

200500758 A・B

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

アルツハイマー病の神経細胞死を誘導する
遺伝子機能の解析と抑止法の開発

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

平成 15～17 年度 総合研究報告書

主任研究者 田平 武

平成 18 (2006) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告書

- アルツハイマー病の神経細胞死を誘導する遺伝子機能の解析と抑止法の開発…… 1
田平 武

II. 分担研究報告書

1. AB-DIP の機能解析と神経細胞死抑制…… 8
田平 武
2. 塩酸アポモルフィンの細胞内 A β および p53 分解促進作用と神経細胞死の抑止…… 10
大八木保政
3. 分子シャペロン誘導剤のアルツハイマー病治療への応用…… 19
工藤 喬
4. 海馬尾部および灰白層におけるアルツハイマー病変の検討…… 24
卷淵 隆夫
5. シナプス機能障害を標的としたアルツハイマー病新規治療法の開発……27
武田雅俊

III. 研究成果の刊行に関する一覧表……33

IV. 研究成果の刊行物・別刷

V. 総合研究報告書……37

アルツハイマー病の神経細胞死を誘導する遺伝子機能の解析と抑制法の開発

主任研究者 田平 武 国立長寿医療センター 研究所長

研究要旨 本研究は A β によるアルツハイマー病の神経細胞死の機構を解析し、その中からこれを抑止する方法を開発することを目的として行われた。その結果、以下の成果が得られた。

1) A β の産生抑制：A β の部分ペプチドがベータセクレターゼ活性を抑制することを見出した。また、A β 42 産生を抑える新規 NSAID を見出した。小胞体ストレス緩和剤 BiX は A β 産生を抑制した。

2) A β の分解促進：塩酸アポモルフィンが A β のプロテアソーム分解を促進することを見出した。

3) A β による神経細胞死の抑止：A β が結合し神経細胞死を誘導する物質として glypican-1、AB-DIP を見出した。Glypican-1 を介する細胞死を抑止する化合物をスクリーニングし、約 30 個の候補物質を手にした。AB-DIP は新規蛋白質で、その siRNA は細胞内外 A β による細胞死を抑制した。塩酸アポモルフィンは細胞内 A β 42 増強による細胞死を抑制した。

4) 小胞体ストレス緩和による細胞死の抑止：小胞体ストレスを緩和する分子シャペロンを誘導する化合物 BiX を見出した。BiX は中大脳動脈閉塞による脳梗塞領域を縮小した。

分担研究者

大八木保政	九州大学大学院医学研究院 脳研神経内科講師
工藤 喬	大阪大学大学院医学系研究 科ポストゲノム疾患解析学 講座プロセッシング異常疾患 分野助教授
卷淵隆夫	国立病院機構さいがた病院 臨床研究部長
武田雅俊	大阪大学大学院ポストゲノ ム疾患解析学講座精神医学 教授

A. 研究目的

アルツハイマー病の脳に特徴的であるのは β アミロイド沈着による老人斑の形成であるが、症状に直結するのはシナプスの変性と神経細胞死である。アルツハイマー病の神経細胞死の機序は複雑であるが、細胞内外の A β により誘導・活性化される遺伝子機能を解析し、それにより細胞死が誘導されるメカニズムを解明すれば、抑止方法が開発できると期待される。本研究は A β と結合する蛋白質や小胞体ストレス関連蛋白の遺伝子機能を in

vitro、in vivo で解析し、アルツハイマー病における神経細胞死のカスケードを明らかにすると共に、これを抑止する薬物をスクリーニングし、治療薬のシードを得ることを目的とする。また、A β 産生を抑制ないし分解を促進する薬物を開発することも目的に加える。アルツハイマー病は高齢者に多い認知症疾患で、徐々に進行し、ヒトにとって最も重要な人間らしさを失う病気である。その原因となるシナプス障害、神経細胞死のメカニズムの解明は最も重要かつ必要な研究であることは言うまでもない。本研究によりシナプス変性や神経細胞死の機序が明らかになれば、その中からシナプス・神経細胞変性・細胞死を抑止する方法が開発されると期待され、社会に与えるインパクトは計り知れない。

B. 研究方法

1. A β 産生抑制

a) 非ステロイド性消炎剤の中からパイロインフォマティックスを用いて A β 42 切断阻害活性を有し Notch 切断阻害活性が少ないものを選択した。その後その化合物を用いて γ -セクレターゼ阻害作用を確認した。

