

带状疱疹ワクチン開発のための疫学研究

所 属 独立行政法人 医薬基盤研究所
研究代表者 山西 弘一

研究要旨 带状疱疹の発症頻度、発症者の痛みの程度と持続時間、水痘带状疱疹ウイルス (VZV) に対する細胞生免疫と液性免疫の相関、生活習慣や社会的心理的要因と带状疱疹の相関についての疫学研究調査を行い、带状疱疹の発症率 1.04%や加齢による VZV 特異的な細胞性免疫応答の減少等が明らかになった。

研究分担者

- | | |
|-------------------|-------|
| (1) 大阪大学大学院医学系研究科 | 磯 博康 |
| (2) 独立行政法人医薬基盤研究所 | 森 康子 |
| (3) 奈良県立医科大学 | 浅田 秀夫 |
| (4) 財団法人阪大微生物病研究会 | 奥野 良信 |

A. 研究目的

带状疱疹について、米国では水痘ワクチンの力価を高めたワクチンを用いて、大規模臨床試験 (M. N. Oxman, et al.) が行なわれ、その結果を基に同ワクチンが带状疱疹ワクチンとして承認されている。また、ACIP (米国予防接種勧告委員会) も 60 歳以上の人への带状疱疹ワクチン接種を推奨している。

一方国内では、带状疱疹発症の詳細な疫学研究は無く、水痘ワクチンを高齢者に接種すると水痘带状疱疹ウイルス (VZV) に対する細胞性免疫の増強効果が解明された (平成 12 年厚生科学研究費補助金带状疱疹神経痛の予防を目的とする成人高齢者への水痘ワクチン接種による免疫増強に関する研究)。しかし、細胞性免疫の程度と带状疱疹発症の相関や免疫持続期間については検証されていない。

本研究では、将来の带状疱疹ワクチン開発のための基礎的な検討を行うため、香川県小豆郡における 50 歳以上の住民 17,323 人 (平成 20 年 10 月 1 日時点) のうち本研究に登録した方を対象に、带状疱疹の発生頻度と発症者における痛みの程度と持続期間、生活習慣及び社会心理的要因と細胞性免疫の程度及び带状疱疹発症との関係、VZV に対する免疫

の程度と带状疱疹発症の相関、細胞性免疫と液性免疫の各種抗体価の相関、及び免疫持続期間について、3 年間のプロスペクティブな疫学調査を行う。推進体制は「带状疱疹疫学研究の体制図」参照。

B. 研究方法

本疫学研究の規模および研究テーマは、以下の通りである。

1. 本疫学研究の対象者と目標登録者数
本疫学研究対象者は、香川県小豆郡在住の 50 歳以上の男女 17,323 人 (平成 20 年 10 月 1 日時点) であり、対象者の 69.3% に当たる 12,000 人を目標登録者数とした。
2. 研究テーマの内容について
 - 1) テーマ A (目標登録者数 12,000 人以上)
電話による聞き取り調査。
 - 2) テーマ B (目標登録者数 5,000 人以上)
水痘皮内反応による細胞性免疫の測定
 - 3) テーマ C (目標登録者数 200~300 人)
 - (1) 水痘皮内反応及び ELISPOT 法による細胞性免疫の測定 (登録時、1 年後、2 年後に測定)
 - (2) gp-ELISA 価測定法、中和抗体価測定法、IAHA 価測定法による VZV に対する液性免疫の測定 (登録時、1 年後、2 年後に測定)
 - 4) 発症時の調査及び回復時の調査
 - (1) 臨床症状の調査 (発症時、回復時に実施)

- (2) 患部写真撮影（発症時、回復時に実施）
- (3) 帯状疱疹患部からの採材によるPCR試験及びウイルス分離によるウイルス同定試験（発症時に実施）
- (4) gp-ELISA価測定法、中和抗体価測定法、IAHA価測定法によるVZVに対する液性免疫の測定（発症時、回復時に測定）
- (5) 痛みの調査（発症時から痛み消失まで、最長6ヶ月間実施）
- 5) 細胞性免疫と液性免疫の関係及び免疫持続期間の調査
- 6) 帯状疱疹重症度評価と細胞性免疫の程度との相関の検討
発症時調査のPCR試験でVZV陽性であった帯状疱疹発症者について、臨床症状の調査票及び臨床写真情報に基づき、帯状疱疹重症度を評価した。さらに疼痛の程度を経時的に調査した。登録時の細胞性免疫の程度（水痘皮内反応）と皮疹の重症度・疼痛の程度との相関について検討
- 7) 帯状疱疹の発生頻度と発症者における痛みの程度と持続時間の調査
- 8) 細胞性免疫と液性免疫の関係及び免疫持続時間の調査
- 9) 生活習慣・社会心理的要因・VZVに対する細胞性免疫の程度と帯状疱疹発症の関係に関する調査
（横断研究）：過去帯状疱疹罹患歴の有無を問診にて把握し、健康に関するアンケート調査によって得られた基礎疾患、喫煙、飲酒、家族歴、食生活、ストレスなどの身体的因子、生活習慣及び社会心理的因子、全31因子との関連を検討した。解析は帯状疱疹罹患歴を目的変数とし、上記31因子を説明変数として、ロジスティック回帰分析を行った。この際、評価水準を3以上の因子については2水準に再設定し、年齢と性別は交絡因子として調整した。また男女別に解析を行った。
（縦断研究）：健康に関するアンケート調査

及び皮内反応検査時をベースラインとして、その後1年間における帯状疱疹発症の有無（PCR試験によりVZV検出例187名を帯状疱疹発症と定義した。）とベースライン時における身体的因子、生活習慣集会及び社会心理的因子、全31因子との関連を前向きに検討し、帯状疱疹発症に関連する危険因子を検討した。解析は発症の有無を目的変数とし、健康に関する31因子を説明変数として、ロジスティック回帰分析を行った。この際、評価水準が3以上の因子については2水準に再設定し、年齢と性別は交絡因子として調整した。また、男女別に解析を行った。

【研究倫理面への配慮】

本研究は、臨床研究に関する倫理指針を遵守し、各研究期間における倫理委員会において承認を得た上で研究を行った。研究対象者に対しての個人の不利益、危険性が伴わないように配慮し、また研究の目的、個人の不利益、危険性に対しては十分に説明し、各研究機関の倫理委員会によって承認されたインフォームドコンセントにサイン或いは捺印を得た上で研究を行った。

我々が取り扱うデータは全て匿名化されており、個人を特定できない。

「帯状疱疹ワクチン開発のための疫学研究」は、（独）医薬基盤研究所の倫理委員会（山西、森）（H20年11月11日）、（財）阪大微生物病研究会（奥野）の倫理委員会（H20年8月23日）、奈良県立医科大学の倫理委員会（浅田）（H20年12月12日）及び大阪大学の倫理委員会（磯）（H21年2月12日）で承認を得た。

C. 研究結果

（平成22年12月31日時点）

1. 登録対象者17,323人のうち、12,522人（72.3%）が登録を行った。テーマ別では、テーマA：12,522人（達成率104.4%）、テーマB：5,685人（達成率113.7%）、テーマC：365人（達成率

121.7%)であった。

調査の平均期間は525.5日、最長742日、最短427日であり、期間中の脱落者は251人であった。

2. 医療機関において、「带状疱疹」または「带状疱疹疑い」と診断された発症者の患部から生体試料を採取し、PCR試験を実施したところ、265例中187例からVZV特異的なDNAが検出された。PCR試験に基づく带状疱疹の年間発症率は、1.04%であった。

また、性別及び年齢階層別に带状疱疹の発症率を比較すると、性別では男性(年間0.84%)よりも女性(年間1.20%)が带状疱疹の発症率が高く、年齢階層別では高齢になるほど、带状疱疹の発症率が高くなる傾向が見られた。

性別・年齢階層別(50代、60代、70代、80歳以上に分類)の带状疱疹発症者数及び年間発症率を表1に示す。

带状疱疹発症の季節性を検討したところ、発症は冬に最も少なく、春から徐々に増加し、夏ピークを迎え、冬に向けて徐々に減少する傾向が見られた。この結果は、冬から春に流行のピークを迎える水痘と相反していた。

带状疱疹の発症率の月別分布を図1に四半期別分布及び小豆郡における水痘発生数を図2に示す。

3. 登録時に実施した水痘皮内反応の結果をもとに、5mmを基準に陽性群と陰性群の2群での発症リスクを比較したところ、陰性群の带状疱疹発症リスクは陽性群よりも4.19倍高かった。

また、紅斑10mm以上の者を陽性、5mm未満の者を陰性とする、陰性群の発症リスクは陽性群よりも5.69倍高かった。

4. テーマCの登録者365人のうち338人に対して、登録から1年後に水痘皮内反応を実施したところ、紅斑長径(mm)の平均値は、15.12、中央値は、15.02、標準偏差は11.40であった。紅斑長径が5mm以上の者は269人、5mm未満の者は69人であった。

性別・年齢階層別の登録から1年後の水痘皮内反応結果について、登録者数及び紅斑・浮腫の

長径・短径を表2に示す。また、年齢階層別での紅斑長径の代表値の分布を図3に示す。同様に浮腫について図4に示す。

紅斑、浮腫ともに、高齢の群ほど長径が小さい経口があった。

5. テーマCの登録者338人から、登録から1年後に採取した血液検体を用いて試験を行ったところ、gp-ELISA抗体価(Log_{10})の平均値は3.80、標準偏差0.37であった。テーマC登録者のうち、311人のIAHA抗体価(Log_2)の平均値は5.56、標準偏差は1.52であった。

性別でのgp-ELISA及びIAHAの平均値及び標準偏差の分布比較を図5に、同様に年齢階層別での分布比較を図6に示す。

gp-ELISA及びIAHAの値に、性別による差は無かった。また、gp-ELISA及びIAHAは、高齢の群ほど高い傾向を示した。

6. 重症度と細胞性免疫の相関についての検討:登録時に皮内テストを実施したテーマB、C登録者のうち、PCR試験でVZV陽性となった带状疱疹発症者は85人であった。この85人について、臨床症状の調査票及び臨床写真より、①紅斑の神経分節における面積比、②水疱・びらんの数、③潰瘍の有無、④融合水疱の有無、⑤皮疹が出現した神経分節数に基づいてスコア化し、带状疱疹の重症度を判定し、この重症度と登録時の細胞性免疫(水痘皮内反応)との相関を検討した。その結果、表3の如く、細胞性免疫の程度が弱いグループほど、重症度スコアが高いことが判明した。

