

## 研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名： 脳関門排出輸送に基づくアルツハイマー型痴呆症の解明と創薬

2. 研究代表者名： 寺崎 哲也(東北大学 大学院薬学研究科 教授)

### 3. 研究概要：

本研究の主目的は、アミロイドβ蛋白質(Aβ)がアルツハイマー型痴呆症の原因物質の最有力候補と考えられていることに着目し、Aβ蛋白質の血液脳関門を介した脳から血管方向の排出輸送機構を解明することにある。また、血液脳関門 Aβ 排出輸送系の輸送活性評価方法を開発し、誘導剤のスクリーニングを行いリード化合物の探索を行う。さらに、アミロイド老人斑周辺に蓄積され神経毒性の強いキノリン酸の血液脳関門排出輸送機構を解明することを目的とする。

従来、Aβの血液脳関門排出輸送系として、1) low density lipoprotein related protein 1 (LRP-1) が主たる役割を果たしている、2) 血液脳関門 P-糖タンパク質も少なくとも一部 Aβの脳からの排出輸送に関与している、3) 大脳海馬領域ではネプリライシンによる Aβ 1-42 の代謝分解が重要な役割を果たしている、などが報告されてきた。

これらの報告について、研究代表者らの研究では、LRP-1 は血液脳関門の Aβ 排出輸送過程において最大で 20% の寄与の可能性があることが示された。また、循環血液中の Aβ の主な排出経路は肝臓であるが、LRP-1 は肝臓への輸送において主要な役割を果たしていることが明らかになった。さらに従来の報告とは異なり、血液脳関門における Aβ 排出輸送には P-糖蛋白質がほとんど関与していない可能性が高く、コレステロール輸送系の ABCA1 も Aβ の脳関門輸送に関与していないことが示唆された。加えて、ネプリライシンによる代謝過程は Aβ の脳からの消失において約 20% 関与していることが示唆された。これらのことから、Aβ の脳からの消失過程の 50% 以上がこれまで報告されている輸送系で説明出来ないことが明らかになった。

さらに Affinity cross linking 法を用いて、脳毛細血管内皮細胞膜のある種の受容体の family が Aβ と結合することが示唆された。Aβ 輸送系候補として受容体 A family が考えられた。マウス脳毛細血管内皮細胞において受容体 A family の mRNA が検出された。ラット血液脳関門における Aβ 排出輸送は受容体 A に対する阻害剤によって顕著に阻害された。また、ラット血液脳関門における受容体 A の ligand の排出輸送は Aβ によって顕著に阻害された。同様にマウス条件的不活化脳毛細血管内皮細胞に対する Aβ の輸送は受容体 A に対する阻害剤によって阻害された。なお、受容体 A の発現細胞に対して Aβ は弱い結合活性を示す結果が得られたが、さらに検討が必要である。また、受容体 A の siRNA によってマウス条件的不活化脳毛細血管内皮細胞における受容体 A の mRNA の発現が低下し、Aβ 内在化活性も低下したが、この効果は弱く、さらに検討が必要である。ラット血液脳関門においてキノリン酸を輸送する担体候補として 2つの Open Reading Frame を持つ cDNA が単離された。どちらの ORF に対応する蛋白質が輸送を担っているか、引き続き解析中である。

## 4. 中間評価結果

### 4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

現在までの進捗状況は良好で、研究成果も順調に推移していると思われる。しかし、当初の計画のうち、A $\beta$  輸送系に関わる受容体のサブタイプの解析が遅れており、主目的である A $\beta$  のトランスポーターの同定が未だ残されたままである。また、最終目標に向けた計画が分散している傾向がある。例えば、本来の標的とは異なる肝臓でのペプチド輸送蛋白質 (LRP-1) の研究に多くの努力が払われているようであるが、目標としている A $\beta$  輸送系に関わる受容体の研究により集中すべきである。肝臓での A $\beta$  取り込み系の同定や、膜タンパク質の LC/MS 分析による同定法の開発は一定の成果ではあるが、本筋の研究が遅れているのを挽回するほどの成果とは言えない。また、この方法が、A $\beta$  輸送系に関わる受容体の機能解析にどの程度の本質的な貢献が期待出来るのか疑問が残る。