2. A β 分解促進剤の開発

合成 A β 1-40 を蛍光標識し、細胞内に hyperosmotic influx 法により導入した。細胞内 A β 40 の蛍光の消失過程を共焦点レーザー顕微鏡で経時的に観察し、抗 A β 抗体による免疫染色と対比した。また、A β 分解はウエスタンブロットで確認した。これを用いて、A β 分解を促進する薬物をスクリーニングした。

3. A β による神経細胞死を抑止する薬剤の開発

a) ヒト脳の蛋白画分を塩濃度勾配により分画し、ドットブロットにより合成 A β 40 が結合する画分を回収した。同じ画分にヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) が出るのが分かったので、これをウエスタンブロットし、A β 40 で前処理することによりヘパリチナーゼによるネオエピトープの出現が著しく低下することを指標に HSPG の分子種を同定した。次に、この HSPG の細胞内局在を明らかにする為に、detergent-insoluble glycosylolipid rich fraction (DIG) を既報の方法により抽出し、ウエスタンブロット法により調べた。また、AD 脳における局在は免疫組織化学により調べた。さらに、APP^{sw} を安定的に発現する SH-SY5Y 細胞株に、テトラサイクリンで誘導できる当該 HSPG 遺伝子を導入し、その発現が細胞の増殖、生存にどのような影響を及ぼすかを調べた。その結果、当該 HSPG は A β 存在下に細胞死を誘導したので、この系を用いて細胞死を抑止する化合物のスクリーニングを行った。化合物はアルドリッチ社のライブラリーから約 1,000 種を選択して用いた。

b) A β 結合蛋白を同定する方法としてもう一つは yeast two hybrid system を用いた。A β 1-42 を bait としてヒト脳 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。得られた候補遺伝子の塩基配列を決定し、興味ある遺伝子を選択した。選択した遺伝子産物が A β と結合するか否かは当該遺伝子に Myc を、A β 1-40 又は A β 1-42 に HA タグをつけ、pull down assay によっ

た。この遺伝子が Doxycyclin により誘導発現される SH-SY5Y 細胞を樹立し、この遺伝子産物の細胞内局在を免疫細胞染色により明らかにするとともに、A β 1-42 cDNA を導入し、細胞の増殖生存に対する効果を調べた。次に、この系にその dominant negative 遺伝子及び siRNA を導入し、その抑制効果を調べた。また、その遺伝子産物が細胞周期に及ぼす影響を FACS を用いて調べた。

4. 小胞体ストレス緩和薬の開発
HeLa 細胞を用いて小胞体ストレスに際し誘導されるシャペロン GRP-78 のプロモーター領域とルシフェラーゼ遺伝子を用いてその誘導促進剤をスクリーニングする為のレポーターアッセイ系を樹立した。これを用いて GRP-78 誘導剤をスクリーニングし、得られた薬剤の APP のプロセッシング、A β 産生に対する作用を解析した。さらに、中大脳頸動脈閉塞による脳梗塞モデルを用いて、その薬剤の in vivo での作用を調べた。

5. A β の細胞内局在の同定

4%パラホルムアルデヒドで固定し、20%蔗糖バッファーに保存しておいた AD 脳を LR White resin に包埋し、加速剤を加え 60°C で重合する方法と加速剤を加えず紫外線照射で重合する方法で標本作製した。これを薄切りし、モノクローナル A β 抗体 M872 (DAKO)、ポリクローナル A β 40、A β 42 抗体 (Calbiochem) で免疫染色を行い、電子顕微鏡観察を行った。また、A β 抗体及び AT-8 抗体で免疫染色した標本の詳細な光学顕微鏡観察を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験はすべて研究者所属施設の動物実験倫理委員会の承認の下に行われた。剖検は剖検承諾書をとって行われ、担当した病理医が保存した試料について共同研究を実施した。

C. 研究結果

1. A β 産生抑制剤の開発

a) A β そのものは BACE の基質となり、11 位と 35 位で切断された。また、A β フラグメントは BACE 活性を阻害した。

b) NSAID のうち γ -セクレターゼ特異的阻害作用を有する候補薬剤 30 種を選別した。その中から A β 42 特異的に切断活性を阻害し、Notch の切断に影響が少ない新規コンパウンドを一つ得た。この IC₅₀ は 20 μ M 程度で、sulindac の半分以下であった。しかし、この薬物は Notch1 の γ 切断も抑制し、APP 特異的ではなかった。