7. 疼痛と細胞性免疫の相関についての検討:PCR試験でVZV陽性であった带状疱疹発症者のうち疼痛調査が可能であった77例について、疼痛の程度の経時変化をグラフ表し、このグラフに基づいて疼痛スコア(AUC: area under curve)を求め、登録時の細胞性免疫(水痘皮内反応)との相関した結果、表4の如く、細胞性免疫の程度が弱いグループほど、疼痛スコアが高いことが判明した。

8. 健常人ボランティアにおけるVZV特異的な細胞

性免疫応答について、水痘抗原皮内テストおよびIFN- γ ELISPOTテストを行った。両者の測定値間の相関性をピアソンの相関係数の検定により行ったところ、相関係数が0.23と弱いながらも正の相関性を示した(図7)。一方、それぞれの測定方法で行った細胞性免疫応答の測定結果とgpELISA法による体液性免疫応答の測定結果との相関について検討したが、いずれの場合においても正の相関は認められなかった(図8)。

図9に示すように、水痘皮内テスト、IFN- γ ELISPOTテスト双方において、加齢による測定値の低下の傾向が認められた。

帯状疱疹を発症した129名について、発症直後および発症3カ月後のVZV特異的な免疫応答について比較検討を行った。IFN- γ ELISPOTの測定値を指標とした細胞性免疫応答については、発症直後および発症3カ月後の各測定値の分布に大きな変化は見られなかったが(図10)、gpELISAの測定値を指標とした体液性免疫応答については、発症直後よりも発症3カ月後の方が増強の方向にシフトしていた(図11)。

9. 帯状疱疹発症時での細胞性免疫応答の変化について調べたところ、全体としては、発症直後の細胞性免疫応答は健常人と比べて高い傾向を示すことを確認している。しかし、発症3ヶ月後の細胞性免疫応答は、発症直後の場合とほとんど変化がなかったことから、帯状疱疹発症時にはすでにVZV特異的な細胞性免疫応答の増強がみられている可能性が考えられる(図10)。しかし、発症時の細胞性免疫応答については、ELISPOT数が10個以下と応答が極めて低い検体も存在する他、その数は発症直後と発症3ヶ月後であまり変化がない。この結果は、帯状疱疹発症によっても細胞性免疫応答の上昇を誘導しない検体が存在することを示すものであるが、その検体について何故細胞性免疫応答の上昇を誘導しないのかは不明であり、今後検討を行う必要がある。

10. 横断研究：帯状疱疹過去罹患歴と有意に関連する因子として、19因子が挙げられた。結果

一覧を表5に示す。

- 1) 基礎疾患：高血圧、高脂血症、糖尿病、膠原病、癌、白血病の6因子中、高血圧、高脂血症、膠原病の3因子について帯状疱疹発症との関連性が示された。男女別解析によると、男性では高血圧、女性では高血圧、高脂血症に有意な結果が得られた。
 - 2) 喫煙・禁煙：喫煙の1因子について、帯状疱疹発症との関連性が示された。男女別解析でも、男女共に喫煙に有意な結果が得られた。
 - 3) 家族例：父親帯状疱疹罹患歴、母親帯状疱疹罹患歴、兄弟帯状疱疹罹患歴の3因子について帯状疱疹発症との関連性が示された。男女別解析でも、男女共に家族の罹患歴に有意な結果が得られた。
 - 4) うつ症状：「興味がない」、「希望がない」の2因子中、「興味がない」の1因子について、帯状疱疹発症との関連性が示された。男女別解析では、女性についてのみ「興味がない」に有意な結果が得られた。
 - 5) ライフイベント：ライフイベント、仕事や生活環境の変化、人間関係の変化、金銭的問題の4因子中、人間関係の変化、金銭的問題の2因子について、帯状疱疹発症との関連性が示された。男女別解析では、男性についてのみ人間関係の変化、金銭的問題に有意な結果が得られた。
 - 6) 食生活：野菜、果物、魚、大豆製品、乳製品の5因子について、帯状疱疹発症との関連性が示された。男女別解析では、男性では大豆製品と乳製品、女性では果物、魚、卵、乳製品に有意な結果が得られた。
 - 7) 社会心理的ストレス：睡眠満足度、ストレス、楽観的思考、笑う頻度の4因子について、帯状疱疹発症との関連性が示された。男女別解析では、男性ではストレス、女性ではストレス、楽観的思考、笑う頻度に有意な結果が得られた。
11. 縦断研究：帯状疱疹発症に関連する危険因子として以下の4因子が挙げられた。結果一覧

表を表6に示す。

- 1) 基礎疾患：高血圧、高脂血症、糖尿病、膠原病、癌、白血病の6因子中、癌の1因子について、帯状疱疹発症の危険因子であることが示唆された。男女別解析によると、女性についてのみ癌に有意な結果が得られた。
- 2) 喫煙・禁煙：喫煙の1因子について、帯状疱疹発症の危険因子であることが示唆された。男女別解析では、男性についてのみ喫煙に有意な結果が得られた。
- 3) 家族例：父親帯状疱疹罹患歴、母親帯状疱疹罹患歴、兄弟帯状疱疹罹患歴の3因子について、いずれも有意な結果が得られなかった。
- 4) うつ症状：「興味がない」、「希望がない」の2因について、いずれも有意な結果が得られなかった。
- 5) ライフイベント：ライフイベント、仕事や生活環境の変化、人間関係の変化、金銭的問題の4因子について、いずれも有意な結果が得られなかった。
- 6) 食生活：野菜の1因子について、帯状疱疹発症の危険因子であることが示唆された。
- 7) 社会心理的ストレス：睡眠満足度の1因子について、帯状疱疹発症の危険因子であることが示唆された。男女別解析では、女性についてのみ睡眠満足度に有意な結果が得られた。

D. 考察

1. 当初の目標の12,000人を上回る12,522人の登録者数を確保したことにより、3年間の継続調査によって、統計学的に評価し得る十分な症例数が確保できると考える。

現時点のデータより、日本人における帯状疱疹の発症率は、年間で1.04%であることが示唆される。これは、前述の米国での大規模臨床試験での数値に非常に近い数値である。

しかしながら、性別での発症率を比較したところ、米国では認められなかった男女差が観察された。帯状疱疹発症の男女差については、文献によって、多様な結果が報告されているため、

引き続き検討を重ねる必要がある。

テーマCの登録者338人に対して、登録から1年後に実施した各種免疫測定結果において、水痘皮内反応結果では、紅斑、浮腫の長径は、図3、4に示すとおり、高齢の群ほど小さかったことから、細胞性免疫は加齢に伴い減少することが推察される。一方、gp-ELISA及びIAHAの結果では、図6に示すとおり、高齢の群ほど高い値であったことから、液性免疫は加齢に伴い上昇することが推察される。

帯状疱疹の発症が高齢の群に多いことを考慮すると、帯状疱疹の発症には水痘皮内反応に関与する細胞性免疫が強く関係していることが推察される。このことから、水痘皮内反応の結果が、その後の帯状疱疹の発症の可能性を示す有用な代替指標になりうると考えられる。

2. 帯状疱疹発症者について、皮疹の重症度・疼痛度の程度と細胞性免疫（水痘皮内反応）との相関について検討した結果、細胞性免疫の程度が低下している者の方が、皮疹や疼痛の程度が重症化しやすい傾向が明らかとなった。現在のところ、帯状疱疹後神経痛や神経麻痺などの合併症と細胞性免疫との相関については、症例数が少ないため、明らかな結果が得られていない。

今後、さらなる症例の蓄積により、細胞性免疫と臨床症状との相関がより明確になっていくものと期待される。

3. 帯状疱疹の発症は小児期の水痘既往歴や年齢、細胞性免疫の低下が危険因子であるといわれてきたが、本研究にて生活習慣や社会心理的要因との関連に言及することが可能となった。

横断研究により、19因子が危険因子候補として注目すべき因子が抽出された。

特に、家族に帯状疱疹罹患歴がある者は、本人の帯状疱疹罹患歴が有意に高いことが明らかとなった。また、縦断的検討においても、有意な差は確認できないものの、家族に帯状疱疹罹患歴がある者のほうが、本人も帯状疱疹発症リスクが高い傾向が見られた。これは、水痘帯状疱疹ウイルスに対する免疫は、水痘患者や帯状

疱疹患者との接触により賦活され、带状疱疹になりにくくなるという通説とは異なる結果である。なお、带状疱疹の危険因子が家族の带状疱疹既往歴であることを示した先行研究としては、Lindsey D. Hicks等によるケースコントロールスタディがあり、家族の带状疱疹既往歴のある群が対照群に比べ、本人の带状疱疹既往歴のオッズ比が4.50倍有意に高いことが報告されている。本横断研究においても同様の結果が確認されたことで、带状疱疹の遺伝的感受性の可能性について、更なる検討の必要性が示された。

また、縦断研究により、基礎疾患に癌を有する者は有意に带状疱疹の発症リスクが高いことが分かった。これは免疫抑制剤等の治療の影響があることが示唆される。有意な差は確認できないものの、自己免疫性疾患である膠原病を基礎疾患に持つ者も、発症リスクが高い傾向がみられた。今後更なる带状疱疹発症者のデータの蓄積により、免疫抑制者の発症リスクが明らかとなると考えられる。

最後に、喫煙と带状疱疹発症に関連性が認められた。縦断研究の結果より現在喫煙しているの方が喫煙していない者より発症リスクは0.48と有意に低いことが分かった。これは喫煙の有無と皮内検査の紅斑長径(陽性基準10mm)との関係性を検討すると、現在喫煙群の方が有意に紅斑長径が大きいことに起因している可能性が高く、その背景機序に関する更なる検討が必要と考える。

E. 結論

既に、1年間以上のデータが蓄積されており、これらの結果から带状疱疹の発症率や水痘皮内反応陽性群と陰性群の発症リスク比、生活習慣及び社会心理的要因等の傾向が明らかとなっている。しかし、より信頼性の高い結論を得るためには、当初の目標である平均調査期間3年間、発症例数300例以上の調査が必要であると考えられる。