国内外の類似研究と比較して、独自性はあるが世の中の方向を変える程度には至っていない。まだ A $\beta$  reverse transporter を同定したわけではないので立場は弱く、今までのところ本研究で特段の進展は見られていない。アルツハイマー型痴呆症の予防薬や改善薬は、世界の大手製薬メーカーが凌ぎを削って開発を進めている。それらの開発研究会の発表内容と比較すると、かなり遅れている。研究体制については寺崎グループが主体となって進め、研究内容によっては東大グループが分担するように、代表者が適格なリーダーシップを取っているようだが、課題の発展によっては、臨床医の協力を得ることが有効と思われる。

平成16、17年度の大型機器として、プロテオーム解析に使用する質量分析器や検出器が購入されている。測定すべき標的蛋白質をプロテオーム的に同定するならば、アルツハイマー型痴呆症の患者試料が必要になるが、そのようなアプローチは国内では困難である。A $\beta$  ペプチドの脳からの排出に関与するトランスポーター系を同定する実験ならば、例えば、適当なタグを付けた酵母か動物細胞の発現系など、より効率的な戦略を立て、目標達成のための実施課題の明確な順位付けをして進めるべきであろう。

### 4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

現在までの成果は、アルツハイマー型痴呆症の原因物質である A $\beta$  タンパク質の脳関門排出輸送のメカニズムの解明に迫るものであり、この脳疾患の治療などへの応用研究に与えるインパクトは大きい。肝臓での A $\beta$  取り込み系の同定や、膜タンパク質の LC/MS 分析による同定法の開発、A $\beta$  輸送系に関わる受容体候補の遺伝子の同定など成果は見られるが、脳関門での A $\beta$  の排出のメカニズムの解明に至っていない。主要テーマのいずれもが中途半端な感がありインパクトに欠ける。

既に、かなりの数の論文を発表しているが、まだ、研究主題に関するものは認められず、外国での発表も多いが、ポスター発表に留まっている。知的財産権の取得については、この2年間で日本特許出願を4件、外国特許出願を1件行っており(いずれもバйдール法準拠)、SORST(生物系)の中では、トップクラスの位置を占めている。

本研究の目的達成のため新しい実験手法の開発をいくつか挙げているが、中でも siRNA 法を

利用出来るようにすることで、研究内容に新局面が開けるなど効果が期待されると思われる。全体的に、テーマが分散しすぎていて核心に向けて集約していない。このままの進行状況では目的達成が遠く可能性も十分に危惧される。創薬研究は後 2.5 年ではとても大きな成果は期待出来ない。また、研究費についても人件費を別にして、消耗品などを大幅に圧縮することが推奨される。

#### 4-3. 総合的評価および特記事項

研究の進捗状況は全般的には順調に推移していると思われる。A $\beta$ トランスポーターの候補の同定や膜タンパク質の質量分析による同定法の開発は一定の成果であり評価される。しかし、主題である「A $\beta$  ペプチドの脳からの排出に関与するトランスポーター系の同定」には未だ距離がある上に、研究課題「脳関門排出輸送に基づくアルツハイマー型痴呆症の解明と創薬」の達成には、まだ道が遠い。今後、この大きな研究課題に、脳関門排出輸送の研究を越えて、どう挑戦するかが、大きな課題である。脳関門排出輸送の研究以外にも多くのテーマに取り組んでいるが、このままでは肝心の成果が出ないでプロジェクトが終了する危険性があると危惧される。残り 2 年の研究期間を考慮し、テーマを集中し、Strategy をもう一度整理し、考え直すことが求められる。また、創薬に関する取り組みも根本的に見直すことが望まれる。