2. A β 分解促進剤の開発

蛍光標識した A β 40 を浸透圧法により細胞内に導入し、蛍光強度の減衰速度を指標に、A β 分解促進化合物スクリーニング系を立ち上げた。この系を用いて、プロテアソーム阻害剤 MG132 は A β 分解を抑制すること、また、塩酸アポモルフィンが A β 分解を促進することを見出した。A β の分解はウエスタンブロット法で確認できた。

3. A β による神経細胞死を抑制する薬剤の開発

a) ヒト脳より A β 結合性のある HSPG を分離し、glypican-1 であることを明らかにした。glypican-1 は A β モノマーより重

合 A β をよりよく結合した。また、glypican-1 は lipid raft に主に局在し、A β モノマー、オリゴマーとともに回収され、AD 脳では老人斑に β アミロイドと共存した。APP^{sw} 発現細胞にテトラサイクリンで glypican-1 を誘導すると、細胞の増殖は停止し、細胞死が誘導された。この系を用いて細胞死を抑止する化合物のスクリーニングを行った。その結果、興味ある化合物を多数見出した。

b) A β と結合し細胞死を誘導する新規物質が得られたので、A β -related death-inducing protein (AB-DIP)と命名した。AB-DIP は 776 個のアミノ酸からなり、caspase activation and recruitment domain (CARD)、グルタミンリッチドメイン、核移行シグナルがあり、それ自体カスパーゼ 9 により切断を受け活性型となった。AB-DIP を強発現すると細胞死が誘導され、細胞内・外の A β によりその細胞死は増強された。ドミナントネガティブ AB-DIP 及び AB-DIP に対する siRNA はその細胞死を抑制した。また、AB-DIP は細胞周期を G2/M 期で停止させる作用があった。現在、AB-DIP トランスジェニックマウスを作製している。

c) SH-SY5Y 細胞を H₂O₂ 処理すると酸化ストレスにより細胞内 A β 42 が増加し、p53 を介して細胞死が起こる。この系を用いて塩酸アポモルフィンの効果を調べたところ、塩酸アポモルフィンは細胞死を抑制することが分かった。

4. 小胞体ストレス緩和薬の開発

小胞体ストレスを緩和するシャペロン GRP-78 を誘導する薬物として BiX を見出した。BiX はそれ自体では小胞体スト

レスを誘導しなかった。BiX を作用させると APP の細胞内移行が変化し、A β 産生が低下した。頸動脈よりカニューレを挿入し中大脳頸動脈閉塞を起こし、in vivo での BiX の作用を調べた所、BiX は脳梗塞領域を有意に減少させた。

5. 細胞内 A β の局在と AD 病変の分布

免疫組織化学により細胞内 A β 陽性細胞を検討したところ、アストロサイトが高頻度に見出され、ニューロンや血管内皮細胞もしばしば陽性所見を示した。A β 40 陽性物質は顆粒状で、細胞質に局在した。老人斑近傍では A β 42 陽性アストロサイトやニューロンが散見された。しかし電子顕微鏡による細胞内 A β の局在は明らかにできなかった。

AT-8 陽性神経原線維変化は海馬の錐体細胞とその突起に観察され、後方に行く程減少した。アルツハイマー型認知症では灰白層(induseum gliseum)にも神経原線維変化が見られた。

D. 考察

本研究者は酸化ストレスやプレセニリン 1 変異により細胞内 A β 42 が増加し細胞死を誘導することを見出した。そのメカニズムを解析し、一つは A β 42 が p53 プロモーター領域に結合し、直接これを活性化し細胞死を誘導することを明らかにした。また、A β が結合する物質をスクリーニングし、ヘパラン硫酸プロテオグリカンの一つグリピカン 1 を見出した。グリピカン 1 を強発現する細胞に A β を添加すると細胞死が誘導された。この系を用いて細胞死を抑止する化合物のスクリーニングを行い、1,000 個の中から 30 個

程の候補物質を得た（未発表）。これらについてはin vivoでその作用を確認する必要があるが、良いin vivoのモデルがない。現在 AB-DIP のトランスジェニックマウスを作製しており、APP トランスジェニックマウスとかけ合わせることで良いin vivoモデルができればこれらの化合物のテストを行う予定である。

本研究は $A\beta$ と結合して細胞死を誘導する新規物質 AB-DIP を見出した。AB-DIP には細胞死に係る分子に共通の CARD ドメインがあり、核移行シグナルを有した。そのドミナントネガティブフォーム及び siRNA は $A\beta$ による細胞死を抑制した。また、AB-DIP は細胞周期を G2/M 期に停止させる作用があった。近年アルツハイマー病患者の剖検脳で神経細胞内に細胞周期マーカーが高頻度に出現することが見出されており、また、神経細胞を再び細胞周期に移行させると細胞死が起こることが知られている。これらのことから AB-DIP は AD における細胞死を抑止する新しい標的になると思われる。