米国での大規模臨床試験と比較した場合、男女差等若干の違いはあるが、現状での带状疱疹の発症率

は米国と同等の数値である。

带状疱疹の発症には、水痘皮内反応によって測定される細胞性免疫が強く相関することを確認し、今後適切な陽性基準を設定する。

現在、水痘抗原はVZVに対する免疫の程度を測定する用途においてのみ使用されているが、本研究の成果により、带状疱疹の発症リスクを示す新たな指標とできることが証明されれば、今後より効果的な発症予防策を講じることができると考える。

F. 研究発表

1. 論文発表 3件

(邦文総説)

- 1) 浅田秀夫: ウイルス感染と薬疹. J Environ Dermatol Cutaneous Allergol 4(2), 83-88, 2010
- 2) 浅田秀夫: 慢性腎臓病患者に対する抗ヘルペスウイルス薬治療(最近のトピックス2010). 臨床皮膚科 64(5), 141-145, 2010
- 3) 小川浩平、長島千佳、北村華奈、横井祥子、野口隆一、増谷剛、浅井英樹、川井廉之、小林信彦、浅田秀夫: 潰瘍性大腸炎に合併した致死的水痘の1例. 皮膚の科学 in press

2. 学会発表 4件

- 1) 山西弘一: 小豆郡における带状疱疹ヘルペス疫学. 国際ヘルペスウイルス学会. 米国ユタ州ソルトレークシティ 2010.7.28
- 2) 奥野良信: ワクチンフォーラム2010-日本発のワクチン開発をめざしてIV-講演 2010.9.14 新宿明治安田生命ホール
- 3) 浅田秀夫: 带状疱疹の疫学とワクチンによる予防. 第51回日本臨床ウイルス学会 教育講演(高松) 2010.06.20
- 4) 浅田秀夫: ウイルス性皮膚疾患に関する最近のトピックス. 第61回日本皮膚科学会中部支部学術大会 Up-to-date講演3(大阪) 2010.09.11

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

带状疱疹疫学研究の体制図

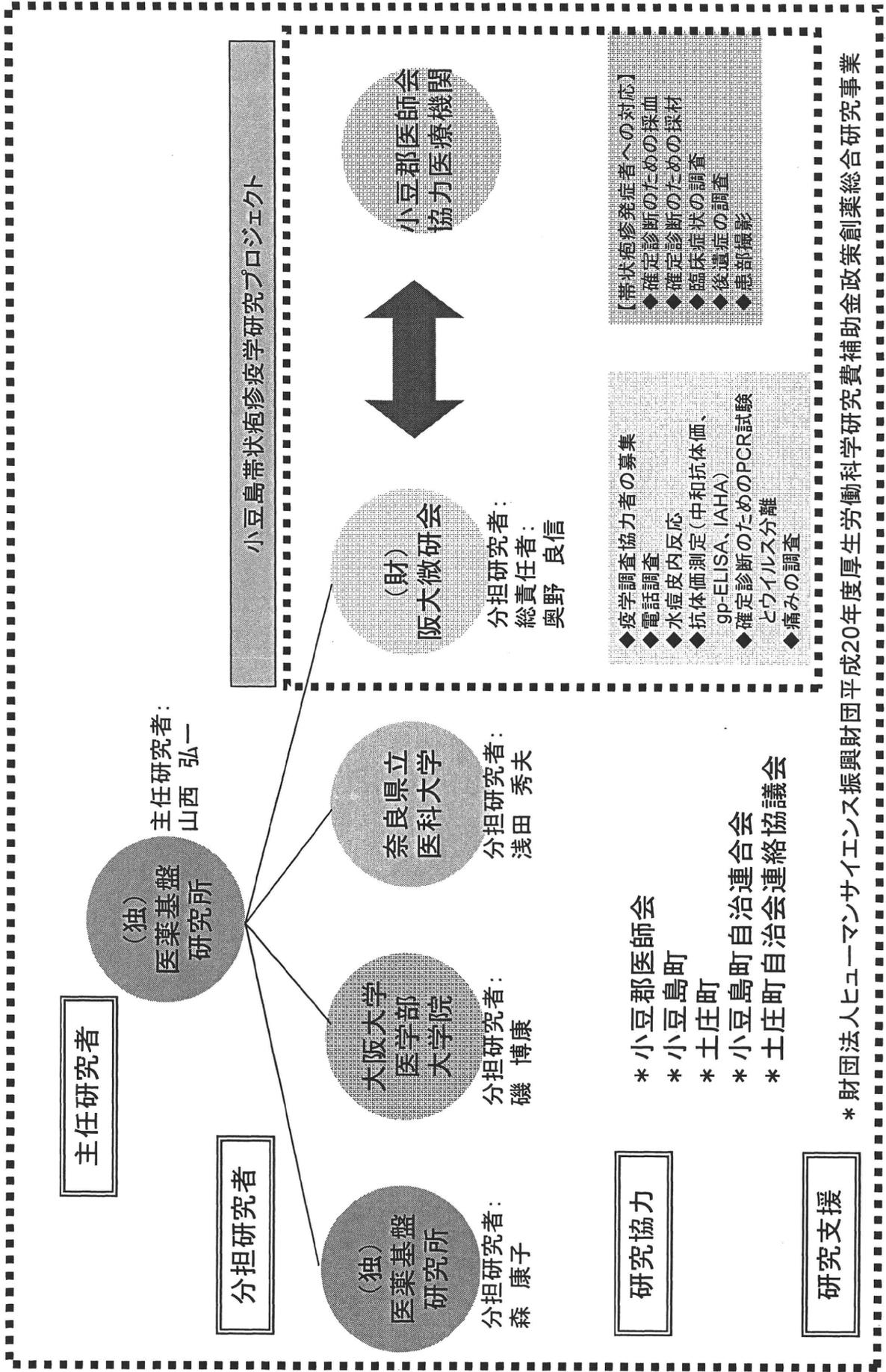


表1 性別・年齢階層別の帯状疱疹の発症者数及び年間発症率

| 年齢階層 | 男性 | | 女性 | |
|--------|------|-----------|------|-----------|
| | 発症者数 | 年間発症率 (%) | 発症者数 | 年間発症率 (%) |
| 50-59歳 | 17 | 0.88 | 22 | 1.01 |
| 60-69歳 | 15 | 0.55 | 32 | 1.08 |
| 70-79歳 | 25 | 1.18 | 44 | 1.57 |
| 80歳以上 | 10 | 0.82 | 22 | 1.08 |
| 合計 | 67 | 0.84 | 120 | 1.2 |

図1 帯状疱疹発症率の月別の分布

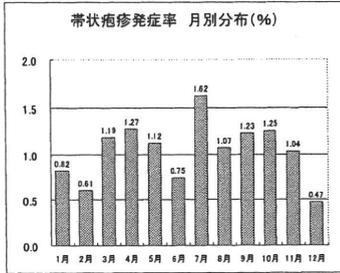


図3 登録から1年後の水痘皮内反応結果 紅斑長径年齢階層別比較

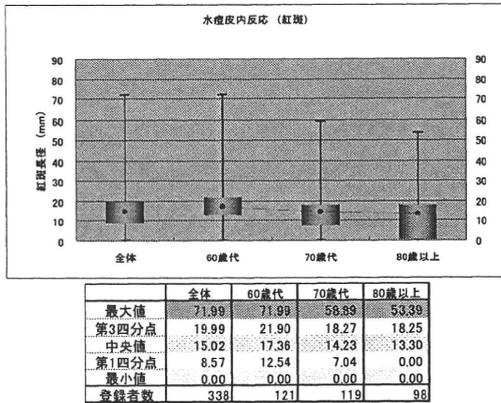


図5 登録から1年後の各種液性免疫検査結果 性別比較

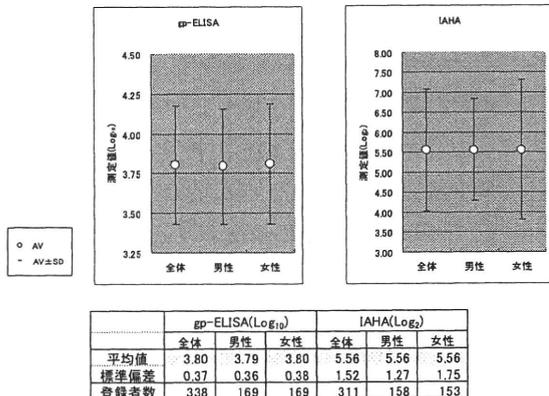


表2 性別・年齢階層別 登録から1年後の水痘皮内反応結果

| 年齢階層 | 性別 | 登録者数 (A) | 紅斑長径 (mm) | | | 浮腫長径 (mm) | | | 浮腫短径 (mm) | | | | | |
|-------|----|----------|-----------|--------|-------|-----------|--------|-------|-----------|--------|-------|-------|-------|------|
| | | | Average | Median | SD | Average | Median | SD | Average | Median | SD | | | |
| 60歳代 | 男性 | 60 | 14.37 | 14.70 | 8.61 | 11.85 | 13.17 | 6.83 | 9.71 | 11.28 | 6.89 | 8.47 | 10.99 | 6.15 |
| | 女性 | 57 | 22.07 | 16.32 | 12.62 | 22.46 | 16.40 | 16.05 | 22.32 | 12.65 | 19.00 | 15.05 | 2.40 | 8.95 |
| 70歳代 | 男性 | 121 | 18.20 | 17.26 | 11.50 | 14.97 | 14.45 | 9.04 | 10.82 | 11.94 | 8.95 | 9.27 | 10.00 | 7.87 |
| | 女性 | 59 | 12.71 | 14.02 | 8.03 | 10.10 | 10.40 | 7.01 | 7.65 | 9.17 | 7.07 | 6.10 | 7.38 | 5.58 |
| 80歳以上 | 男性 | 90 | 14.70 | 14.48 | 12.20 | 17.29 | 19.44 | 9.07 | 8.70 | 9.74 | 9.93 | 8.80 | 4.57 | 7.33 |
| | 女性 | 48 | 13.31 | 14.14 | 11.29 | 15.41 | 10.99 | 10.22 | 8.76 | 9.29 | 8.74 | 7.42 | 6.64 | 7.84 |
| 全体 | 男性 | 169 | 15.28 | 14.17 | 9.48 | 10.73 | 11.84 | 7.78 | 8.26 | 9.49 | 7.54 | 6.91 | 8.23 | 6.49 |
| | 女性 | 169 | 16.36 | 15.78 | 12.78 | 19.02 | 13.64 | 16.20 | 9.98 | 9.88 | 9.38 | 8.35 | 7.66 | 8.27 |
| 合計 | | 338 | 15.12 | 15.02 | 11.40 | 12.13 | 12.58 | 9.18 | 9.11 | 9.71 | 8.83 | 7.53 | 7.70 | 7.46 |

