

200922001B

厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合・認知症対策総合研究事業

アルツハイマー病巣での膜結合型
プロスタグランジンE合成酵素1の
生物学的・臨床医学的意義の解析

平成19年度～平成21年度 総合研究報告書

研究代表者 原 俊太郎

(昭和大学薬学部)

平成22(2010)年3月

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合・認知症対策総合研究事業

アルツハイマー病巣での膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 1
の生物学的・臨床医学的意義の解析

平成19年度～21年度 総合研究報告書

研究代表者 原 俊太郎

平成22（2010）年3月

目次

I. 総合研究報告	
アルツハイマー病巣での膜結合型プロスタグランジン E 合成 酵素 1 の生物学的・臨床医学的意義の解析 原 俊太郎	1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	17
III. 研究成果の刊行物・別刷	19

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合・認知症対策総合研究事業）
総合研究報告書

アルツハイマー病巣での膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 1
の生物学的・臨床医学的意義の解析

研究代表者 原 俊太郎 昭和大学薬学部教授

【研究要旨】

プロスタグランジン (PG) 類の産生を抑制する非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) がアルツハイマー病 (AD) の進行を抑えることが疫学的に示され、その分子機構としては NSAIDs の抗炎症作用による神経細胞死の抑制が想定されているが、PG 類産生と AD 進行との関連については未だ明確にされていない。そこで本研究では、PG 類産生と AD 進行との関連を明らかにするために、NSAIDs の標的となる COX-2 の下流で働く mPGES-1 に注目し解析を進めた。本研究では、まず、AD 患者脳や AD で見られる老人斑を自然発症する変異型アミロイド前駆蛋白質高発現マウス (TG2576 マウス) の脳において、mPGES-1 蛋白質が AD の特徴的病理像と重なって高発現していることを見出した。さらに、mPGES-1 の遺伝子欠損が TG2576 マウスで見られる A β 沈着部位への活性化グリアの集積、記憶機能低下を抑制することを明らかにした。*in vitro* の系においても、マウス大脳由来の初代培養神経細胞をアミロイド β ペプチド (A β) で刺激すると、mPGES-1 発現が誘導され、さらにこの誘導に伴い PGE₂ 産生が増加することを見出したが、このマウス初代培養神経細胞では A β 処理により、GFAP 陽性のアストロサイト、MAP-2 陽性のニューロン、いずれの細胞のアポトーシスも誘導されることも明らかにした。一方、A β 処理により PGE₂ 産生が増加しない mPGES-1 遺伝子欠損細胞では、A β あるいは PGE₂ 単独で処理してもアポトーシスは誘導されなかったが、A β と PGE₂ の両方で処理するとアポトーシスが誘導された。これらの結果から、AD の進行には mPGES-1 由来 PGE₂ が関与することが示され、mPGES-1 の阻害が AD に対し有効である可能性が示唆された。

研究代表者 [平成 19 (2008) 年度]
工藤 一郎 (昭和大学薬学部・教授)
研究分担者
高橋三津雄 (福岡大学薬学部・教授、医療
法人さわらび会福祉村病院長寿医学研究
所・主任研究員)

中谷 良人 (昭和大学薬学部・講師)
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

アルツハイマー病 (AD) は高齢化社会

とともにその発症率が増え、変性性認知症の中で最も発症頻度の高い疾患である。その症状は悲惨であるものの、この疾患に対する有効な薬としては塩酸ドネペジル（アリセプト）しかなく、その治療薬の開発、より詳細な AD の発症・進行の分子メカニズムの解明が望まれている。一方、プロスタグランジン（PG）類産生を抑制する非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）が AD の進行を抑えることが疫学的に示され、その分子機構としては NSAIDs の抗炎症作用による神経細胞死の抑制が想定されている（McGeer and McGeer (2007)）。しかしながらこれまでに、PG 類産生と AD 進行との関連についてはほとんど明確にされていない。AD の進行においては、アミロイド前駆蛋白質（APP）由来の β ペプチド（ $A\beta$ ）が重要な役割を果たすことが知られ、AD の治療薬の標的としては $A\beta$ の切り出しに関わるプロテアーゼを中心に解析が進められている。しかし、このプロテアーゼは神経系で多彩な作用をもつため、この酵素を阻害することには多くの問題点が残されている。そこで、本研究では、炎症刺激により発現が誘導され、様々な疾患の進行に関わる膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 1（mPGES-1）に注目し、本酵素と AD 進行との関連を明らかにするとともに、mPGES-1 阻害剤が AD に対する治療薬となりうる可能性を検証することを目的とした。

PGE₂ は PG 類のうち生体内で最も多く存在し、胃粘膜保護等の生体恒常性の維持に加え、炎症やがんの発症や進行に関わる、多種多様な作用をもつ脂質性メディエーターである。図 1 にその生合成経路を示す。膜リン脂質にホスホリパーゼ A₂（PLA₂）が作用することでアラキドン酸が切り出

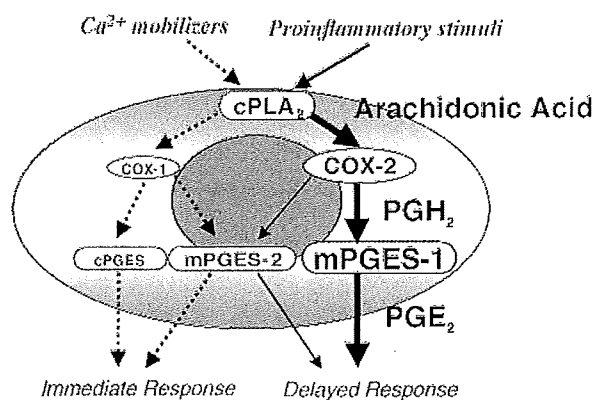


図1 PGE₂の生合成経路

され、このアラキドン酸からシクロオキシゲナーゼ（COX）により PGH₂が生じる。さらにPGH₂からPGESの作用によりPGE₂が産生される。COXのアイソザイムには、構成的に発現し生体の恒常性維持に働いているCOX-1に加え、炎症等の刺激により誘導されるCOX-2が存在する。古典的なNSAIDsは、COX-1とCOX-2のいずれをも阻害するために重篤な胃腸障害を引き起こすことが知られている。そこで、刺激時にのみ誘導されるCOX-2を特異的に阻害することができれば、副作用のないNSAIDsができると期待されてきた。AD患者の脳においてもCOX-2の発現上昇が見られることが報告され（Pasinetti and Aisen (1998)）、ADの治療に対しても、COX-2阻害剤の有用性が考えられた。しかし、最近になり、COX-2特異的阻害剤には、心血管リスクを上昇させるという副作用が見出され、その有用性に疑問が持たれ始めている（Hara and Kudo (2006)）。

一方、COXの下流で働くPGESには、細胞質型PGES（cPGES）、mPGES-1、mPGES-2の3種類のアイソザイムが知られているが、このうち、mPGES-1のみが誘導型酵素であり、同じ誘導型酵素であるCOX-2と選択的に機能連関することが、