一方、 $A\beta$ 産生を抑制する薬や細胞内 $A\beta$ の分解を促進する薬も神経細胞死を抑止するのに有効であると思われる。今回プロテアソーム活性を上げ $A\beta$ 分解を促進する塩酸アポモルフィンを見出した。今後、この化合物について in vivo での効果を見る必要がある。塩酸アポモルフィンはすでに臨床応用されている薬であり、AD 治療薬として開発される可能性は十分考えられる。

NSAID の一部は $A\beta$ 42 特異的抑制作用があると言われている。今回、バイオイ

ンフォマティックスを用いて $A\beta$ 42 切断を阻害し Notch 切断を阻害しないと推定されるものを選択し、実際 sulindac より優れた NSAID を一つ見出した。しかし、実際には APP 特異的ではなく、Notch 切断も抑制した。

$A\beta$ ペプチドの一部が BACE を抑制することを見出した。これは BACE 特異的であると期待され、今後そのメカニズムを更に詳しく解析することで BACE 特異的インヒビターが発見される可能性がある。

アルツハイマー病では血管因子の関与もあり、小胞体ストレスも神経細胞死に関与していると考えられる。今回 BiX が小胞体ストレスを緩和し、脳梗塞のサイズを縮小させることが分かった。また、BiX は $A\beta$ 産生を抑制した。今後 APP トランスジェニックマウスで BiX の有効性が確認できれば、アルツハイマー病に有効な薬剤として開発される可能性がある。

E. 結論

1. $A\beta$ と結合し細胞死を誘導する物質 glypican-1 と AB-DIP を見出した。
2. 塩酸アポモルフィンは細胞内 $A\beta$ 分解を促進することを見出した。
3. $A\beta$ ペプチドの一部は BACE を抑制することを見出した。
4. BiX は小胞体ストレスを緩和し、 $A\beta$ 産生の抑制と梗塞巣の縮小を示した。
5. sulindac より優れた NSAID を一つ見出したが、APP 特異的ではなかった。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

【論文発表】

平成 17 年度

1. Lakshmana MK, Araki W, Tabira T: Amyloid beta peptide binds a novel death-inducing protein, AB-DIP. FASEB J 2005 (doi: 10.1096/fj.05-3672fie)
2. Ohyagi Y, Tabira T: Intracellular amyloid β -protein and its associated molecules in the pathogenesis of Alzheimer's disease (review). Mini-Rev Med Chem, in press, 2006
3. Ohyagi Y, Tsuruta Y, Motomura K, Miyoshi K, Kikuchi H, Iwaki T, Taniwaki T, Kira J: Intraneuronal amyloid β 42 enhanced by heating but counteracted by formic acid. J Neurosci Methods, in press, 2006
4. Taniwaki T, Okayama A, Yoshiura T, Togao O, Nakamura Y, Yamasaki T, Ogata K, Shigeto H, Ohyagi Y, Kira J, Tobimatsu S: Functional network of the basal ganglia and cerebellar motor loops in vivo: Differential activation patterns between self-initiated and externally triggered movements. NeuroImage, in press, 2006
5. Furuya H, Murai H, Takasugi K, Ohyagi Y, Urano F, Kishi T, Ichinose H, Kira J: A case of late-onset Segawa syndrome (autosomal dominant dopa-responsive dystonia) with a novel mutation of the GTP-cyclohydrolase I (GCH1) gene. Clin Neurol Neurosurg, in press, 2006
6. Furuya H, Ikezoe K, Ohyagi Y, Miyoshi T, Fujii N: A case of progressive posterior cortical atrophy (PCA) with vivid hallucination: are some ghost tales vivid hallucinations in normal people? J Neurol Neurosurg Psychiatry, in press, 2006
7. Ohyagi Y, Asahara H, Chui D-H, Tsuruta Y, Sakae N, Miyoshi K, Yamada T, Kikuchi H, Taniwaki T, Murai H, Ikezoe K, Furuya H, Kawarabayashi T, Shoji M, Checler F, Iwaki T, Makifuchi T, Takeda K, Kira J, Tabira T: Intracellular A β 42 activates p53 promoter: a pathway to neurodegeneration in Alzheimer's disease. FASEB J 19: 255-257, 2005
8. Furuya H, Shinnoh N, Ohyagi Y, Ikezoe K, Kikuchi H, Osoegawa M, Fukumaki Y, Nakabeppu Y, Hayashi T, Kira J: Some flavonoids and DHEA-S prevent the *cis*-effect of expanded CTG repeats in the stable PC12 cell transformant. Biochem Pharmacol 69: 503-516, 2005
9. Furuya H, Yamada T, Ohyagi Y, Miyoshi T, Fujii N, Kira J: Neurological signs and symptoms in

