

## 研究課題別 事後評価結果

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：寺崎 哲也(東北大学 大学院薬学研究科 教授)

3. 研究内容および成果：

アルツハイマー型痴呆症患者の脳内に蓄積するアミロイド $\beta$ 蛋白質(A $\beta$ )の排出輸送機構に焦点を絞り、血液脳関門輸送系の実体を分子レベルで解明し、新規治療薬開発の突破口を開くことを目指した。具体的には、1)A $\beta$ 脳関門排出機構の詳細を解明し、排出輸送に関わる新規分子を同定すること、2)A $\beta$ の脳関門排出輸送を活性化する物質を探索し、A $\beta$ 脳内蓄積抑制薬のリード化合物を見出すこと、また研究ツールとして、3)細胞膜蛋白質や非標識未変性A $\beta$ の高感度絶対定量技術の開発、を進めた。

### 1)血液脳関門におけるA $\beta$ 排出輸送機構の解明と排出輸送新規分子の同定

これまで、A $\beta$ は脳から、LRP-1やP-糖蛋白質により血液脳関門経路で排出されていると報告されていた。独自開発の脳関門排出輸送in vivo計測法とin vitro系の脳毛細血管内皮細胞株(TM-BBB, TR-BBB)を用いA $\beta$ 脳関門排出輸送の解析を行った。その結果、LRP-1は血液脳関門の排出輸送には関与せず、脳脊髄液からの脈絡叢上皮細胞(脳脊髄液関門)を介した排出輸送に関与していることを明らかにし、P-糖蛋白質もA $\beta$ 脳関門排出輸送に関わっていないことを示した。排出輸送に関わる新規分子の同定をプロテオミクス解析によって行い、4つの候補分子を同定したが最終的結論には至らなかった。

### 2)血液脳関門におけるA $\beta$ 排出輸送を促進する化合物の探索

in vitro脳関門モデル細胞であるTM-BBB及びTR-BBB株は、A $\beta$ を細胞内に取り込み、さらに取り込んだA $\beta$ を細胞外に排出する活性を有する。この系を用いて約60化合物をスクリーニングし、2化合物をin vivoでA $\beta$ 脳関門排出輸送を促進する物質として同定した。

### 3)質量分析装置(LC-MS/MS)を用いた新しい高感度絶対定量手法の開発

細胞膜蛋白質を定量する新しい手法を開発した。原理は、従来法と同じであるが、従来法では細胞膜蛋白質の解析でノイズが多く検出が困難であった点を改良した。細胞膜蛋白質のトリプシン消化物の中で定量に適したペプチドをアミノ酸配列情報からin silicoで選択する設計方法を確立したことが特徴である。その結果37種類の異なる細胞膜蛋白質を同時に1fmol/assayの検出感度で定量することに成功した。その検出感度はほぼ抗体による検出感度に匹敵するものであり、生命科学のあらゆる分野に応用可能な基盤技術である。非標識未変性A $\beta$ の絶対定量法についても、13fmol/assayという高感度定量法を開発することができた。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

###### 期間中の外部発表、特許等の実績

発表論文: (邦文) 11 件 / (英文) 51 件

口頭発表: (国内) 137 件 / (海外) 94 件

特許出願: (国内) 6 件 / (海外) 1 件

本研究の主目的は、アルツハイマー型痴呆症の原因物質である  $A\beta$  の脳関門排出輸送機構を解明し、創薬へ繋げることである。しかしながら、 $A\beta$  の輸送に関わる分子の同定には至らず、創薬を目標として同定したリード化合物もその作用解析までは至らなかった。一方、研究推進のために開発を進めた細胞膜蛋白質の定量技術として微量の試料を用いて 37 種類の蛋白質を同時に高感度で定量しうる方法を確立したことは評価される。

外部発表は数の上では十分であると認められるものの、学術論文は一部の専門誌に限定され、インパクトファクターも高くは無い。膜蛋白質の同定、定量技術については外国特許も出願され、適切に対応された。新技術の新規性等に関しては、評価会にて厳しいコメントもあったが実用化に向けて大学、企業等との具体的な詰めが進んでおり、具体化する可能性が高いと思われる。

##### 4-2. 成果の科学技術への貢献

アルツハイマー型痴呆症の原因物質である  $A\beta$  の脳関門排出輸送機構の解明という難易度の高い課題に挑戦したが、目標達成には至らず科学技術への貢献は不十分である。一方、この研究の推進上開発された質量分析装置(LC-MS/MS)による蛋白質の解析技術は優れたもので、膜蛋白質に限らず全ての蛋白質の解析に有効な技術であり、広く利用される可能性があり、今後の展開が期待される。

##### 4-3. その他特記事項(受賞等)

1. 寺崎哲也: American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS) Fellow, 2004 年 11 月
2. 寺崎哲也: Poster Award "Effect of GLUT1 deficiency on the developmental expression of GLUT1, MCT1, and MCT2 mRNA in mouse brain." 8th Cerebral Vascular Biology, Munster, Germany, 2005 年 6 月
3. 寺崎哲也: 平成 19 年度日本薬剤学会学会賞「血液脳関門機能と薬物の体内分布」、2007 年 5 月
4. 寺崎哲也: 平成 19 年度日本薬物動態学会学会賞「脳関門輸送研究の新技術開発と脳支援防御機構解明」、2007 年 10 月
5. 寺崎哲也: 東北大学ディスティングイッシュト・プロフェッサー(初代)の称号授与、2008 年 4 月