我々の研究により明らかにされている (Murakami et al. (2000))。mPGES-1 は、MAPEG (membrane-associated proteins involved in eicosanoid and glutathione metabolism) family に含まれるグルタチオン要求性の分子量約 16 キロダルトンの膜結合型酵素である。我々は、これまでに、その遺伝子欠損マウスを用い、mPGES-1 がリウマチ性関節炎や肉芽腫形成といった炎症反応進行のみならず、がんの発症や進展、転移といった現象にも深く関わることを *in vivo* で見出している (Kamei et al. (2003, 2004, 2010)、Kubota et al. (2005)、Yamakawa et al. (2008)、Hara et al. (2010))。また、同一のマウスを用い、mPGES-1 が脳梗塞後の神経のアポトーシスに関わることも示されている (Ikeda-Matsuo et al. (2006))。このため、現在では、COX-2 特異的阻害剤に代わる「副作用のない抗炎症薬」として国内外で mPGES-1 の阻害剤の開発が進められており、本研究において mPGES-1 阻害剤が AD に対しても有効なことが示唆されれば、その意義は大変大きい。

AD と PG との関連については、以前より、AD 患者の脳脊髄液において PGE_2 レベルが高いという報告 (Montine et al. (1999)) があったものの、 PGE_2 がどのように AD に関わるかについての分子機構に関する研究はこれまであまりなかったが、最近になって、米国のグループから、 PGE_2 受容体の 1 つ EP2 がミクログリア細胞の活性化や β セクレターゼによる APP のプロセッシングに関わること (Liang et al. (2005)、Shie et al. (2005)) や、神経細胞死が EP2 に加え、他の受容体である EP4 により調節されていること (Echeverria et al. (2005)) が報告された。また、熊本大のグ

ループもごく最近、EP2、EP4 が A β 産生に関わることを報告している (Hoshino et al. (2007))。しかし、これら PGE_2 受容体は正常状態でも発現が見られ、 PGE_2 受容体を介するシグナルは神経細胞の生存の促進と抑制の両方の作用をもつことが示されている (McCullough et al. (2004))。一方、mPGES-1 は、その発現が炎症時やがんなどほぼ病態時に限られ、薬剤の標的としての有用性はきわめて高い。mPGES-1 と AD との関連については、第一製薬のグループが、mPGES-1 が A β を投与されたラットのアストロサイトで発現誘導されることを報告している (Satoh et al. (2000)) のみである。前述したように研究代表者らは、mPGES-1 が炎症やがんの発症や進展に深く関わることをその遺伝子欠損マウスにより示してきた。本研究では、遺伝子欠損マウスを用い、mPGES-1 による PGE_2 の異常産生が AD 進行に関わることを明らかにすることを目的とした。

また、これまでの AD と PG に関する研究はいずれも実験動物を用いた解析であり、ヒトの病態と PG 類との直接的関連については示されていない。研究分担者・高橋および赤津は神経内科医として AD 患者の治療、予防に関わると同時に、免疫組織化学的・細胞生物学的手法により、AD 進行に関わる分子の同定を試みてきた (Farkas et al. (2003))。本研究では、高橋および赤津との共同研究により AD 患者由来の試料を用いることで、より直接的にヒト疾患における AD 進行の分子機構を解明することを試みた。

B. 研究方法

1) ヒト脳組織の免疫組織学的解析

AD 患者 9 例 (年齢 68~98 歳 (平均 85.8

± 9.5 歳))、パーキンソン病や脳梗塞後遺症などの非 AD 神経疾患患者 5 例 (年齢 68~90 歳 (平均 78.6 ± 8.2 歳))、脳には異常が見られない対照者 4 例 (年齢 83~94 歳 (平均 89.3 ± 4.6 歳)) の剖検組織よりパラフィン切片を作製し、抗 mPGES-1 抗体、抗 mPGES-2 抗体、抗 cPGES 抗体により免疫染色を行った。また、発現細胞を同定する際には、ニューロン、ミクログリア、アストロサイト、それぞれのマーカー蛋白質 MAP2、HLA-DR、GFAP に対する抗体により、病巣部の同定には、抗リン酸化 tau 抗体 AT8 や抗 A β 抗体 82E1 により二重染色を行った。

2) TG2576 マウス脳組織の免疫組織学的解析

TG2576 マウスは、ヒト変異型 (スウェーデン変異と呼ばれる K670N/M671L) の APP を高発現し、14 ヶ月齢程度から脳内アミロイド沈着である老人斑を形成する AD のモデルマウスである。16 ヶ月齢のこの TG2576 マウスと、対照の同月齢のこの C57BL/SIL、それぞれ 4 匹より、脳を 4% パラホルムアルデヒドで灌流した後採取した。この脳組織よりパラフィン切片を作製し、1)と同様に、抗 mPGES-1 抗体、抗 mPGES-2 抗体、抗 cPGES 抗体により免疫染色を行った。また、発現細胞の同定には、MAP2、Iba1 (ミクログリアのマーカー蛋白質)、GFAP に対する抗体、病巣部の同定には 82E1 抗体を用いた。

3) mPGES-1 遺伝子欠損 TG2576 マウスの作製

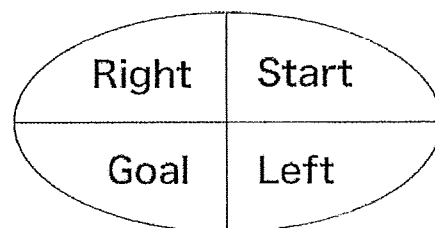
まず、TG2576 マウスの雄と mPGES-1 遺伝子欠損マウスの雌を交配し、mPGES-1 遺伝子をヘテロ欠損した変異型 APP 遺伝子をもつマウスともたないマウスを得た。このうちの変異型 APP 遺伝子をもつ雄の

マウスと mPGES-1 遺伝子欠損の雌マウスをさらに交配することで、遺伝子型の異なる 4 種類のマウス (変異型 APP に関しては含むマウスと含まないマウスの 2 種類、mPGES-1 に関してはホモで遺伝子を欠損した KO マウスとヘテロ欠損マウスの 2 種類) を得た。

4) TG2576 マウスの記憶機能に関する行動学的観察

3)で得た 4 種類のマウスの記憶機能については、10~11 ヶ月齢のマウスを用い水迷路課題により、検討した。すなわち、まず、獲得試験として、プールの水面下に踏み台 (ゴール) を設置した後、その反対側に 3 点のスタート位置を設定し、マウスをスタートから放しゴールを見つけるまでの時間と距離を測定した。スタート位置は 3 点の中からランダムに選択し、測定は 1 日に 3 回、5 日間連続で行った。次に、プローブテストとして、5 日間の獲得試験終了後、プールから踏み台 (ゴール) を取り除いた後、マウスを適当な位置から放し、60 秒間自由に泳がせた。コンピューター上でプールを右下のように 4 分割し (スタート位置の近く、ゴール位置の近く、及びそれ以外