patients with chronic PCB intoxication (*Yusho* accident) for more than 36 years. *J Dermatol Sci (Suppl 1)*: S39-S44, 2005

10. Yoshio Bando, Reiko Onuki, Taiichi Katayama, Takayuki Manabe, Takashi Kudo, Kazunari Taira, Masaya Tohyama: Double-strand RNA dependent protein kinase (PKR) is involved in the extrastriatal degeneration in Parkinson's disease and Huntington's disease. *Neurochem Int* 46: 11-18, 2005

11. Hua-Qin Wang, Yoshifumi Nakaya, Zhenyu Du, Takuya Yamane, Michiko Shirane, Takashi Kudo, Masatoshi Takeda, Koichi Takebayashi, Yoichi Noda, Keiichi I. Nakayama, Masaki Nishimura: Interaction of presenilins with FKBP38 promotes apoptosis by reducing mitochondrial Bcl-2. *Human Molecular Genetics* 14(13): 1889-1902, 2005

12. Kentaro Tanemura, Du-Hua Chui, Tetsuya Fukuda, Miyuki Murayama, Jung-Mi Park, Takumi Akagi, Yoshitaka Tatebayashi, Tomohiro Miyasaka, Tetsuya Kimura, Tsutomu Hashikawa, Yuka Nakano, Takashi Kudo, Masatoshi Takeda, Akihiko Takashima: Formation of Tau Inclusions in Knock-in Mice with Familial Alzheimer Disease (FAD) Mutation of Presenilin 1 (PS1)

J Biol Chem 281(8): 5037-5041, 2006

13. Takashi Kudo, Masayo Okumura, Kazunori Imaizumi, Wataru Araki, Takashi Morihara, Hitoshi Tanimukai, Eiichiro Kamagata, Nobuhiko Tabuchi, Ryo Kimura, Daisuke Kanayama, Akio Fukumori, Shinji Tagami, Masayasu Okochi, Mikiko Kubo, Hisashi Tanii, Masaya Tohyama, Takeshi Tabira, Masatoshi Takeda: Altered localization of amyloid precursor protein under endoplasmic reticulum stress. *Biochem Biophys Res Commun* 344: 525-530, 2006

14. Takehiro Yasukawa, Yohei Kirino, Norie Ishii, Ian J. Holt, Howard T. Jacobs, Takao Makifuchi, Nobuyoshi Fukuhara, Shigeo Ohta, Tsutomu Suzuki, Kimitsuna Watanabe: Wobble modification deficiency in mutant tRNAs in patients with mitochondrial diseases. *FEBS Letters* 579: 2948-2952, 2005

15. Okochi M, Fukumori A, Jiang J, Itoh N, Kimura R, Steiner H, Haass C, Tagami S, Takeda M: Secretion of the Notch-1 A β -like peptide during Notch signaling. *J Biol Chem*, Epub, 2006

16. Fukumori A, Okochi M, Tagami S, Jiang J, Itoh N, Nakayama T, Yanagida K, Ishizuka-Katsura Y, Morihara T, Kamino K, Tanaka T,

