

レビー小体病(LBD)の病因解明とその知見に基づいた新たなバイオマーカーの開発
(23-2)

主任研究者 丸山和佳子 国立長寿医療研究センター 加齢健康脳科学研究部 (部長)

研究要旨

LBDの細胞モデルとしてaSynを過剰発現した神経芽細胞種に脂質過酸化ストレスを作成し、細胞死の機序にミトコンドリア傷害と、脂質過酸化修飾を受けたaSynの蓄積、凝集が関わることを明らかとした。脳の加齢に伴う基盤的变化、特に脂質過酸化による傷害の蓄積がLBDでは顕著かつ部位特異的に惹起されているのかを明らかとするため、LBD剖検脳を用い、酸化脂質修飾タンパクに対する特異抗体を用いて検討を行った。他方、LBDにおける脳内酸化ストレス、特に脂質過酸化を制御し、神経栄養因子を増加させる食品成分について、主に細胞実験を用いたスクリーニングを行った。老化に伴う精神神経機能低下に関わるものが報告されている神経栄養因子であるbrain-derived neurotrophic factor (BDNF)の簡便な測定法(抗体チップ)を開発し、商品化を行った。

主任研究者

丸山和佳子 (独) 国立長寿医療研究センター 加齢健康脳科学 (部長)

分担研究者

山岡朗子 (独) 国立長寿医療研究センター 神経内科 (医師)

大澤俊彦 愛知学院大学 心身科学部栄養学科 (学部長)

直井信 (株)ヘルスケアシステムズ (顧問)

赤津裕康 医療法人さわらび会 福祉村病院 長寿医学研究所 (副所長)

A. 研究目的

老年期における三大認知症であるアルツハイマー病(AD)、レビー小体病(LBD)、血管性認知症(VD)の中で、LBDに焦点を絞り研究を行う。LBDは認知症全体の10-20%の原因であることが解明されており、認知症の克服のため、その重要性は極めて高い。LBDの病因にはalpha-synuclein (aSyn) の神経細胞内異常蓄積が決定的な役割を果たしていると思定されているが、細胞死をきたす機序は不明である。現在、薬剤性LBDモデル動物や剖検脳の研究成果から、1) 老化に伴うミトコンドリア機能障害と酸化ストレス傷害の蓄積、1)の結果としての2) 構造変化を起こし aSyn の細胞内蓄積、が細胞死過程の開始に決定的

な役割を果たしていることが示唆されている。

孤発性LBDの病因を老化という視点で解明することは世界的に見ても斬新な発想であり、さらに、EBMに基づいた予防、治療法の開発は当センターに求められる重要なミッションと考えられる。本研究課題では老化に伴う脳神経細胞の脂質過酸化傷害の蓄積を切り口としてLBDの病因に関する研究を行う。

B. 研究方法

詳細については、分担研究報告書を参照されたい。

酸化ストレス（老化）がLBDの病理学的特徴であるLB形成と細胞死を引き起こすメカニズムを細胞モデルで解明する（丸山）。さらに、神経細胞死に主要な役割を果たしていると考えられる、神経細胞膜脂質の酸化と脂質過酸化物による修飾をうけ、構造異常をきたしたタパク質について、ヒトサンプル（剖検脳、脳脊髄液、血液等）で解析を行うことで、モデル実験で得られた仮説を検証する（山岡、赤津）。酸化ストレスにより傷害をうけ、難分解性となるとともに毒性を持つ変性タンパク質について分析定量するための測定系を確立する（大澤）。LBDの病因に基づく画期的治療、予防薬の開発を目指す。上記の疾患モデルを用いて神経保護作用をもつ低分子化合物の作用と効果を定量的に判定する。特にB型モノアミン酸化酵素阻害剤の誘導体であるpropargylamine化合物および生薬／食品由来のポリフェノール、ペプチドを候補としてスクリーニングと、作用機序解明を行う（直井、丸山）。

（倫理面への配慮）

- i) 動物を使った実験系については各施設の動物実験倫理委員会、実験動物委員会の許可の基に動物愛護上の配慮を行う。
- ii) 臨床研究については、各施設の臨床研究倫理委員会の許可と指導の基に行い、プライバシー保護には細心の注意を払う。
- iii) ヒトサンプルを用いた研究については各施設の臨床疫学倫理委員会の許可を受ける。
- iv) 本研究課題には利益相反の問題はない。

C. 研究結果

神経老化の中でも特に酸化ストレス傷害や機能低下をきたしたミトコンドリアの蓄積が、LBDの発症にどのように関与しているかをモデル系で解明した。さらに、神経細胞死に主要な役割を果たしていると考えられる、神経細胞膜脂質の酸化と脂質過酸化物による修飾をうけ、構造異常をきたした タパク質 について、特異抗体を作成するとともに分析系(抗体チップ)を作成した。

- 1) ヒト LBD(PD)の黒質ドパミンニューロンでは顆粒状の酸化脂質修飾タンパク質の蓄積

が認められる。

2) aSyn 過剰発現培養細胞ではミトコンドリア機能障害が惹起される。

3) aSyn 過剰発現培養細胞に酸化 PUFA を投与することで、レビー小体病様の封入体と細胞死が惹起される。

4) ヒト LBD の血漿では神経栄養因子である BDNF が低下傾向にある。

5) 抗パーキンソン病薬の一種(monoamine oxidase inhibitor)や食品由来成分には BDNF を増加させる低分子化合物が存在する。が得られた。

D. 考察と結論

本研究課題では、「神経老化」の一つの中核をなす「脂質過酸化」の LBD 発症における役割を *in vitro* およびヒトサンプルで検討した。その結果、LBD の病因タンパクである aSyn の過酸化脂質修飾により、高次構造の変化に伴うと推定される重合が引き起こされることが明らかとなった。近年、異常タンパクの中で毒性をもつのは **toxic oligomer** あるいは **fibril** であることが報告されており、脳神経という酸化ストレスが恒常的に高く、かつ、不飽和脂肪酸含有量が高いため、脂質過酸化が起り易い。生成された脂質ラジカルが aSyn などの膜近傍タンパクを酸化修飾し、難分解性の毒性をもつ **oligomer** あるいは **fibril** の蓄積が加齢に従い蓄積されることが LBD の病態に関与している可能性が示唆された。今後、このような神経変性の過程を防御するための抗酸化あるいはストレス耐性を誘導する低分子化合物を開発することが重要と考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

(4) 分担研究報告 を参照のこと