2 区分)、それぞれのエリアを泳いだ時間の割合を評価した。



5) マウス胎仔大脳初代培養神経細胞の調製

野生型マウス同士または mPGES-1 遺伝子欠損マウス同士を交配し、妊娠 16.5 日の親マウスの子宮より胎仔を摘出した。この胎仔の大脳の細胞を、神経細胞分散シス

テム (SUMILON) を用い分散した後、分散した細胞をポリリジンコートした dish に播き、神経細胞培養液 (SUMILON) 中 1 週間培養することより大脳初代培養神経細胞を調製した。

6) マウス胎仔由来神経細胞の $A\beta$ 刺激

5) で調製したマウス大脳初代培養神経細胞を、 $30\ \mu\text{M}$ の $A\beta_{31-35}$ あるいは $25\ \mu\text{M}$ の PGE_2 に曝し、細胞数の変化やアポトーシスの誘導、mPGES-1 の発現変化、 PGE_2 産生量を検討した。mPGES-1 の発現は RT-PCR 法あるいは抗 mPGES-1 抗体を用いた細胞免疫染色により検討し、 PGE_2 産生量は EIA 法を用い測定した。細胞の種類は、ニューロン、アストロサイト、それぞれのマーカー蛋白質 MAP2、GFAP に対する抗体により染色し、確認した。

7) $A\beta$ 刺激によるマウス胎仔由来神経細胞のアポトーシスの検討

刺激後の細胞をホルマリン-PBS で固定した後、DeadEnd™ Fluorometric TUNEL System (Promega 社) を使用し、アポトーシスした細胞を TUNEL 染色した。共焦点レーザー顕微鏡を用い、TUNEL 陽性細胞数をカウントし、DNase 処理したポジティブコントロールでの TUNEL 陽性細胞数に対する割合で、アポトーシス誘導の程度を評価した。

8) AD 患者および非 AD 神経疾患患者の尿・血清・脳脊髄液中の PGE_2 の定量

AD 患者 17 例 (年齢 59~90 歳 (平均 80.4 ± 8.9 歳)) および非 AD 神経疾患患者 25 例 (年齢 56~101 歳 (平均 83.6 ± 10.4 歳)) の尿、血清を採取し、Cayman 社の PGE_2 EIA kit により、 PGE_2 量を測定した。さらに、AD 患者 9 例 (年齢 70~89 歳 (平均 81.9 ± 6.6 歳)) の脳脊髄液中の PGE_2 量についても同様に測定した。

(倫理面への配慮)

AD 患者、非 AD 神経疾患患者、対照者の脳の免疫組織学的解析、尿、血清、脳脊髄液中における PGE_2 量の測定においては、医療法人さわらび会福祉村病院、福岡大学医学部において倫理委員会の承認を受け、患者および家族に対するインフォームドコンセントを徹底した。

また、マウスおよびラットを用いた解析においては、昭和大学、福岡大学の実験動物指針に従って実験を行った。

C. 研究結果

1) AD 病巣での mPGES-1 の発現部位の同定および病態との関連

AD、非 AD 神経疾患の患者及び正常対照者の脳組織を用いた免疫組織化学的解析を行ったところ、図 2 に示すように、AD 患者脳の海馬には、非 AD 神経疾患患者やコントロールの対照者に比べて、mPGES-1 の蛋白質が高発現していることが明らかとなった。また、この mPGES-1 の陽性シグナルは、AD の病巣部 (リン酸化 tau の発現部位や老人斑) と重なっており、その発現と AD の特異的病理所見である神経原繊維変化や dystrophic neurite との間に関連が認められた。一方、mPGES-1 以外の PGES (cPGES および mPGES-2) については、その

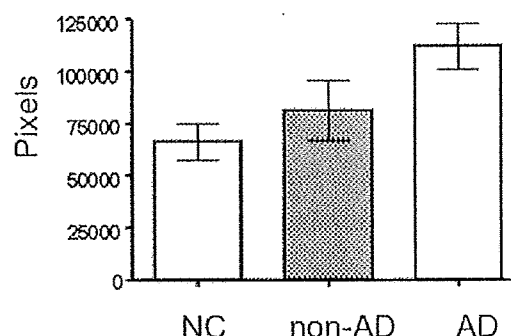


図 2 剖検組織における mPGES-1 蛋白質の発現

発現と病態との間に関連は見られなかった。

さらに、PGESの発現細胞についても検討したところ、mPGES-1は、mPGES-2、cPGESとともにニューロンに発現していることもわかった。mPGES-2の発現はアストロサイトにも認められた。

2) mPGES-1遺伝子欠損下での実験的ADの発症(1) : TG2576マウスを用いた解析

16ヶ月齢のTG2576マウスおよび対照の野生型マウスの脳におけるmPGES-1の発現を免疫組織染色により検討したところ、野生型マウスではmPGES-1蛋白質の発現が認められないにも関わらず、TG2576マウスでは局所的にその発現が認められた。抗A β 抗体82E1との二重染色の結果、このmPGES-1の局所的な発現はA β 沈着部位の周辺であることがわかった。一方、mPGES-1以外のPGES（cPGESおよびmPGES-2）蛋白質は、野生型、TG2576マウス、いずれの脳組織でもその発現が認められた。さらに、PGESの発現細胞についても検討したところ、mPGES-2、cPGESがニューロンに発現しているのに対し、mPGES-1はヒトの場合と異なり、老人斑周辺の一部のアストロサイトにおいて高発現していることを見出した。

次に、このTG2576マウスをmPGES-1遺伝子欠損マウスと交配し、mPGES-1遺伝子欠損TG2576マウスを作製することにより、mPGES-1遺伝子の欠損が、TG2576マウスにおけるAD様症状の発症・進展にどのような影響を及ぼすか、検討した。研究方法3)で述べたように、4種類の遺伝子型をもつマウスを作製したが、PGE₂の産生に関してmPGES-1遺伝子のヘテロ欠損マウスは正常のマウスと差がないため、ここでは、変異型APP遺伝子をもたない

mPGES-1ヘテロ欠損マウスをWTマウス、変異型APP遺伝子をもつmPGES-1ヘテロ欠損マウスをTG2576マウス、変異型APP遺伝子をもたずmPGES-1遺伝子が欠損したマウスをmPGES-1 KOマウス、変異型APP遺伝子をもちかつmPGES-1遺伝子が欠損したマウスをTG2576 x mPGES-1 KOマウスと表記することとし、水迷路課題により、これら4種類のマウスの記憶機能を比較した。

まず、10~11ヶ月齢の各マウスを用い、5日間、プール内のゴールにたどり着くまでの時間、距離、速度を測定することにより、記憶の獲得に違いが見られるかについて検討した。しかし、いずれの群のマウスも5日間のトレーニングによってゴールを見つけるまでの時間と距離が同じように短くなり、今回使用した月齢ではTG2576マウスにおいても学習障害が検出できなかった。