- Kudo T, Tanii H, Ikuta A, Haass C, Takeda M: Presenilin-dependent γ -secretase on plasma membrane and endosomes is functionally distinct. *BIOCHEMISTRY*, in press, 2006
17. Sato N, Okochi M, Taniyama Y, Kurinami H, Shimamura M, Takeuchi D, Hamada H, Fukumori A, Kiyosue K, Taguchi T, Tanaka T, Miyasaka M, Takeda M, Ogihara T, Morishita R: Development of new screening system for Alzheimer disease; in vitro A β sink assay, to identify the dissociation of soluble A β from fibrils. *Neurobiology of Disease*, Epub, 2006
18. K Taguchi, H Yamagata, W Zhong, K Kamino, H Akatsu, R Hata, T Yamamoto, K Kosaka, M Takeda, I Kondo, T Miki: Identification of susceptibility genes for sporadic Alzheimer's disease using hippocampus-related candidate genes. *Ann Neurol* 57: 585-588, 2005
19. Nakajima T, Takauchi S, Ohara K, Kokai M, Nishii R, Maeda S, Takanaga A, Tanaka T, Takeda M, Seki M, Morita Y: Alpha-synuclein-positive structures induced in leupeptin-infused rats. *Brain Res* 1040: 73-80, 2005
20. Nessa BN, Tanaka T, Kamino K, Sadik G, Ansar AB, Kimura R, Tanii H, Okochi M, Morihara T, Tagami S, Kudo T, Takeda M: Toll-like receptor 3 mediated hyperphosphorylation of tau in human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Psychiatry Clin Neurosci* Apr; 60 Suppl 1:S27-33, 2006
21. Kimura R, Kamino K, Yamamoto M, Kida T, Akatsu H, Uema T, Kobayashi T, Hattori H, Nuripa A, Nessa BN, Kazui H, Ikejiri Y, Tanaka T, Tanii H, Kudo T, Yoneda H, Yamagata H, Miki T, Takeda M: Albumin gene encoding free fatty acid and beta-amyloid transporter is genetically associated with Alzheimer disease. *Psychiatry Clin Neurosci* Apr; 60 Suppl 1: S34-9, 2006
22. Hua-Qin Wang, Y Nakaya, Z Du, T Yamane, M Shirane, T Kudo, M Takeda, K Takebayashi, Y Noda, Keiichi I: Interaction of presenilins with FKBP38 promotes apoptosis by reducing mitochondrial Bcl-2. *Human Molecular Genetics* 14(13): 1889-1902, 2005
23. H Tanii, N Matsumoto, Y Kashiwagi, M Okochi, T Tanaka, T Kudo, K Kamino, Y Okazaki, M Takeda: Aluminum alters viability and axonal transport system in Alzheimer's disease pathogenic mutation-bearing cells. *Psychogeriatrics* 4: 20-23, 2005

24. Masayasu Okochi, Masatoshi Takeda: Possible assessment of Alzheimer's γ -secretase activity by level of A β -like peptide. *Psychogeriatrics* 54: suppl2, S57-S61, 2005.

H16年度

1. Watanabe N, Araki W, Chui DH, Makibuchi T, Ihara Y, Tabira T: Glypican-1 as an A β binding HSPG in the human brain: its localization in DIG domains and possible roles in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *FASEB J* 18(9): 1013-5, 2004

2. Takeda K, Araki W, Tabira T: Enhanced generation of intracellular A β 42 amyloid peptide by mutation of presenilins PS1 and PS2. *Eur J Neurosci* 19: 258-264, 2004

3. Takeda K, Araki W, Akiyama H, Tabira T: Amino-truncated amyloid β peptide (A β 5-40/42) produced from caspase-cleaved amyloid precursor protein is deposited in Alzheimer's disease brain. *FASEB J* 18: 1755-7, 2004

4. Tabira T: Molecular basis of Alzheimer's disease: From amyloid hypothesis to treatment in the foreseeable future. *Ger Gerontol* 4: S27-S31, 2004

5. Hitomi J, Katayama T, Eguchi Y,

Kudo T, Taniguchi M, Koyama Y, Manabe T, Yamagishi S, Bando Y, Imaizumi K, Tsujimoto Y, Tohyama M: Involvement of caspase-4 in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and A β -induced cell death. *J Cell Biol* 165: 347-356, 2004

H15年度

1. Tanahashi H, Asada T, Tabira T: Association between tau polymorphism and male (early-onset) Alzheimer's disease. *NeuroReport* 15: 175-180, 2004

2. Tabira T: Alzheimer's disease: mechanisms and development of therapeutic strategies. *Geriatrics and Gerontology International* 3: 175-188, 2003

3. Hashimoto-Gotoh T, Tsujimura A, Watanabe Y, Iwabe N, Miyata T, Tabira T: A unifying model for functional difference and redundancy of presenilin-1 and -2 in cell apoptosis and differentiation. *Gene* 323: 115-123, 2003

4. Konagaya M, Kato T, Sakai M, Kuru S, Matsuoka Y, Konagaya Y, Hashizume Y, Tabira T: A clinical and pathological study of a Japanese case of Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism-Dementia Complex with family history. *J Neurol* 250: 164-70, 2003

5. Santa Y, Uyama E, Chui DH, Arima M, Kotorii S, Takahashi K, Tabira T: Genetic, clinical and pathological studies of CADASIL in Japan: a partial contribution of Notch3 mutations and implications of smooth muscle cell degeneration for the pathogenesis. *J Neurol Sci* 212: 79-84, 2003