図2 帯状疱疹発症率の四半期別分布及び小豆郡における水痘発生数

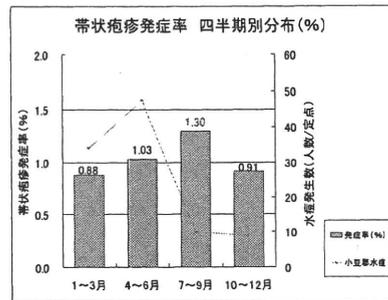


図4 登録から1年後の水痘皮内反応結果 浮腫長径年齢階層別比較

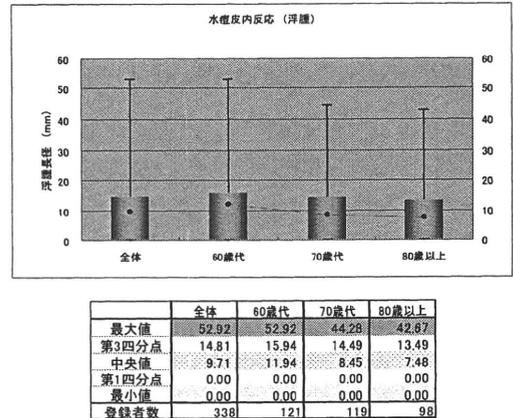
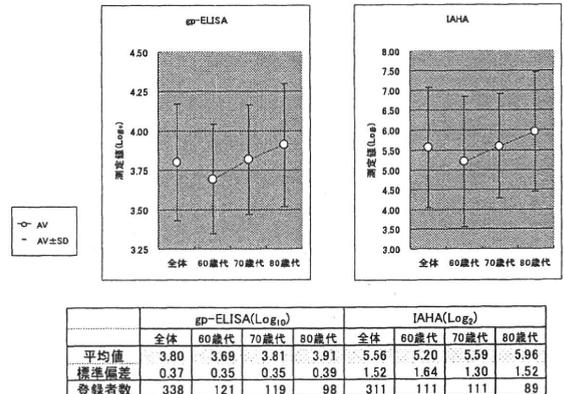


図6 登録から1年後の各種液性免疫検査結果 年齢階層別比較



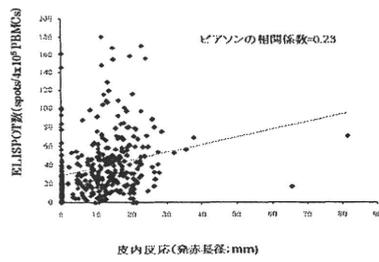


図7 健康人ボランティア 365 人の IFN- γ ELISPOT 数および水痘皮内反応の相関

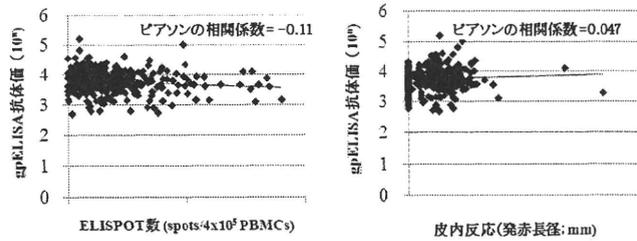


図8 VZV 特異的細胞性免疫応答と体液性免疫応答との相関

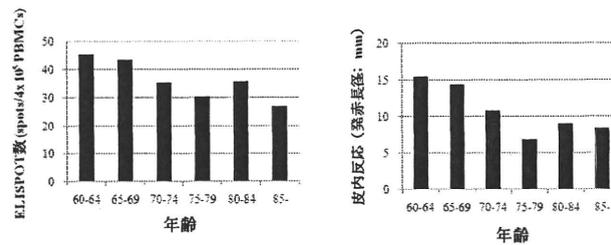


図9 年齢別における IFN- γ ELISPOT 数および水痘皮内反応の分布

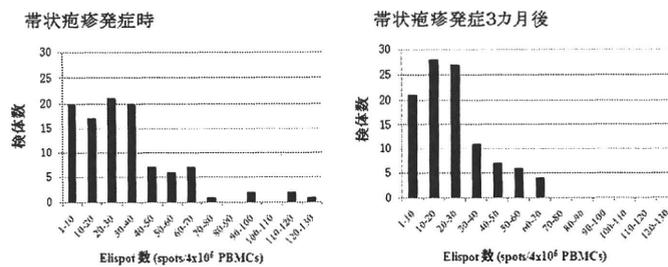


図10 帯状疱疹発症時および発症後の VZV 特異的細胞性免疫応答の強度分布

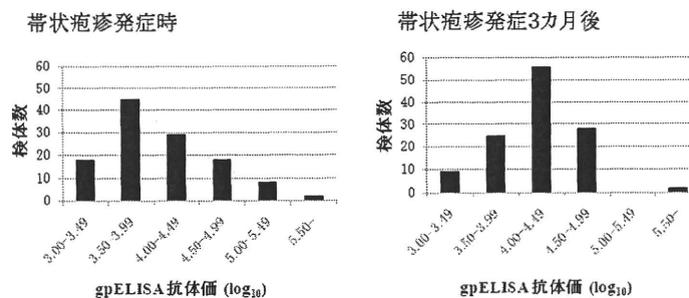


図11 帯状疱疹発症時および発症後の VZV 特異的体液性免疫応答の強度分布

表5 帯状疱疹過去罹患歴と有意に関連する因子（横断研究）

| Variable | | No. at risk | cross-sectional method | | | |
|-----------|---------------|-------------|------------------------|--------------------|------|-----------|
| | | | No. of past history | incidence rate (%) | OR | 95%CL |
| 高血圧 | No | 8,443 | 1,256 | 14.9 | 1 | Reference |
| | Yes | 3,909 | 714 | 18.3 | 1.16 | 1.05-1.29 |
| 高脂血症 | No | 11,484 | 1,789 | 15.6 | 1 | Reference |
| | Yes | 868 | 181 | 20.9 | 1.35 | 1.14-1.61 |
| 糖尿病 | No | 12,092 | 1,912 | 15.8 | 1 | Reference |
| | Yes | 260 | 58 | 22.3 | 1.35 | 1.00-1.82 |
| 喫煙 | not smoking | 10,207 | 1,789 | 17.5 | 1 | Reference |
| | smoking | 2,152 | 203 | 8.8 | 0.60 | 0.51-0.71 |
| 父親帯状疱疹罹患歴 | No | 12,064 | 1,904 | 15.8 | 1 | Reference |
| | Yes | 285 | 65 | 22.8 | 1.87 | 1.40-2.49 |
| 母親帯状疱疹罹患歴 | No | 11,518 | 1,783 | 15.5 | 1 | Reference |
| | Yes | 831 | 186 | 22.4 | 1.84 | 1.54-2.19 |
| 兄弟帯状疱疹罹患歴 | No | 11,884 | 1,830 | 15.4 | 1 | Reference |
| | Yes | 465 | 139 | 29.9 | 2.26 | 1.84-2.78 |
| 何事にも興味が無い | Yes | 10,986 | 1,769 | 16.1 | 1 | Reference |
| | No | 1,348 | 197 | 14.6 | 0.84 | 0.72-0.99 |
| 人間関係の変化 | No | 9,927 | 1,536 | 15.5 | 1 | Reference |
| | Yes | 2,416 | 430 | 17.8 | 1.18 | 1.05-1.33 |
| 金銭的問題 | No | 10,994 | 1,811 | 16.5 | 1 | Reference |
| | Yes | 1,349 | 155 | 11.5 | 0.76 | 0.64-0.91 |
| 野菜摂取頻度 | not eat | 72 | 5 | 6.9 | 1 | Reference |
| | eat | 12,450 | 1,987 | 16.0 | 2.50 | 1.00-6.24 |
| 果物摂取頻度 | not every day | 5,295 | 731 | 13.8 | 1 | Reference |
| | every day | 7,227 | 1,261 | 17.5 | 1.14 | 1.03-1.26 |
| 魚摂取頻度 | not eat | 175 | 18 | 10.3 | 1 | Reference |
| | eat | 12,347 | 1,974 | 16.0 | 1.69 | 1.03-2.77 |
| 大豆製品摂取頻度 | not every day | 7,939 | 1,189 | 15.0 | 1 | Reference |
| | every day | 4,583 | 803 | 17.5 | 1.11 | 1.01-1.23 |
| 乳製品摂取頻度 | not eat | 1,365 | 156 | 11.4 | 1 | Reference |
| | eat | 11,157 | 1,836 | 16.5 | 1.44 | 1.21-1.72 |
| | not every day | 5,272 | 723 | 13.7 | 1 | Reference |
| | every day | 7,250 | 1,269 | 17.5 | 1.19 | 1.08-1.32 |
| 睡眠満足度 | low | 1,745 | 306 | 17.5 | 1 | Reference |
| | high | 10,777 | 1,686 | 15.6 | 0.84 | 0.74-0.97 |
| ストレス | low | 9,977 | 1,533 | 15.4 | 1 | Reference |
| | high | 2,545 | 459 | 18.0 | 1.30 | 1.16-1.46 |
| 楽観的思考 | negative | 5,878 | 993 | 16.9 | 1 | Reference |
| | positive | 6,644 | 999 | 15.0 | 0.86 | 0.78-0.95 |
| 笑う頻度 | low | 2,593 | 362 | 14.0 | 1 | Reference |
| | high | 9,929 | 1,630 | 16.4 | 1.18 | 1.04-1.34 |

表6 帯状疱疹発症に関連する危険因子（縦断研究）

| Variable | | No. at risk | longitudinal method | | | |
|----------|---------------|-------------|---------------------|--------------------|------|-----------|
| | | | No. of cases | incidence rate (%) | OR | 95%CL |
| 癌 | No | 11,937 | 173 | 1.5 | 1 | Reference |
| | Yes | 415 | 14 | 3.4 | 2.43 | 1.39-4.24 |
| 喫煙 | not smoking | 10,207 | 171 | 1.7 | 1 | Reference |
| | smoking | 2,152 | 17 | 0.7 | 0.48 | 0.28-0.82 |
| 野菜摂取頻度 | not every day | 2,023 | 18 | 0.9 | 1 | Reference |
| | every day | 10,499 | 170 | 1.6 | 1.72 | 1.06-2.82 |
| 睡眠満足度 | low | 1,745 | 36 | 2.1 | 1 | Reference |
| | high | 10,777 | 152 | 1.4 | 0.67 | 0.46-0.97 |

