 8 より)

文 献

- 1) Hardy J, Selkoe DJ: The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297: 353-356, 2002.
- 2) Ono K, Yamada M: Low-n oligomers as therapeutic targets of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 117: 19-28, 2011.
- 3) Ono K, Condrón MM, Teplow DB: Structure-neurotoxicity relationships of amyloid β-protein oligomers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 14745-14750, 2009.
- 4) Noguchi-Shinohara M, Yuki S, Dohmoto C, et al. Consumption of green tea, but not black tea or coffee, is associated with reduced risk of cognitive decline. *PLoS One* 9: e96013, 2014.
- 5) Ono K, Yoshiike Y, Takashima A, et al: Potent anti-amyloidogenic and fibril-destabilizing effects of polyphenols *in vitro*: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 87: 172-181, 2003.
- 6) Ono K, Hasegawa K, Naiki H, et al: Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's β-amyloid fibrils *in vitro*. *J Neurosci Res* 75: 742-750, 2004.
- 7) Ono K, Hasegawa K, Naiki H, et al: Anti-amyloidogenic activity of tannic acid and its activity to destabilize Alzheimer's β-amyloid fibrils *in vitro*. *Biochim Biophys Acta* 1690: 193-202, 2004.
- 8) Ono K, Condrón MM, Ho L, et al: Effects of grape seed-derived polyphenols on amyloid β-protein self-assembly and cytotoxicity. *J Biol Chem* 283: 32176-32187, 2008.
- 9) Ono K, Li L, Takamura Y, et al: Phenolic compounds prevent amyloid β-protein oligomerization and synaptic dysfunction by site-specific binding. *J Biol Chem* 287: 14631-14643, 2012.
- 10) Wang J, Ho L, Zhao W, et al: Grape seed extract MegaNatural-AZ prevents Aβ oligomerization and attenuates cognitive deterioration in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 28: 6388-6392, 2008.
- 11) Hamaguchi T, Ono K, Murase A, et al: Phenolic compounds prevent Alzheimer's pathology through different effects on the amyloid β aggregation pathway. *Am J Pathol* 175: 2557-2565, 2009.
- 12) Noguchi-Shinohara M, Ono K, Hamaguchi T, et al: Pharmacokinetics, Safety and Tolerability of Melissa officinalis Extract which Contained Rosmarinic Acid in Healthy Individuals: A Randomized Controlled Trial. *PLoS One* 10: e0126422, 2015.

この論文は、平成 28 年 7 月 30 日 (土) 第 30 回老年期認知症研究会で発表された内容です。