そこで次に、獲得試験より初期の障害を検出できることが報告されているプローブテストを行った。このテストでは、ゴール位置を記憶しているマウスほどゴールエリア付近を長時間泳ぐことになる。図3に示すように、60秒間のうち、ゴールエリアを泳いだ割合が、WTマウスでは約50%であったのに対し、TG2576マウスでは有意にゴールエリアを泳いだ割合が少なかった。さらにTG2576マウスでは逆にスタートエリアを泳いだ割合が多く、記憶障害が生じていることがわかった。一方、TG2576 x mPGES-1 KOマウスは、ゴールエリアを泳いだ割合が低くなる傾向はあったが、WTマウスとの間に有意な差は認められず、mPGES-1遺伝子の欠損によりTG2576の記憶障害が軽減されたと考えられた。

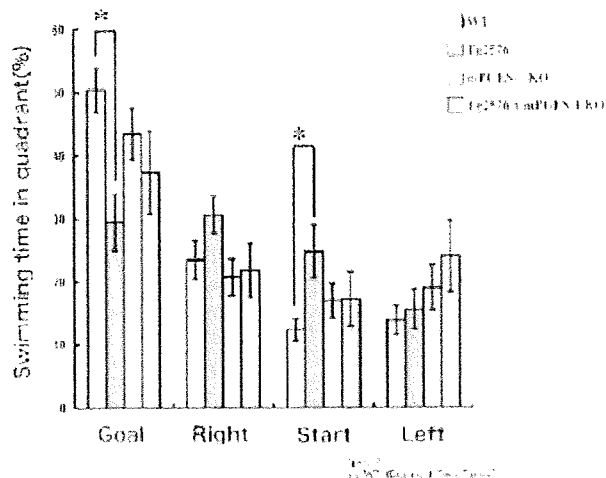


図3 水迷路課題ブローテストにおけるマウスが各エリアを泳いだ時間割合

次に各々のマウスの脳の組織学的検討を行ったところ、TG2576 マウスではA β 沈着部位に関連して mPGES-1 の発現が認められ、その周辺には多くの反応性アストロサイトが集まっており、さらに中心部には肥大化したミクログリアが認められました。一方、TG2576 x mPGES-1 KO マウスでも、A β の沈着は認められ、その周辺にわずかに反応性アストロサイトの存在が確認できたが、TG2576 マウスと比べると有意にその数は減少していた。また、肥大化したミクログリアも認められず、TG2576 マウスで生じる A β 沈着と関連した炎症反応は、mPGES-1 遺伝子の発現がないと抑制されることがわかった。

3) mPGES-1 遺伝子欠損下での実験的ADの発症(2)：マウス胎仔大腦初代培養神経細胞を用いた解析

次に、*in vitro* の系においても、mPGES-1 遺伝子欠損が AD 様症状を軽減するかについて、マウス胎仔大腦由来の初代培養神経細胞を用い解析した。まず、培養神経細胞を A β で刺激した際に mPGES-1 の発現が誘導されるか否か、RT-PCR 法により検

討を行った。その結果、図4に示すように、30 μ M の A β 存在下、培養 48 時間後から顕著な mPGES-1 mRNA 量の増加が観察された。一方、mPGES-1 と同じ誘導型酵素の COX-2 mRNA 量には変化が見られなかった。

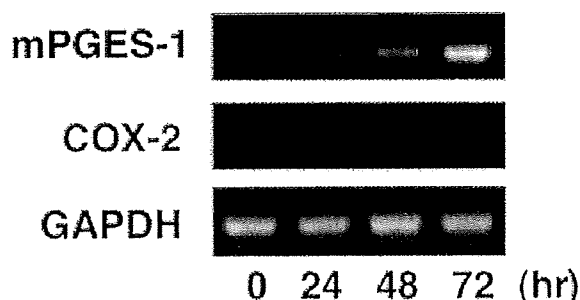


図4 A β 刺激に伴うマウス大腦神経細胞における mPGES-1 mRNA の発現変化

さらに、A β 刺激 72 時間後の細胞を用い、細胞免疫染色により、mPGES-1 発現細胞の同定を行った。mPGES-1 は、MAP2 シグナル陽性のニューロン、GFAP シグナル陽性のアストロサイト、いずれの細胞においても発現誘導されていた。また、mPGES-1 の陽性シグナルは核膜周辺に観察された。

次に、EIA 法により、初代培養神経細胞上清中の PGE₂ 量を測定したところ、A β 刺激 48 時間以降において、mPGES-1 の発現誘導に伴って、有意な PGE₂ 量の増加が観察された (図5上)。一方、mPGES-1 遺伝子欠損マウス胎仔の大腦からも同様に初代培養神経細胞を調製し、A β 刺激を行ったが、PGE₂ 量に変化は見られなかった (図5下)。野生型マウス由来の神経細胞で観察された A β 刺激による PGE₂ 量の増加は、mPGES-1 の発現に起因するものと考えられた。

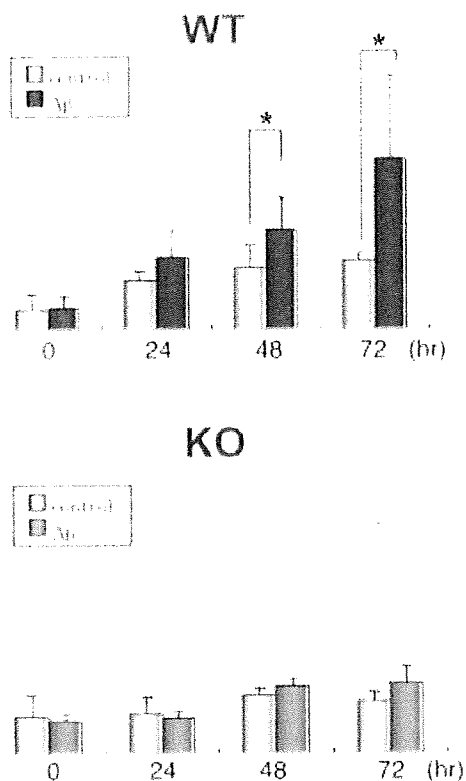


図5 Aβ刺激に伴うマウス大脳神経細胞におけるPGE₂産生量の変化

次に、このときの細胞数の経時的変化についても検討した。野生型マウス大脳より調製した神経細胞は、Aβ非存在下培養すると、培養48時間以降で細胞数の増加が観察されたが、30 μMのAβ存在下では、この細胞数の増加が有意に抑制されていた。Aβ刺激72時間後の細胞を用い、細胞免疫染色により、どのような細胞が増減しているかについても検討したが、Aβ非存在下では、MAP2シグナル陽性のニューロン、GFAPシグナル陽性のアストロサイト、いずれの細胞も増加し、Aβ存在下では、いずれの細胞の増加も抑制された。一方、mPGES-1遺伝子欠損マウス大脳より調製した神経細胞は、Aβ非存在下培養してもほとんど細胞数に変化が観察されなかった。また、72時間後の細胞の免疫染色では、MAP2シグナル陽性のニューロン数は変化せず、GFAPシグナル陽性のアス