内因性幹細胞の動員・生着・分化と心筋細胞肥大の情報伝達を標的とした新規心不全治療法

所属 (独) 国立病院機構京都医療センター 展開医療研究部
研究者 長谷川 浩二
研究期間 平成 20 年 4 月-平成 23 年 3 月

研究要旨 内因性幹細胞の動員・生着・分化と心筋細胞肥大の情報伝達を標的とした新規心不全治療法を確立するため、心筋細胞分化制御機構及び心筋細胞の病的肥大の情報伝達機構解明を行い、臨床応用に向けて これらを標的とした薬物治療の前臨床研究を行った。

分担研究者

- (1) セラバリュース(株)プロテオミクス解析センター
センター長 福田 宏之
- (2) 京都大学大学院医学研究科心臓血管外科
准教授 池田 義
- (3) 京都大学医学部附属病院探索医療センター
准教授 丸井 晃
- (4) 京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻
教授 藤田 正俊
- (5) 京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻
教授 掛谷 秀昭
- (6) 静岡県立大学薬学部分子病態学
教授 森本 達也
- (7) 京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット
助教 川村 晃久

A. 研究目的

生活習慣の欧米化に伴い増加した重症びまん性冠動脈病変は血行再建困難で、現存の薬物治療に対して抵抗性の重症末期心不全を合併する。心不全の予後は薬物療法の進歩により改善傾向にあるものの、薬物療法に抵抗性の重症末期心不全は悪性腫瘍の予後より不良といわれる。末期心不全においては心筋細胞の脱落が著明であるが、心臓は創傷治癒過程における組織再生能力が非常に乏しい臓器であり、重症末期心不全に対する再生医療の確立は、国家的、社会的急務と考えられている。

このような状況のなか、心筋再生療法の確立へ向けて、これまで内因性幹細胞を採取して、これらを *ex vivo* 培養系で増殖、心筋に分化させて移植するアプローチが試みられようとしている。しかし、骨髄、骨格筋、心臓あるいは脂肪組織内の幹細胞が心筋細胞へ分化する可能性が報告されているものの、その増殖能・分化効率は極めて低い。

主任研究者らは内因性幹細胞を生体内で活性化することによる重症心不全の新規治療法の確立を目指し、心筋細胞分化機構の解明を行ってきた。そして心筋特異的転写因子のアセチル化により心筋分化効率が著明に亢進することを、マウス (*J Biol Chem* 2005; 280: 19682-19688) 及びサル (*Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356: 386-391) ES 細胞において示した。さらに最近、ES 細胞と同様の多分化能と無限増殖能を持つ人工多能性幹 (induced pluripotent stem, iPS) 細胞が体細胞への遺伝子導入により作出された。これにより患者由来の幹細胞を作成することが可能となり、患者特異的な薬物スクリーニングの極めて有用なツールとして期待されている。

心筋細胞脱落の前段階として心筋は病的肥大から心収縮機能低下 (心不全) を来す。主任研

究者らは心不全発症の心筋細胞核内情報伝達に転写コアクチベーターである p300 のヒストンアセチル化酵素活性による核の過剰なアセチル化が重要であるという事実を見出した (*Mol Cell Biol* 2003; 23: 3593-606、*Circulation* 2006; 113: 679-690、国際特許出願中)。さらに、健康食品として使用され天然物ウコンの成分で p300 の特異的アセチル化阻害作用を持つクルクミンが、高血圧性心疾患ならびに心筋梗塞後の心不全発症・増悪を抑制することも動物モデルで確認した (*J Clin Invest* 2008; 118: 868-878)。

そこで本研究の目的は、1) 内因性幹細胞を遺伝子導入または薬物により活性化し、幹細胞を心筋に分化誘導することにより治療する心筋再生療法の確立、及び2) 心筋細胞脱落につながる病的肥大の情報伝達を標的とした新規心不全治療法を確立することである。

1) 内因性幹細胞の活性化による心筋再生療法の確立

成体において体細胞を心血管細胞前駆細胞に変換し、さらに心筋に分化誘導することにより治療する心筋再生療法の確立に向けて、心筋細胞分化機構の解明と、リプログラミング (体細胞の幹細胞への変換) 機構の解明を行う。また徐放化システムを用いた組織再生療法の確立に向けた前臨床研究を行う。

2) 心不全発症の情報伝達を標的とした新規薬物療法

p300 の特異的アセチル化阻害作用を持つクルクミンの新規誘導體・類縁化合物の合成を行い、また Drug delivery system を用いて効率よい心不全治療法を開発し、前臨床研究の施行、及びヒト臨床試験のプロトコール作成を行う。

B. 研究方法

分担研究者の川村らは iPS 細胞における心筋細胞分化機構の解明、及び不全心における心筋前駆細胞の解析を行った。森本らは心筋細胞分化機構のさらなる解明を目指して GATA4 蛋白複合体解析を行い、また柑橘類果皮成分の心筋細胞病的肥大に対する影響を検討した。池田、丸井らは徐放化システムによる臨床応用の確立を目指した前臨床研究を行った。掛谷らはクルクミン誘導體・類縁化合物の合成を行った。福田らは3種の経口クルクミン DDS 製剤を開発し、クルクミン血中濃度測定システムを確立、ラット心筋梗塞において経口クルクミン DDS 製剤の有効性を検討し、ヒト健康人においてクルクミン血中濃度を測定した。藤田らはクルクミンの心不全臨床試験のための前臨床研究を行った。

C. 研究結果

川村らは不全心において幹細胞や早期中胚葉のマーカークの発現が低下しており、内因性幹細胞が病的不全心では不活化していることを示した。ES細胞から心筋細胞への分化制御機構、特に心臓で発現しているマイクロRNA (miR) の心筋細胞分化における役割を検討し、miR-1がCDK9の翻訳抑制を通じて心筋分化を負に制御している可能性を示した。またES細胞から心筋細胞分化においてWntシグナルの古典的および非古典的両経路が時間依存的に重要な役割を果たしていることを示した。ES細胞に加え、複数のマウスiPS細胞株において心筋分化システムを確立し、iPS細胞の株間には大きな分化効率の差異が存在すること、心筋分化効率が極めて低いiPS細胞株でも脱アセチル化酵素阻害薬であるTricostatin A (TSA)により、著明に心筋分化が亢進することを見出した。さらにTSAにより、分化したiPS細胞のpluripotencyが著明に減少することを見出し、TSAがiPS細胞の癌化を抑制する可能性も示した。

森本らは心筋細胞分化に中心的な役割を果たす転写因子GATA4経路のさらなる詳細な解析のため、GATA4蛋白複合体を解析した。転写の伸長反応の促進に関与するP-TEFb (positive transcription elongation factor-b)キナーゼであるCyclin-dependent kinase-9 (Cdk9)がGATA4の新規結合蛋白であることを見出した。そしてES細胞から心筋への分化において、Cdk9がp300及びGATA4と結合し、複合体を形成することを示した。またCdk9キナーゼ活性阻害薬である5,6-dichloro-1-beta-ribofuranosylbenzimidazole (DRB)やCdk9のリン酸化能を抑制したドミナントネガティブ変異体は、TSAによる心筋分化を有意に抑制することを見出し、p300/GATA4/Cdk9が心筋分化に重要な役割を果たしていることを示した(図1)。さらに柑橘類果皮成分であるノビレチン及びオーラプテンが培養心筋細胞の病的肥大を抑制すると共に、ラット心筋梗塞後の心機能を著明に改善することを見出した。

池田、丸井らは生体吸収性ゼラチン水和ゲルを用いた蛋白徐放システムを利用して半減期の短い塩基性繊維芽細胞増殖因子(bFGF)を徐放化し、その効果を左室補助人工心臓(LVAD)治療モデル、肺高血圧症モデル、下肢虚血モデルで検討した。LVADモデルでは心筋萎縮を抑制し、肺高血圧症モデル、下肢虚血モデルでは血管新生により病状を改善することを示した。マトリックスポテアーゼファミリーの一つであるMMP-1を遺伝子徐放システムを利用して徐放化局所投与し、ラット心筋梗塞モデルで左室収縮能、拡張能指標が改善し、線維化も抑制されることを示した。

掛谷らは効率よい心不全治療法を開発するため、クルクミンをリード化合物として、その誘導体及び類縁化合物を短工程で合成し、またリンカー結合型蛍光団を効率的に合成する経路を確立した。さらに、関連化合物の詳細な薬理活性評価等に適した二官能性基を有する機能性分子プローブのデザイン・創製を行った(図2)。

藤田らは心不全発症の心筋細胞内情報伝達に中心的な役割を果たすp300のアセチル化作用を標的とし、クルクミンを用いた心不全治療の前臨床研究を行った。心筋梗塞ラットにおいてクルクミンは用量依存的に心機能を改善し、論文(*J Clin Invest* 2008)で発表した50mg/kg/日の10分の1である5mg/kg/日経口投与でも有意に改善すること、心不全の標準的治療薬で

あるACE阻害薬(Enalapril)と相加的に心機能を改善することを見出した。また高血圧性心疾患ラットモデルにおいて、クルクミンは末期心不全への移行のみならず、高血圧性心肥大の形成も抑制することを見出した。さらにヒトで安全性の確かめられているクルクミン2g/日経口投与により、心不全治療効果のあるラット50mg/kg/日経口投与よりも高い血中濃度が得られることを示した。