6. Yamada T, Ohyagi Y, Shinnoh N, Kikuchi H, Osoegawa M, Ochi H, Kira J, Furuya H: Therapeutic effects of normal cells on ABCD1 deficient cells in vitro and hematopoietic cell transplantation in the X-ALD mouse model. *J Neurol Sci* 218: 91-97, 2004

7. Ertekin-Taner N, Ronald J, Asahara H, Younkin L, Hella M, Jain S, Gnida E, Fadale D, Ohyagi Y, Singleton A, Scanli L, De Andrade M, Petersen R, Graff-Radford N, Hutton M, Younkin S: Fine mapping of the α -T catenin gene to a quantitative trait locus on chromosome 10 in late-onset Alzheimer's disease pedigrees. *Hum Mol Genet* 12: 3133-3143, 2003

8. Furuya H, Yasuda M, Terasawa K, Tanaka K, Murai H, Kira J, Ohyagi Y: A novel mutation (L250V) in the presenilin 1 gene in a Japanese familial Alzheimer's disease with myoclonus and generalized

convulsion. *J Neurol Sci* 209: 75-77, 2003

9. Kikuchi H, Yamada T, Furuya H, Doh-ura K, Ohyagi Y, Iwaki T, Kira J: Involvement of cathepsin B in the motor neuron degeneration of amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol* 105: 462-468, 2003

10. Ikezoe K, Furuya H, Ohyagi Y, Osoegawa M, Nishino I, Nonaka I, Kira J: Dysterlin expression in tubular aggregates: their possible relationship to the ER stress. *Acta Neuropathol* 105: 603-609, 2003

11. Yoshiura T, Mihara, Mihara F, Tanaka A, Ogomori K, Ohyagi Y, Taniwaki T, Yamada T, Yamasaki T, Ichimiya A, Kinukawa N, Kuwabara Y, Honda H: High b value diffusion-weighted imaging is more sensitive to white matter degeneration in Alzheimer's disease. *NeuroImage* 20: 413-419, 2003

12. 工藤 喬: 小胞体ストレスと神経変性疾患. *Dementia Japan* 17: 1-7, 2003.

13. 工藤 喬: 小胞体ストレスと神経変性疾患. *日本神経精神薬理誌* 23: 105-109, 2003

14. Ishida C, Kakishima A, Okino S, Furukawa Y, kan M, Oda Y, Nakanishi

I, Makifuchi T, Kitamoto T, Yamada M: Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with MM1-type prion protein and plaques. *Neurology* 60: 514-517, 2003.

15. Toyooka K, Yuichiro Watanabe Y, Shuji I, Shimizu E, Iyo M, Nakamura R, Asama K, Makifuchi T, Kakuta A, Takahashi H, Someya T, Nawa H: A decrease in interleukin-1 receptor antagonist expression in the prefrontal cortex of schizophrenic patients. *Neuroscience Research* 46: 299-307, 2003

16. Fluhner R, Multhaup G, Schlicksupp A, Okochi M, Takeda M, Lammich S, Willem M, Westmeyer G, Bode W, Walter J, Haass C: Identification of a beta-secretase activity, which truncates amyloid beta-peptide after its presenilin-dependent generation. *J Biol Chem* 278: 5531-8, 2003

【学会発表】

平成 17 年度

1. 大八木保政 他: アルツハイマー病における細胞内アミロイド β 蛋白分解促進薬の探索。第 46 回日本神経学会総会、鹿児島、2005 年 5 月 26 日

2. 三好克枝、大八木保政 他: プレセニリン 1 遺伝子変異が促進するアポトーシス経路の検討。第 46 回日本神経学会総

会、鹿児島、2005 年 5 月 26 日

3. 大八木保政: Pathogenesis of intracellular amyloid β -protein 42: A novel therapeutic target in Alzheimer's disease. 第 48 回日本神経化学会福岡大会(シンポジウム)、福岡、2005 年 9 月 29 日

4. 大八木保政 他: アルツハイマー病における細胞内蓄積 $A\beta$ の意義とその分解促進薬の探索。第 24 回日本認知症学会、大阪、2005 年 9 月 30 日

H16 年度

1. 大八木保政 他: 神経細胞内 A42 の生理的・病的機能とその治療。第 45 回日本神経学会総会、東京、2004 年 5 月 12 日

2. 三好克枝、大八木保政 他: プレセニリン遺伝子変異の神経細胞死におけるプロテアソーム機能抑制の影響。第 45 回日本神経学会総会、東京、2004 年 5 月 12 日

3. 鶴田裕子、大八木保政 他: アルツハイマー病における細胞内 $A\beta_{42}$ の免疫染色法の比較検討。第 45 回日本神経学会総会、東京、2004 年 5 月 12 日

4. Miyoshi, K., Ohyagi, Y., et al.: Familial AD mutant presenilin enhances apoptosis caused by proteasome inhibition and oxidative stress. The 34th Annual Meetings of

Society for Neuroscience. San Diego, Oct 23, 2004.