トロサイトの若干の増加が見られた。さらに、30 μMのAβ存在下培養すると、非存在下に比べて逆に細胞数が増加する傾向を示した。

さらに、TUNEL アッセイにより、Aβ処理に伴う培養神経細胞の増殖抑制がアポトーシスによるものか、検討したところ、対照マウス由来細胞をAβで72時間処理すると、アポトーシスが誘導されたTUNEL陽性細胞の増加が観察された。一方、mPGES-1遺伝子欠損細胞をAβで処理してもアポトーシスは誘導されなかった(図6)。また、mPGES-1遺伝子欠損細胞をPGE₂単独で72時間処理してもアポトーシスは誘導されなかったが、AβとPGE₂の両方で処理するとアポトーシスが誘導されることもわかった(図7)。Aβによる神経細胞死には、Aβによる直接作用とmPGES-1由来PGE₂を介した間接作用の両者が重要であることが考えられた。mPGES-1遺伝子の発現が神経細胞の増殖、さらにAβによる神経細胞死に関わることを示唆された。

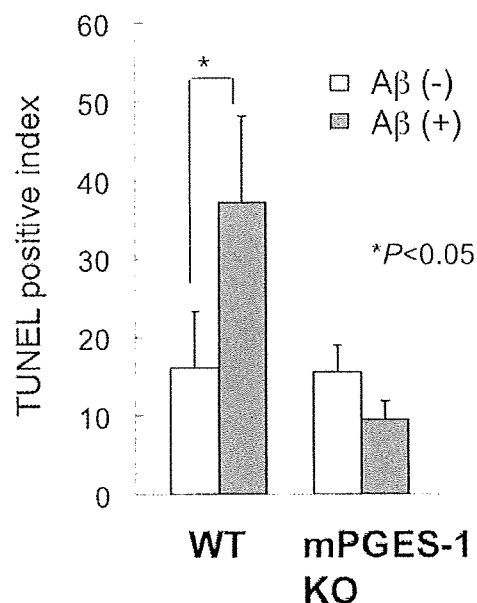


図6 Aβによるマウス初代培養神経細胞のアポトーシスの誘導

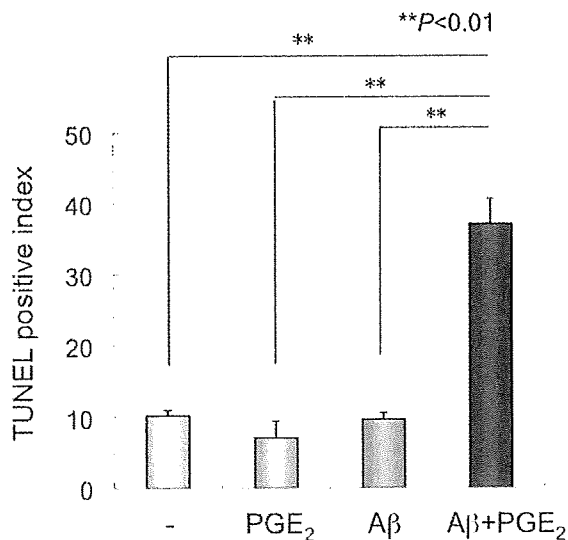


図7 AβおよびPGE₂によるmPGES-1欠損培養神経細胞のアポトーシスの誘導

4) AD 患者試料における PGE₂ 量の変動

さらに、AD 患者および非 AD 神経疾患患者の尿、血清中の PGE₂ 量を測定したところ、AD 患者の尿、血清でそれぞれ 1.06 ± 0.95 ng/ml、 0.90 ± 1.70 ng/ml、非 AD 患者の尿、血清でそれぞれ 0.95 ± 0.55 ng/ml、 0.48 ± 0.90 ng/ml の PGE₂ が検出されたが、個々のばらつきが大きく、両群間で有意な差は認められなかった。また、AD 患者の脳脊髄液中の PGE₂ 量についても測定したが、9 例中 2 例しか PGE₂ は検出できず、その量も 12~17 pg/ml 程度であった。

一方、AD 患者および健常人の尿中における Aβ 量についても検討したところ、AD 患者の尿中には Aβ が存在し、この Aβ 量は AD の症状が中程度の時に高く、症状が重くなると減少することを見出した。

B. 考察

本研究により、まず、AD 患者脳の海馬では mPGES-1 蛋白質が高発現していること、AD 患者の脳におけるこの mPGES-1 の発現が AD の特異的病理像と重なることが明らかとなった。さらに、AD のモデ

ルマウスである TG2576 マウスにおいても、野生型マウスに見られない mPGES-1 蛋白質が老人斑周辺のアストロサイトにおいて高発現していることが示された。これらの結果から、AD 患者の脳では、mPGES-1 の発現が亢進し、その結果産生が増大した PGE₂ が、AD 進行に何らかの形で関与している可能性が考えられた。

実際に、mPGES-1 遺伝子欠損 TG2576 マウスを作製し解析したところ、TG2576 マウスで観察される AD 様の症状が mPGES-1 の遺伝子欠損により減弱することを示すことができた。ヒト変異型 APP を高発現する TG2576 マウスでは、加齢に伴い脳内に Aβ が沈着し、神経細胞死は起きないものの、記憶機能が低下することが示されている。解析の結果、mPGES-1 の遺伝子を欠損させると、TG2576 マウスで見られる脳内への Aβ の沈着には影響が見られないものの、Aβ 沈着部位への活性化グリアの集積が抑えられ、さらに記憶機能低下も抑制されることが明らかとなった。mPGES-1 に依存し産生された PGE₂ がミクログリアを活性化し、この活性化したミクログリアが AD 様病態の進行においてきわめて重要な役割を果たしていることが予想された。また、これまでに、PGE₂ 受容体の EP2、EP4 が Aβ 産生に関わることが報告されている (Hoshino et al. (2007)) が、TG2576 マウスで見られる脳内への Aβ の沈着には mPGES-1 の遺伝子欠損が影響を及ぼさなかったことから、mPGES-1 に依存し産生される PGE₂ の Aβ 産生への寄与は小さいものと考えられた。

さらに本研究では、マウス胎仔大脳由来初代培養神経細胞を用い、Aβ 刺激により、ニューロン、アストロサイトサイトいずれの細胞においても、*in vitro* で mPGES-1 の発

現誘導が起こることを明らかにした。これまで我々は、IL-1/TNF といった炎症性サイトカインや発癌プロモーターTPA による mPGES-1 の発現誘導には、Egr-1 という転写因子が関わることを明らかにしてきた (Naraba et al. (2002)) が、A β 刺激による mPGES-1 の誘導には、IL-1/TNF や TPA による誘導によるものに比べかなり長い誘導までのラグを必要とし、Egr-1 を介する機構とは異なる分子機構が関わる可能性が強い。この A β 刺激による mPGES-1 の誘導機構については今後詳細に検討していきたい。