福田らは血漿中クルクミン濃度測定法をLC/MS/MSを用いて確立し、吸収効率のよい経口クルクミンDDS(コロイダルディスパーション型クルクミン)を開発した。DDS製剤は、そのままのクルクミン粉末試薬に比べて、ラット経口投与時に約30倍以上の血中濃度を示す。本DDS製剤の心不全に対する効果を心筋梗塞ラットにおいて検討した。論文(*J Clin Invest* 2008)ではそのままのクルクミンを50mg/kg/日で投与したが、DDS製剤ではその100分の1である0.5mg/kg/日の低用量経口投与でも有意な心不全改善効果を認めた。そのままのクルクミン0.5mg/kg/日では心不全改善効果は認められなかった。さらに開発したクルクミンDDS製剤はヒトにおいても高い吸収性能を示すことが確認され(図3)、またヒトで100mg/日程度のDDS製剤経口摂取は安全性に問題が無いと考えられた。そこで高血圧性心肥大患者(軽症心不全)を対象に用量設定試験を施行するため、高吸収(DDS)クルクミン60mg/日でプロトコルを作成し、UMINへの登録を終えた(UMIN試験ID: R00003851)。

D. 考察

本研究グループは内因性幹細胞の活性化による重症心不全の新規治療法の確立を目指して心筋細胞分化機構の解明を行い、心筋特異的転写因子のアセチル化により心筋分化効率が著明に亢進(*J Biol Chem* 2005, *Biochem Biophys Res Commun* 2007)することを見出した。平成20-23年度はmiR-1による心筋分化抑制(*Circ J* 2009;73:1492-1497)、古典的および非古典的Wntシグナル経路の時間依存的役割(*World Congress of Cardiology Scientific Sessions 2010*にて口頭発表)など新たな事実を見出した。また転写因子GATA4の新規結合蛋白としてCdk9を同定し(*J Biol Chem* 2010; 285: 9556-9678)、Cdk9キナーゼ活性が心筋分化に役割を果たしていることを示した(*J Cell Physiol* 2011; 226: 248-254)。iPS細胞株においても心筋分化システムを確立し、iPS細胞株間の分化効率差異、脱アセチル化酵素阻害薬Tricostatin A (TSA)による著明な心筋分化亢進とpluripotencyの減少などの重要な新事実を見出した(*Cardiovasc Res* 2010; 88: 314-323)。また徐放化投与システムの臨床での有用性を種々の動物レベルで証明した(*Tissue Eng Part A* 2009;15:2699-2706)。このように薬物や遺伝子導入による内因性幹細胞活性化による心筋再生療法確立のため、心筋分化機構に関して多くの新事実を見出した。

末期心不全の心筋細胞脱落につながる病的肥大の情報伝達を標的とした治療法について、本研究グループは、p300のアセチル化作用を特異的に阻害するクルクミンが心筋GATA4のアセチル化を抑制することにより心不全の増悪を抑制することを心不全動物モデルで証明した(*J Clin Invest* 2008; 118: 868-878)。その後、臨床応用に向けた前臨床研究を進め、梗塞後心不全において、クルクミンと心不全の標準治療薬

である ACE 阻害薬による相加的心機能改善 (American Heart Association Annual Scientific Sessions 2009 にて口頭発表)、クルクミンによる高血圧性心肥大の形成抑制 (European Society of Cardiology Congress 2008 にて発表) を証明した。また、創薬に向けた新規誘導体作成のための合成経路も確立し、柑皮成分による心機能改善効果も見出した (特願 2009-18813、特願 2009-18814)。さらに吸収効率よく高い血中濃度の得られる経口クルクミン DDS を開発し (特願 2009-112637)、高血圧性心肥大における経口クルクミン DDS 用量設定試験に関するヒト臨床試験プロトコールを作成し、UMIN への登録を終えた (UMIN 試験 ID: R00003851)。

E. 結論

本研究グループは、内因性幹細胞の動員・生着・分化と心筋細胞肥大の情報伝達を標的とした新規心不全治療法を確立するため、心筋細胞分化制御機構及び心筋細胞の病的肥大の情報伝達機構解明を行うことにより多くの新事実を見出し、特許を出願すると共に、質の高い論文発表による情報発信を行った。p300 特異的アセチル化阻害作用を持つクルクミンによる心不全治療においては、臨床応用に向けた前臨床試験を行い、ヒト臨床試験を行うプロトコール作成、UMIN 登録まで到達した。心不全の新規治療法の確立、臨床現場における実用化に向けて今後も突き進む予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, Takaya T, Wada H, Nagasawa A, Komeda M, Fujita M, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K: The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. *J Clin Invest.* 2008;118:868-78
- 2) Takaya T, Kawamura T, Morimoto T, Ono K, Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. Identification of p300-targeted acetylated residues in GATA4 during hypertrophic responses in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 2008;283:9828-9835.
- 3) Sunagawa Y, Morimoto T, Takaya T, Wada H, Kawamura T, Fujita M, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K Cyclin-dependent kinase-9 is a component of p300/GATA4 complex required for phenylephrine-induced hypertrophy in cardiomyocytes. *J Biol Chem.* 2010 ; 285: 9556-9678
- 4) Takaya T, Ono K, Kawamura T, Takanabe R, Kaichi S, Morimoto T, Wada H, Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. MicroRNA-1 and MicroRNA-133 in spontaneous myocardial differentiation of mouse embryonic stem cells. *Circ J.* 2009;73:1492-1497.
- 5) Lin X, Tambara K, Fu M, Yamamoto M, Premaratne GU, Sakakibara Y, Marui A, Ikeda T, Komeda M, Tabata Y. Controlled release of matrix metalloproteinase 1 with or without skeletal myoblasts transplantation improves cardiac function of rat hearts with chronic myocardial infarction. *Tissue Eng Part A.* 2009;15:2699-2706.
- 6) Kaichi S, Hasegawa K, Takaya T, Yokoo N, Kawamura T, Morimoto T, Ono K, Baba S, Yamanaka

S, Nakahata T, Heike T. Cell line-dependent differentiation of induced pluripotent stem cells into cardiomyocytes in mice. *Cardiovasc Res* 2010; 88: 314-323

7) Kaichi S, Takaya T, Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, Ono K, Shimatsu A, Baba S, Heike T, Nakahata T, Hasegawa K. Cyclin-dependent kinase 9 forms a complex with GATA4 and is involved in the differentiation of mouse ES cells into cardiomyocytes. *J Cell Physiol* 2011; 226: 248-254

2. 学会発表

- 1) Tatsuya Morimoto, Masatoshi Fujita, Yoichi Sunagawa, Teruhisa Kawamura, Tomohide Takaya, Hiromichi Wada, Akira Shimatsu, Toru Kita, Koji Hasegawa: Curcumin, a Natural p300-specific Histone Acetyltransferase Inhibitor, Prevents the Development of Cardiac Hypertrophy in Rats. **European Society of Cardiology Congress 2008** August 30-September 3, Munich, Germany
- 2) Kaichi S, Takaya T, Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, Ono K, Hasegawa K. Cardiac-specific transcription in ES cells by Cdk9. **The 25th Annual Meeting of the International Society of Heart Research Japanese Section** (Yokohama), Dec 5, 2008.
- 3) Hasegawa K, Takaya T, Kaichi S. Signaling pathways that mediate differentiation of ES and iPS cells into cardiomyocytes. **The 1st World Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell** (Foshan, China), Dec 3, 2008.
- 4) Yoichi Sunagawa, Hiroyuki Fukuda, Hiromichi Wada, Tomohide Takaya, Akira Marui, Kazuhide Uemura, Akira Shimatsu, Masatoshi Fujita, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto: Novel drug-delivery system of oral curcumin that prevents the deterioration of systolic function after myocardial infarction in rats. **The 82th American Heart Association Annual Scientific Sessions 2009**, 11.1~3, Orlando, USA
- 5) Shigeno A, Sogo T, Takaya T, Kojima Y, Hasegawa K, Kawamura T. Role of Wnt signaling in cardiac differentiation from mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. **World Congress of Cardiology Scientific Sessions 2010** (口頭発表) 2010年6月18日 北京(中国)

3. 出版物

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

- 1) ウコン色素組成物による心機能改善効果 (特願 2009-112637、平成 21 年 5 月 7 日出願)
- 2) 心疾患予防治療剤① (特願 2009-18813、平成 21 年 8 月 18 日出願)
- 3) 心疾患予防治療剤② (特願 2009-18814、平成 21 年 8 月 18 日出願)

3. その他

なし

内因性幹細胞の動員・生着・分化と心筋細胞肥大の情報伝達を標的とした新規心不全治療法

所属 (独) 国立病院機構京都医療センター 展開医療研究部
研究者 長谷川 浩二

研究要旨 内因性幹細胞の動員、生着、分化と心筋細胞肥大の情報伝達を標的とした新規心不全治療法の確立を目的とし、p300 特異的アセチル化阻害作用を持つクルクミンのヒト臨床試験に向けて、本グループは吸収効率を改善した経口クルクミン DDS を開発し (特許申請中)、その心機能改善効果を動物レベルで証明し、ヒトでの臨床試験も開始した。また p300/GATA4 蛋白複合体解析により新規結合蛋白を同定すると共に、新たなクルクミン誘導体も合成している。遺伝子導入により内因性幹細胞を活性化し、心血管構築細胞を再生する心不全再生療法確立を目的とし、iPS 細胞の心筋分化における Wnt シグナルの重要性を示した。また脱アセチル化酵素阻害薬である Tricostatin A (TSA) による著明な心筋分化亢進と pluripotency の著明な減少を示し、TSA が iPS 細胞の癌化を抑制する可能性を見出した。

分担研究者

- (1) セラバリュース(株)プロテオミクス解析センター
センター長 福田 宏之
- (2) 静岡県立大学薬学部分子病態学
教授 森本 達也
- (3) 京都大学医学部附属病院探索医療センター
准教授 丸井 晃
- (4) 京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻
教授 掛谷 秀昭
- (5) 京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット
助教 川村 晃久

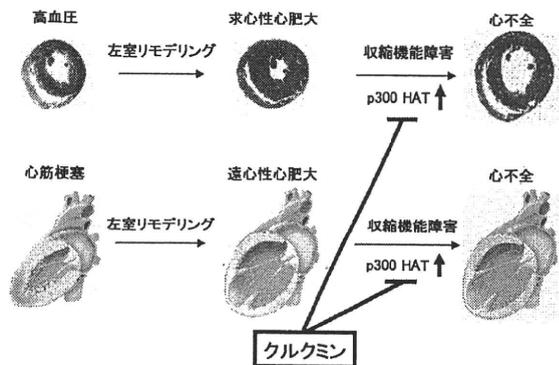
A. 研究目的

我が国においても生活習慣病の最も重篤な合併症である冠動脈硬化症ならびに心筋梗塞後心不全の発症頻度が急増している。21 世紀の高齢化社会の到来と共にこれからますます増加する **心不全** に対して、その **発症・増悪を抑制**すると同時に、**末期心不全** に対する新たな治療法を確立することは社会的、医療経済的急務である。