5. Ohyagi Y, et al.: Intracellular A β 42-related neurodegeneration: Search for drugs to degrade cytosolic A β 42. The 34th Annual Meetings of Society for Neuroscience. San Diego, Oct 27, 2004.

H15年度

1. Tabira T: What cottonwoolplaques tell us. 6th International conference AD/PD 2003 (Invited speaker) 9. May, 2003. Seville

2. Ohyagi Y, Asahara H, Tsuruta Y, Chui DH, Furuya H, Kira J, Tabira T: Novel P53-dependent neurodegeneration in Alzheimer's disease: The role of intracellular Abeta42. 6th International conference AD/PD 2003. 9 May, 2003. Seville

3. 田平 武: 家族性非アルツハイマー病型痴呆-最近の進歩、第44回日本神経学会総会(教育講演)平成15年5月17日 横浜

4. 田平 武: アルツハイマー病第44回日本神経病理学会総会学術研究会(ランチョンセミナー) 2003年5月30日 名古屋

5. 田平 武: アルツハイマー病型痴呆の予防・治療法開発の展望第45回日本老

年医学会(教育講演) 2003年6月18日 名古屋

6. 田平 武: アルツハイマー病型痴呆の薬物療法とQOLの改善 特別講演 第18回日本老年精神医学会(教育講演) 2003年6月18日 名古屋

7. Hara H, Takahashi K, Tabira T: Development of a safe vaccine. Symposium 19th June. The 23rd Japanese congress of gerontology. Nagoya

8. Takeshi Tabira: Alzheimer's disease: mechanisms and development of therapeutic strategies. The 26th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. (Morning Lecture) July 25, 2003, Nagoya

9. 渡辺哲史, 田平 武: 神経細胞死におけるA β 結合性HSPGグリピカン-1の関与について。第22回日本痴呆学会平成15年10月4日 東京

10. H Hara, Adachi K, Tabira T: New oral vaccine for Alzheimer's disease using recombinant AAV. Society for Neuroscience Meeting Nov. 9, 2003 New Orleans

11. T Tabira: Molecular basis of Alzheimer's disease. Plenary Lecture. The 7th Asia/Oceania regional congress of gerontology, Nov. 26, 2003 Tokyo

12. 田平 武: ワクチン療法 update 第 125 回日本医学会シンポジウム. 平成 15 年 12 月 11 日 東京

13. 大八木保政他: アルツハイマー病における細胞内 A β 42 の分子病理. 第 22 回日本痴呆学会、東京、2003 年 10 月 3 日

14. Ohyagi Y, et al.: Novel p53-dependent neurodegeneration in Alzheimer's disease: the role of intracellular A β 42. The 5th international conferences on Alzheimer's disease nad Parkinson's disease. Seville, May 9, 2003.

15. 工藤 喬、片山泰一、今泉和則: シンポジウム変性疾患における神経細胞死 ER ストレスの関与について. 第 22 回日本痴呆学会、東京、2003

ケイ・ラクシュマナ

特許出願人: (財)ヒューマンサイエンス振興財団

出願番号: 特願 2004-367780

発明の名称: AB-DIP、並びにアルツハイマー病の予防及び治療剤

出願年月日:平成 16 年 12 月 20 日

発明者: 大河内正康、武田雅俊

セル・フリー・Notch 切断分析方法および薬剤スクリーニング方法

PCT/JP2004/1668

H. 知的所有権の取得・登録状況

1. 特許取得

発明の名称: アルツハイマー病の予防・治療剤

発明者: 大八木保政

出願人: 国立大学法人九州大学

出願番号: 特願2006- 73054

出願日: 平成 18 年 3 月 16 日

2. 分子シャペロン BiP 誘導剤 (BiP inducer X; BIX) 工藤 喬

出願準備中

発明者: 田平 武、荒木亘、マデパリ・