さらに、このマウス大脳初代神経細胞を用いた解析では、A β による神経細胞のアポトーシスが mPGES-1 遺伝子の欠損により抑制されることも明らかとなった。これまでに、ミクログリアに存在する PGE₂ 受容体 EP2 の活性化が、A β によるニューロンの細胞死において重要であることが示されている (Shie et al. (2005))。また、AD のモデルマウスを用い、EP2 が脳内における病態時の酸化ストレスの亢進に関与しているという報告もある (Liang et al. (2005))。A β 刺激に伴いニューロンやアストロサイトで誘導された mPGES-1 に依存し産生された PGE₂ が、EP2 受容体を介しミクログリアを活性化し、このミクログリアがケモカイン分泌等により炎症反応、それに引き続く酸化ストレスを亢進し、神経細胞のアポトーシスを引き起こした可能性が考えられる。しかし一方で、ミクログリアの活性化は AD の初期段階においては、A β を消去することにより、AD の進行抑制にも関わることを示されている (El Khoury and Luster (2008))。今後は、ミクログリアの活性化をどのタイミングで止めることが有効かについても解析する必要

があると考えられる。

さらに本研究では、AD 患者および非 AD 神経疾患患者より得られた尿、血清、脳脊髄液中の PGE₂ 量を測定した。しかし、いずれの試料においても、検体数が少ないためか、個々のばらつきが大きく、AD 患者と非 AD 患者の間で PGE₂ 量に有意な差は認められなかった。一方本研究では、AD 患者尿中の A β 量は AD の症状が中程度の時に高く、症状が重くなると逆に減少することを見出している。今後はさらに AD 患者の検体数を増やし、AD の進行度合と PGE₂ 量との関係について検討することを計画している。

C. 結論

本年度の解析により、mPGES-1 の遺伝子欠損により AD 様症状が抑制されることが、*in vivo*、*in vitro*、いずれの系においても示された。この結果は、mPGES-1 阻害剤が AD に対し有効である可能性を強く示している。今後は、AD 進行に mPGES-1 がいかなる分子機構により関与するかをより詳細に検討していきたいと考えている。また、mPGES-1 の阻害剤がどのような副作用を起こし得るかについての解析も重要であると考えている。

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

1. 論文発表

- (1) 中谷良人、亀井大輔、工藤一郎 PGE₂ 合成酵素の新展開 細胞工学 26, 1227-1230 (2007. 11)
- (2) 亀井大輔、工藤一郎、村上誠 COX-2 の下流で機能する膜結合型 PGE 合成酵

素 (mPGES-1) 治療学 41, 1236-1240 (2007. 12)

(3) Manabu Takata, Manabu Nakashima, Taro Takehara, Hideyo Baba, Kazuyuki Machida, Yoshiharu Akitakae, Kazuhiko Ono, Masato Hosokawa and Mitsuo Takahashi. Detection of amyloid β protein in the urine of Alzheimer's disease patients and healthy individuals. *Neurosci. Lett.* 435, 126-130 (2008. 4)

(4) Motoharu Sakaue, Naoko Mori, Maiko Okazaki, Mayuka Ishii, Yayoi Inagaki, Yuka Iino, Kiyomi Miyahira, Mai Yamamoto, Takeshi Kumagai, Shuntaro Hara, Masako Yamamoto and Kazuyoshi Arishima. Involvement of independent mechanism upon poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) activation in methylmercury cytotoxicity in rat cerebellar granule cell culture. *J. Neurosci. Res.* 86, 3427-3434 (2008.11)

(5) Motoharu Sakaue, Naoko Mori, Misato Makita, Kana Fujishima, Shuntaro Hara, Kazuyoshi Arishima and Masako Yamamoto. Acceleration of methylmercury-induced cell death of rat cerebellar neurons by grain-derived neurotrophic factor in vitro. *Brain Res.* 1273, 155-162 (2009. 6)

(6) Daisuke Kamei, Makoto Murakami, Yuka Sasaki, Yoshihito Nakatani, Masataka Majima, Yukio Ishikawa, Toshiharu Ishii, Satoshi Uematsu, Shizuo Akira, Shuntaro Hara and Ichiro Kudo. Microsomal prostaglandin E synthase-1 in both cancer cells and hosts contribute to tumor growth, invasion and metastasis. *Biochem. J.* 425, 361-371 (2010. 1)

(7) Shuntaro Hara, Daisuke Kamei, Yuka Sasaki, Akemi Tanemoto, Yoshihito Nakatani and Makoto Murakami. Prostaglandin E synthases: Understanding their pathophysiological roles through mouse genetic models. *Biochimie* in press.

(8) Yoshiharu Akitake, Yukiko Kuroki, Yuka Sasaki, Masato Hosokawa, Daisuke Kamei, Hiroyasu Akatsu, Satoshi Uematsu, Shizuo Akira, Yoshihito Nakatani, Ichiro Kudo, Shuntaro Hara and Mitsuo Takahashi. Microsomal prostaglandin E synthase-1 deficiency attenuates neuronal cell death and mitigates Alzheimer's disease-like pathology in a mouse model. 投稿中

2. 学会発表

[国際学会]

(1) Shuntaro Hara, Yukihiro Kondo, Masaharu Mita, Ryosuke Nakamura, Takayuki Maruyama, Shuh Narumiya and Ichiro Kudo. Role of prostaglandin E_2 receptor EP1 in bladder carcinogenesis. 10th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases (2007. 09)

(2) Daisuke Kamei, Makoto Murakami, Yoshihito Nakatani, Shuntaro Hara and Ichiro Kudo. Role of microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) in tumor growth and metastasis. 10th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases (2007. 09)

(3) Shuntaro Hara. Role of proinflammatory prostaglandin E_2 in bladder tumor progression. The 4th Annual Meeting Showa International Symposium for Life

Sciences (2007. 10)

(4) Miwa Okazaki, Yoshiharu Akitake, Kazuhiko Ono, Masato Hosokawa and Mitsuo Takahashi. Biomodal effect of PGE₂ in different cell environments of rat primary cultured hippocampal cells. Neuroscience 2007, Society for Neuroscience 37th Annual Meeting (2007. 11)

(5) Shuntaro Hara. Role of microsomal prostaglandin E synthase-1 in Alzheimer's disease pathology. 4th International Conference on Phospholipase A₂ and Lipid Mediators (PLM2009) (2009. 5)

(6) Yuka Sasaki, Daisuke Kamei, Yukio Ishikawa, Toshiharu Ishii and Shuntaro Hara. Role of microsomal prostaglandin E synthase (mPGES-1) in chemical carcinogen-induced colon carcinogenesis. 4th International Conference on Phospholipase A₂ and Lipid Mediators (PLM2009) (2009. 5)

(7) Shuntaro Hara and Yukiko Kuroki. Pathological roles of microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) in Alzheimer's disease. 50th International Conference on the Bioscience of Lipids (ICBL2009) (2009. 9)

(8) Yuka Sasaki, Daisuke Kamei, Yukio Ishikawa, Toshiharu Ishii and Shuntaro Hara. Microsomal prostaglandin E synthase (mPGES-1) deficiency suppresses chemical carcinogen-induced colon carcinogenesis. 50th International Conference on the Bioscience of Lipids (ICBL2009) (2009. 9)