我々は心不全のより根本的治療を確立するため、心筋細胞情報伝達の最終到達点である核内の共通経路の解明を精力的に行ってきた。我々は心不全発症の心筋遺伝子発現調節にヒストンアセチル化酵素 (Histone Acetyltransferases, HAT) 活性を持つ転写コアクチベーター p300 と心筋 GATA 転写因子群の協力 (p300/GATA 経路) が中心的な役割を果たしていることを見いだした (*Mol Cell Biol* 2003;23:3593-606)。さらに心筋梗塞後の左室心筋細胞において核の過剰なアセチル化が認められること、トランスジェニックマウスの作成により p300 蛋白を心筋

に過剰発現することによりアセチル化を促進すると、心筋梗塞後のリモデリングが増悪し、その増悪には p300 の HAT 活性が必要であることを見出した (国際特許出願中、Circulation 2006; 113:679-690)。こうして、心筋細胞核のアセチル化、脱アセチル化のコントロールが心不全の進行に極めて重要であることが国際的に認識されつつある。また最近、健康食品として使用され天然物ウコンの成分であるクルクミンが p300 の特異的アセチル化阻害作用を持つということが明らかになったが、我々はクルクミンが培養心筋細胞肥大を抑制すると同時に高血圧性心疾患ならびに心筋梗塞後の心不全発症を抑制することも動物モデルで確認した (図 1、J Clin Invest. 2008;118:868-78)。

図1) クルクミンは心不全の増悪を抑制する



一方、心筋細胞の脱落が激しい心臓移植が必要な**末期心不全**に対する根本的治療としては、心筋再生療法が必須である。骨髄、骨格筋心臓あるいは脂肪組織内の内因性幹細胞を採取して、これらを *ex vivo* 培養系で増殖、心筋に分化させて移植するアプローチが試みられようとしてきたが、これら幹細胞の増殖能・分化効率は極めて低く、臨床応用できる段階ではない。胚性幹(ES)細胞は無限増殖能を保ちつつ多分化能を有するため、倫理的問題をクリアすれば大いに期待されるアプローチである。しかし、ES細胞から心筋細胞への分化効率は依然低く、また、分化した細胞を移植しても組織に生着する細胞数が少ないという欠点がある。最近、ES細胞と同様の多分化能と無限増殖能を持つ人工多能性幹(induced pluripotent stem, iPS)細胞が体細胞への遺伝子導入により作出された。iPS細胞はES細胞の免疫拒絶の可能性や倫理的問題をクリアし、再生医療における移植細胞の新たなソースとして期待されている。

そこで本研究の目的は、内因性幹細胞の動員、生着、分化と心筋細胞肥大の情報伝達を標的とした新規心不全治療法を確立することであり、そのため、

1) 心不全発症の情報伝達を標的とした新規薬物療法

経口クルクミン Drug delivery system (DDS) を用いてクルクミンの腸管からの吸収効率を改善する、あるいは新規クルクミン誘導体・類縁化合物の合成を行い、効率よい心不全治療法を開発し、ヒト臨床試験に向けた前臨床研究を行う。

2) 末期心不全に対する内因性幹細胞の活性化による心筋再生療法

遺伝子を体細胞に導入し、内因性幹細胞を活性化、あるいは体細胞を心血管細胞前駆細胞に変換することにより治療する心不全再生療法の確立に向けた基盤研究を行う。また細胞が組織に生着するための遺伝子や増殖因子の徐放化局所投与に関する研究を行う。

B. 研究方法

分担研究者の**福田**らは経口クルクミン DDS 製剤を開発し、クルクミン血中濃度測定システムを確立、ヒト健常人において経口クルクミン DDS 製剤の肝機能に及ぼす影響、及び筋に与える効果について検討した。**掛谷**らはクルクミン誘導体・類縁化合物の大量スケールでの合成法を検討し、また二官能性基を有する機能性分子プローブのデザイン・創製を行った。**森本**らは p300/GATA4 経路のさらなる解明を目指して蛋白複合体解析を行い、新規蛋白を同定、その役割を検討した。**川村**らは幹細胞の心筋分化を著明に亢進させる脱アセチル化酵素阻害薬 Tricostatin A (TSA) が、iPS 細胞の多能性に与える影響について検討を行った。また iPS 細胞における心筋細胞分化機構の解明を行うと共に、iPS 細胞や心筋前駆細胞を効率よく安全に選択するための新規手法の開発を試みた。**丸井**らは遺伝子徐放化投与による幹細胞生着療法

の確立を目指した前臨床研究を行った。

C. 研究結果

福田らは血漿中クルクミン濃度測定法を LC/MS/MS を用いて確立し、吸収効率のよい経口クルクミン DDS (コロイダルディスパーション型クルクミン)を開発した(**特願 2009-112637、2009年5月7日出願**)。DDS 製剤は、そのままのクルクミン粉末試薬に比べて、ラット経口投与時に約 30 倍以上の血中濃度を示す。本年度は、本 DDS 製剤のヒトに対する効果を、肝機能と肌水分量・色素沈着量の観点から検討した。クルクミン DDS 製剤 60mg/日の 4 週間投与により、肝機能の指標である GOT, GPT, γ GTP は低下し、その程度は他の市販クルクミンよりも大きかった。またクルクミン DDS 製剤 60mg/日の 4 週間投与により、肌水分量は有意に上昇した。試験を通じて有害事象は認められなかった。

掛谷らは、効率よい心不全治療法を開発するため、クルクミンをリード化合物として、その誘導体及び類縁化合物を短工程で合成する経路を確立した。本年度はこれを基盤にして、さらに HAT 阻害活性及び bioavailability の向上を目指し、各種クルクミン誘導体・類縁化合物の大量スケールでの合成法を検討・確立した。さらに、関連化合物の詳細な薬理活性評価等に適した二官能性基を有する機能性分子プローブのデザイン・創製を行った。

森本らは心不全発症の心筋細胞内情報伝達に中心的な役割を果たす p300/GATA 経路のさらなる詳細な解析のため、蛋白複合体を解析した。ATP 依存的にクロマチン構造を変化させ、転写を制御するクロマチンリモデリング因子である SWI/SNF 複合体の構成因子 In1 が p300 及び GATA4 と結合し、複合体を形成することを示した。そして In1 を過剰発現すると心筋細胞肥大を抑制することを見出した。興味深いことに、SWI/SNF 複合体の構成因子 BAF60c1 を過剰発現すると心筋細胞肥大を亢進することから、同じ SWI/SNF 複合体の別の構成因子が心筋細胞肥大に対して正と負の制御をすることがわかった。

川村らはマウス iPS 細胞株において脱アセチル化酵素阻害薬である Tricostatin A (TSA) により、著明に心筋分化が亢進すると共に、分化した iPS 細胞の pluripotency が著明に減少することを見出し、TSA が iPS 細胞の癌化を抑制する可能性も示した (*Cardiovasc Res* 2010; 88: 314-323)。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に対する唯一有効な抗生物質であるバンコマイシンの全身投与は深刻な腎機能障害などの重篤な合併症を引き起こす。**丸井**らはバンコマイシンの局所徐放体を生体吸収性のデキストランとポリリジンから作成し、血中濃度の上昇を上げることなく、局所濃度を十分に維持し、末期心不全において最も重篤な感染症である MRSA を予防することを示した。

D. 考察

本研究グループは、心不全発症の心筋細胞内情報伝達を標的とした治療法に向けた基盤研究を行い、p300のアセチル化作用を有するクルクミンが心筋 GATA4 のアセチル化を抑制することにより心不全の増悪を抑制することを高血圧心疾患及び梗塞後心不全の2つの動物モデルで確認した (*J Clin Invest* 2008; 118: 868-878)。そして、梗塞後心不全において、クルクミンと心不全の標準治療薬である ACE 阻害薬は相加的に心機能を改善すること、ヒトで安全性の確かめられているクルクミン 2g/日経口投与により、心不全治療効果のあるラット 50mg/kg/日経口投与よりも高い血中濃度が得られることを見出した。これらの事実は心筋細胞核内情報伝達を標的とした薬物療法が臨床現場において有用であることを示唆する。さらにより高い血中濃度の得られる経口クルクミン DDS を開発し、創薬に向けた新規誘導体作成のための合成経路も確立し、実用化に向けて着実に進みつつある。

遺伝子導入により体細胞がリプログラミングし、幹細胞化することが報告された (iPS 細胞)。この方法は ES 細胞の倫理的問題をクリアすると同時に、分化効率の高い幹細胞が得られる可能性がある。そこで末期心不全に対する心筋再生療法に関しては、本年度は遺伝子導入により内因性幹細胞を活性化し、心血管構築細胞を再生する治療法の確立に向けてマウス iPS 細胞株において心筋分化システムを確立し、脱アセチル化酵素阻害薬である Tricostatin A (TSA) により、著明に心筋分化が亢進することを見出した。さらに TSA により、分化した iPS 細胞の pluripotency が著明に減少することを見出し、TSA が iPS 細胞の癌化を抑制する可能性も示した。また増殖因子徐放化投与の有効性を種々の動物レベルで証明した。

E. 結論

本研究グループは心筋細胞分化と肥大の情報伝達において多くの新たな知見を見出してきた。p300 特異的アセチル化阻害作用を持つクルクミンによる心不全治療においてはヒトで臨床試験を行う一歩手前まで到達した。末期心不全に対する心筋再生療法に関しては、体細胞への遺伝子導入による心血管構築細胞再生に向けて前進した。心不全の新規治療法の確立、臨床現場における実用化に向けて今後も突き進む予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Sunagawa Y, Morimoto T, Takaya T, Wada H, Kawamura T, Fujita M, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K Cyclin-dependent kinase-9 is a component of p300/GATA4 complex required for phenylephrine-induced hypertrophy in cardiomyocytes. *J Biol Chem.* 2010 ; 285: 9556-9678

2) Kaichi S, Hasegawa K, Takaya T, Yokoo N,

Kawamura T, Morimoto T, Ono K, Baba S, Yamanaka S, Nakahata T, Heike T. Cell line-dependent differentiation of induced pluripotent stem cells into cardiomyocytes in mice. *Cardiovasc Res* 2010; 88: 314-323