(9) Shuntaro Hara, Yoshiharu Akitake, Yukiko Kuroki, Yuka Sasaki, Daisuke

Kamei and Mitsuo Takahashi. Involvement of microsomal prostaglandin E Synthase-1 (mPGES-1) in Alzheimer's disease. 11th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases (2009. 10)

[国内学会]

(1) 黒澤まみ、亀井大輔、佐々木由香、林寛子、中谷良人、原俊太郎、工藤一郎 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) のがん悪性化への関与 第 51 回日本薬学会関東支部大会 (2007. 10)

(2) 小松智子、黒木由紀子、原俊太郎、近藤幸尋、工藤一郎 膀胱癌悪性化におけるプロスタグランジン E₂ 受容体 EP1 の役割の検討 第 51 回日本薬学会関東支部大会 (2007. 10)

(3) 亀井大輔、佐々木由香、黒澤まみ、林寛子、中谷良人、原俊太郎、工藤一郎 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) による悪性形質転換機構の解析 BMB2007 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会 (2007. 12)

(4) 黒澤まみ、亀井大輔、佐々木由香、林寛子、中谷良人、原俊太郎、工藤一郎 がん細胞及び宿主における膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) のがん増殖への関与 BMB2007 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会 (2007. 12)

(5) 富岡陽子、町田和之、細川雅人、小野和彦、William Campbell、中島学、高橋三津雄 合成アミリンに対する凝集阻害候補物質の探索とスクリーニング 日本薬学会第 128 年会 (2008. 3)

(6) 土師将裕、秋武義治、前田達宏、岡崎美和、小野和彦、細川雅人、亀井大輔、原俊太郎、工藤一郎、高橋三津雄 アルツハイマー病モデルマウスの病態形成におけるプロスタグランジン E₂ 合成酵素の関与 日本薬学会第 128 年会 (2008. 3)

(7) 橋口知加子、町田和之、松本敦子、秋武義治、小野和彦、細川雅人、中島学、高橋三津雄 合成アミロイド β 蛋白の高次構造と生理活性の経時的観察 日本薬学会第 128 年会 (2008. 3)

(8) 小松智子、原俊太郎、丸山隆幸、近藤幸尋、工藤一郎 膀胱癌細胞の低酸素応答性転写因子 HIF-1 の発現に及ぼすプロスタグランジン E₂ の影響 日本薬学会第 128 年会 (2008. 3)

(9) 黒木由紀子、亀井大輔、原俊太郎、工藤一郎 培養神経細胞における炎症性刺激による膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 1 の発現誘導 日本薬学会第 128 年会 (2008. 3)

(10) 黒澤まみ、亀井大輔、佐々木由香、林寛子、中谷良人、原俊太郎、工藤一郎 がん細胞及び宿主における膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) のがん増殖への関与 日本薬学会第 128 年会 (2008. 3)

(11) 佐々木由香、亀井大輔、黒澤まみ、林寛子、中谷良人、石川由起雄、石井壽晴、原俊太郎、工藤一郎 大腸化学発がんモデルにおける膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の役割 日本薬学会第 128 年会 (2008. 3)

(12) 林寛子、亀井大輔、佐々木由香、中谷良人、原俊太郎 プロスタグランジン E 合成酵素の胃粘膜保護作用への関与

の解析 第 52 回日本薬学会関東支部大会 (2008. 10)

(13) 佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、石井壽晴、原俊太郎 マウス大腸化学発がんモデルにおける膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の役割 フォーラム 2008: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2008. 10)

(14) 黒木由紀子、亀井大輔、原俊太郎、工藤一郎 マウス脳初代培養細胞における膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 1 の発現誘導 BMB2008 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (2008. 12)

(15) 亀井大輔、大林真幸、保田晶子、山元俊憲、原俊太郎、増田豊 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の肺線維化への関与の解析 BMB2008 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (2008. 12)

(16) 佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、石井壽晴、原俊太郎、工藤一郎 マウス大腸化学発がんモデルにおける膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の役割 BMB2008 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (2008. 12)

(17) 林寛子、亀井大輔、中谷良人、原俊太郎、工藤一郎 プロスタグランジン合成酵素(PGES)の胃粘膜保護作用への関与の解析 BMB2008 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (2008. 12)

(18) 佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、石井壽晴、原俊太郎 マウス大腸における化学発がんへの膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の関

与 日本薬学会第 129 年会 (2009. 3)

(19) 林寛子、亀井大輔、佐々木由香、中谷良人、工藤一郎、原俊太郎 プロスタグランジン E 合成酵素の胃粘膜保護作用への関与の解析 日本薬学会第 129 年会 (2009. 3)

(20) 黒木由紀子、亀井大輔、工藤一郎、原俊太郎 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 1 欠損が神経細胞死に及ぼす影響 日本薬学会第 129 年会 (2009. 3)

(21) 上山修平、上山梓、佐々木由香、原俊太郎 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素-1/プロスタサイクリン合成酵素ダブルノックアウトマウスの作製とその性状解析 第 53 回日本薬学会関東支部大会 (2009. 10)

(22) 佐々木由香、亀井大輔、石川由起雄、石井壽晴、原俊太郎 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の欠損によるプロスタグランジン産生バランスの変化に伴う発がん抑制作用 第 82 回日本生化学会大会 (2009. 10)

(23) 黒木由紀子、畠山里美、佐々木由香、亀井大輔、中谷良人、原俊太郎 β アミ

ロイドによる神経細胞死における膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素-1 の機能解析 フォーラム 2009: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2009. 11)

(24) 上山修平、上山梓、佐々木由香、原俊太郎 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素-1/プロスタサイクリン合成酵素ダブルノックアウトマウスの作製とその性状解析 フォーラム 2009: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2009. 11)

(25) 佐々木由香、亀井大輔、松本このみ、石川由起雄、石井壽晴、原俊太郎 マウス大腸における化学発がんへの膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 (mPGES-1) の関与 第 8 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフィォーラム 2009 (2009. 11)

(26) 原俊太郎、亀井大輔、佐々木由香、中谷良人 膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素 mPGES-1 は新たな創薬の標的となりうるか 日本薬学会第 130 年会 (2010. 3)

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

《参考文献》

- Echeverria, V., Clerman, A. and Doré, S. (2005) Stimulation of PGE₂ receptors EP2 and EP4 protects cultured neurons against oxidative stress and cell death following β -amyloid exposure. *Eur. J. Neurosci.* 22, 2199-2206.
- El Khoury, J. and Luster, A.D. (2008) Mechanisms of microglial accumulation in Alzheimer's disease: therapeutic implications. *Trends Pharmacol. Sci.* 29, 626-632.
- Farkas, I., Takahashi, M., Fukuda, A., Yamamoto, N., Akatsu, H., Baranyi, L., Tateyama, H., Yamamoto, T., Okada, N. and Okada, H. (2003) Complement C5a receptor-mediated signaling may be involved in neurodegeneration in Alzheimer's disease. *J. Biol. Chem.* 278, 5764-5771.
- Hara, S. and Kudo, I. (2006) COX-2 inhibitors and the risk of cardiovascular events. *Jpn. Med. Assoc. J.* 49, 276-278.
- Hara, S., Kamei, D., Sasaki, Y., Tanemoto, A., Nakatani, Y. and Murakami, M. (2010) Prostaglandin E synthases: understanding their pathophysiological roles through mouse genetic models. *Biochimie* in press.
- Hoshino, T., Nakaya, T., Homan, T., Tanaka, K., Sugimoto, Y., Araki, W., Narita, M., Narumiya, S., Suzuki, T. and Mizushima, T. Involvement of prostaglandin E₂ in production of amyloid- β peptides both *in vitro* and *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 282, 32676-32688.
- Ikedo-Matsuo, Y., Ota, A., Fukada, T., Uematsu, S., Akira, S. and Sasaki, Y. (2006) Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a critical factor of stroke-reperfusion injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 11790-11795.
- Kamei, D., Murakami, M., Nakatani, Y., Ishikawa, Y., Ishii, T. and Kudo, I. (2003) Potential role of microsomal prostaglandin E synthase-1 in tumorigenesis. *J. Biol. Chem.* 278, 19396-19405.
- Kamei, D., Yamakawa, K., Takegoshi, Y., Mikami-Nakanishi, M., Nakatani, Y., Oh-ishi, S., Yasui, H., Azuma, Y., Hirasawa, N., Ohuchi, K., Kawaguchi, H., Ishikawa, Y., Ishii, T., Uematsu, S., Akira, S., Murakami, M. and Kudo, I. (2004) Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin E synthase-1. *J. Biol. Chem.* 279, 33684-33695.
- Kamei, D., Murakami, M., Sasaki, Y., Nakatani, Y., Majima, M., Ishikawa, Y., Ishii, T., Uematsu, S., Akira, S., Hara, S. and Kudo, I. (2010) Microsomal prostaglandin E synthase-1 in both cancer cells and hosts contribute to tumor growth, invasion and metastasis. *Biochem. J.* 425, 361-371.
- Kubota, K., Kubota, T., Kamei, D., Murakami, M., Kudo, I., Aso, T. and Morita, I. (2005) Change in prostaglandin E synthases (PGEs) in microsomal PGES-1 knockout mice in a preterm delivery model. *J. Endocrinol.* 187, 339-345.
- Liang, X., Wang, Q., Hand, T., Wu, L., Breyer, R.M., Montine, T.J. and Andreasson, K. (2005) Deletion of the prostaglandin E₂ EP2 receptor reduces oxidative damage and amyloid burden in a model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 25, 10180-10187.
- McCullough, L., Wu, L., Haughey, N., Liang, X., Hand, T., Wang, Q., Breyer, R.M. and Andreasson, K. (2004) Neuroprotective function of the PGE₂ receptor in cerebral ischemia. *J. Neurosci.* 24, 257-268.
- McGeer, P.L. and McGeer, E.G. (2007) NSAIDs and Alzheimer disease: Epidemiological, animal model and clinical studies. *Neurobiol. Aging* 28, 639-647.

- Montine, T.J., Sidell, K.R., Crews, B.C., Markesbery, W.R., Marnett, L.J., Roberts, L.J. 2nd and Morrow, J.D. (1999) Elevated CSF prostaglandin E₂ levels in patients with probable AD. *Neurology* 53, 1495-1498.
- Murakami, M., Naraba, H., Tanioka, T., Semmyo, N., Nakatani, Y., Kojima, F., Ikeda, T., Fueki, M., Ueno, A., Oh-ishi, S. and Kudo, I. (2000) Regulation of prostaglandin E₂ biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E₂ synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2. *J. Biol. Chem.* 275, 32783-32792.
- Naraba, H., Yokoyama, C., Tago, N., Murakami, M., Kudo, I., Fueki, M., Oh-ishi, S. and Tanabe, T. (2002) Transcriptional regulation of the membrane-associated prostaglandin E₂ synthase gene: Essential role of the transcription factor Egr-1. *J. Biol. Chem.* 277, 28601-28608.
- Pasinetti, G.M. and Aisen, P.S. (1998) Cyclooxygenase-2 expression is increased in frontal cortex of Alzheimer's disease brain. *Neuroscience* 87, 319-324.
- Satoh, K., Nagano, Y., Shimomura, C., Suzuki, N., Saeki, Y. and Yokota, H. (2000) Expression of prostaglandin E synthase mRNA is induced in β -amyloid treated rat astrocytes. *Neurosci. Lett.* 283, 221-223.
- Shie, F.S., Breyer, R.M. and Montine, T.J. (2005) Microglia lacking E prostanoid receptor subtype 2 have enhanced A β phagocytosis yet lack A β -activated neurotoxicity. *Am. J. Pathol.* 166, 1163-1172.
- Yamakawa, K., Kamekura, S., Kawamura, N., Saegusa, M., Kamei, D., Murakami, M., Kudo, I., Uematsu, S., Akira, S., Chung, U.I., Nakamura, K. and Kawaguchi, H. (2008) Association of microsomal prostaglandin E synthase 1 deficiency with impaired fracture healing, but not with bone loss or osteoarthritis, in mouse models of skeletal disorders. *Arthritis Rheum.* 58, 172-183.

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
中谷良人、亀井大輔、工藤一郎	PGE ₂ 合成酵素の新展開	細胞工学	26 (11)	1227- 1230	2007
亀井大輔、工藤一郎、村上誠	COX-2 の下流で機能する膜結合型 PGE 合成酵素 (mPGES-1)	治療学	41 (12)	1236- 1240	2007
Manabu Takata, Manabu Nakashima, Taro Takehara, Hideyo Baba, Kazuyuki Machida, Yoshiharu Akitakae, Kazuhiko Ono, Masato Hosokawa, Mitsuo Takahashi	Detection of amyloid β protein in the urine of Alzheimer's disease patients and healthy individuals.	Neuroscience Letters	435 (2)	126-130	2008
Motoharu Sakaue, Naoko Mori, Maiko Okazaki, Mayuka Ishii, Yayoi Inagaki, Yuka Iino, Kiyomi Miyahira, Mai Yamamoto, Takeshi Kumagai, Shuntaro Hara, Masako Yamamoto, Kazuyoshi Arishima.	Involvement of independent mechanism upon poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) activation in methylmercury cytotoxicity in rat cerebellar granule cell culture.	Journal of Neuroscience Research	86 (15)	3427- 3434	2008
Motoharu Sakaue, Naoko Mori, Misato Makita, Kana Fujishima, Takeshi Kumagai, Shuntaro Hara, Kazuyoshi Arishima, Masako Yamamoto.	Acceleration of methylmercury-induced cell death of rat cerebellar neurons by brain-derived neurotrophic factor in vitro.	Brain Research	1273	155-162	2009