3) Kaichi S, Takaya T, Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, Ono K, Shimatsu A, Baba S, Heike T, Nakahata T, Hasegawa K. Cyclin-dependent kinase 9 forms a complex with GATA4 and is involved in the differentiation of mouse ES cells into cardiomyocytes. *J Cell Physiol* 2011; 226: 248-254

2. 学会発表

1) Shigeno A, Sogo T, Takaya T, Kojima Y, Hasegawa K, Kawamura T. Role of Wnt signaling in cardiac differentiation from mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. **World Congress of Cardiology Scientific Sessions 2010** (口頭発表) 2010年6月18日 北京(中国)

2) Sugimoto Akihisa, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Hiromichi Wada, Tomohide Takaya, Akira Shimatsu, Takeshi Kimura, Masatoshi Fujita, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto: SNF5/INI1 inhibits hypertrophic responses through repression of p300/GATA4 in cardiac myocytes. **第14回日本心不全学会学術集会 2010, 10.7-9, 東京**

3) Satoshi Terada, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Hiromichi Wada, Tomohide Takaya, Akira Shimatsu, Takeshi Kimura, Masatoshi Fujita, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto: RbAp46 and RbAp48 are novel components of p300/GATA4 complex required for hypertrophic responses in cardiac myocytes. **第14回日本心不全学会学術集会 2010, 10.7-9, 東京**

3. 出版物

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

経口脂肪酸摂取によるアルツハイマー病の発症予防法 開発に関する研究

研究者：道川 誠

研究期間：平成20年4月～平成23年3月

研究要旨 経口脂肪酸摂取によって、アルツハイマー病病理である脳内 A β 沈着抑制効果ならびに認知機能障害予防効果を検討した。アルツハイマー病モデルマウスにアラキドン酸含有餌および DHA 含有餌を長期（9～17ヶ月齢）に経口摂取させたところ、アラキドン酸含有餌で飼育したマウスでは脳内 A β 沈着が抑制され、13ヶ月齢で発症する認知機能障害が緩和されることが明らかになった。その分子機構として脳内脂肪酸組成の変化によって A β 代謝が変動し、A β 42/A β 40 比の低下が引き起こされる可能性が示された。また、アラキドン酸含有餌および DHA 含有餌で飼育したマウス脳では、リポポリサッカライド(LPS)刺激による脳内炎症を有意に抑制することが明らかになった。疫学研究により、食事によるアラキドン酸ならびに DHA などの脂肪酸摂取が多い群では認知機能が高い傾向があることが女性において示された。今後、縦断的研究によってアラキドン酸や DHA 摂取によるアルツハイマー病発症予防効果を確認できれば、介入研究で検証することによって、食餌療法やサプリメント投与によるアルツハイマー病発症予防法が確立できる可能性がある。

分担研究者

- (1) サントリーウエルネス株式会社
健康科学研究所 河島 洋
- (2) サントリーウエルネス株式会社
健康科学研究所 紺谷 昌仙
- (3) 福祉村病院長寿医学研究所
赤津 裕康
- (4) 独立行政法人 国立長寿医療研究センター
下方浩史

A. 研究目的

経口脂肪酸摂取によるアルツハイマー病の脳病理である A β 沈着と認知機能障害に対する予防効果を検討し、真に有効で比較的容易な予防法を確立する。そのために、(1) アルツハイマー病モデル動物にアラキドン酸含有餌を長期投与し、脳内 A β 沈着、及び認知機能障害に対する予防効果の評価とメカニズム解明を行う。(2)野生型マウスに上記餌を3ヶ月投与し、LPSの腹腔内投与で惹起させた脳内炎症に対する効果を検討する。(3) ヒトでの脂肪酸摂取の認知機能への影響を長期縦断疫学研究から検証する。これらの研究によって介入試験実施につなげる基盤情報を得ることを目指す。

B. 研究方法

1) アルツハイマー病モデルの APP トランスジェニックマウス(Tg2576)に、9 から 17 ヶ月齢まで、不飽和脂肪酸アラキドン酸含有餌あるいは DHA 含有餌で飼育し、17ヶ月齢時にマウス脳を回収、

ELISA による A β 量の定量、抗 A β 抗体を用いた免疫染色による老人斑形成について評価した。更にアラキドン酸が A β 産生、分解、除去に及ぼす影響を生化学的に解析した。17ヶ月齢で大脳皮質、肝臓、血液（血漿、赤血球）を採取し、ガスクロマトグラフィーにより、脂肪酸の同定および定量を行った。

(2) 野生型マウスに3ヶ月から6ヶ月までアラキドン酸含有餌あるいは DHA 含有餌で飼育し、脳内サイトカインの mRNA レベルを解析した。

(3) 学習・記憶行動における脂肪酸摂取の影響(13ヶ月齢時点)については、Tg2576 マウスを9ヶ月齢からアラキドン酸含有餌あるいは DHA 含有餌で飼育し、13ヶ月齢時に行動試験(Y字迷路試験、新規物体認識試験、恐怖条件付け学習試験)を実施した。

(4) アラキドン酸あるいは DHA 摂取の認知機能への影響をヒトで検証するために、「国立長寿医療研究センター・老化に関する長期縦断疫学研究」に参加する40歳以上の地域在住の中高齢者男女約2,400人の長期にわたる栄養素等摂取量を解析した。解析には写真撮影を併用した3日間の秤量式食事記録調査から、脂肪酸45種類を含む119項目の栄養素、および18群の分類に基づく食品群別摂取量を算出した。尚、計算には五訂増補食品成分表および五訂増補脂肪酸組成表を用いた。

(倫理面への配慮) 動物実験、遺伝子組換え実験およびヒト由来試料を用いる実験については、研

究計画申請を当該研究施設に提出し、倫理委員会または実験動物倫理委員会によって審査・承認を得て行った。動物実験については、わが国における「動物の愛護及び管理に関する法律」、「厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知における基本指針」、「動物の処分方法に関する指針」等の遵守、また遺伝子組換え実験においては、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」、ヒト由来試料を用いる実験においては、生命倫理面および個人情報管理面で最大限の努力を払い、「ヘルシンキ宣言」などの法令等を遵守して研究を行った。

C. 研究結果

(1) アラキドン酸または DHA 含有餌による A β 沈着への影響の分子メカニズムの解明：経口脂肪酸摂取によって、アルツハイマー病病理である脳内 A β 沈着抑制効果ならびに認知機能障害予防効果をアルツハイマー病モデルマウス (Tg2576) を用いて検討した。その結果、アラキドン酸含有餌の摂取によってアルツハイマー病モデル動物大脳における A β 40 沈着がコントロール餌摂取群に比して約 35% に統計学的有意差をもって抑制されていた (ELISA 法)。更に、A β 42/A β 40 比の低下が認められた。また抗 A β 抗体を使用した免疫組織学的解析から A β によって形成されるアミロイド沈着がコントロール餌摂取群に比して約 40% に統計学的有意差をもって抑制されていた (Thioflavin S 染色)。しかし、DHA 含有餌で飼育されたマウスでは、コントロール群と有意な差はなかった。脳の生化学的解析により、餌から取り込んだアラキドン酸ならびに DHA は、脳の細胞膜の脂肪酸組成に影響し、それぞれアラキドン酸ならびに DHA のレベルを有意に上昇させたが、アラキドン酸の上昇の方が DHA に比して顕著であった。アラキドン含有餌においては、餌における脂肪酸組成の違いが脳内脂肪酸レベルに影響し、それが A β 代謝に影響を与え、脳内 A β 沈着が減少した可能性が考えられた。この研究計画は計画通り終了した (達成率 100%)。

(2) アラキドン酸または DHA 含有餌投与による認知機能障害予防効果の検討：更に、アルツハイマー病モデルマウス (Tg2576) を用いて認知機能に対する影響を検討した。Tg2576 マウスは 10 ヶ月齢前後で認知機能障害を呈する。そこで、アラキドン酸含有餌で 9 ヶ月齢から飼育した Tg マウスとコントロール餌で飼育した Tg マウスの認知機能検査を 13 ヶ月齢の時点で行った。その結果、アラキドン酸含有餌で飼育したマウスおよび DHA 含有餌で飼育したマウスにおける認知機能

は、コントロール群にくらべて障害の程度が有意に緩和されていた。以上(1)(2)の結果は、脂肪酸の経口摂取によって特にアラキドン酸含有餌の場合においては、アルツハイマー病発症を病理学的にも認知機能障害の面でも予防できる可能性を示している。そこで、3年目に疫学研究による検証を行った。

(3) アラキドン酸または DHA 含有餌投与による脳内炎症抑制効果の検討：野生型マウスに 3 ヶ月から 6 ヶ月までアラキドン酸含有餌あるいは DHA 含有餌で飼育し、脳内サイトカインの mRNA レベルを解析したところ、アラキドン酸含有餌あるいは DHA 含有餌で飼育したマウスでは両群とも、脳内 IL6, TNF α , iNOS, COX2 等の mRNA 発現が対照群に比して有意に抑制された。

(4) 長期縦断疫学調査による脂肪酸摂取が認知機能に与える影響の解析：ヒトにおけるアラキドン酸などの脂肪酸摂取の影響を検証するために、長期縦断疫学調査で得られたデータを解析した。横断的な解析の結果、女性において、アラキドン酸摂取量が多い群、および DHA 摂取量が多い群で、論理的記憶 I の得点が高い傾向が認められた。すなわちアラキドン酸や DHA 摂取量が多い群ほど、認知機能が高い可能性が考えられた。また女性ではアラキドン酸摂取量が低く、DHA 摂取量が高い群において論理的記憶 I の得点が高かった。このことは、エネルギー摂取量とは独立して、肉類の摂取量が少なく魚の摂取量が多い群において、認知機能スコアが高いことを示唆している。一方、男性では有意な関連性が認められなかった。3年目に開始したため横断的な解析までは終了したが、収集したデータの縦断的検討は今後に予定する。脂肪酸摂取の有効性が確認されれば、予防法確立に向けて介入試験を行う必要がある。

D. 考察

アルツハイマー病モデルマウスにアラキドン酸を含む餌を長期 (9~17 ヶ月齢) に亘り経口摂取させることにより、脳内 A β 沈着を抑制し、9~13 ヶ月齢の投与によっても 13 ヶ月齢で認められる認知機能障害の発症を緩和させることが明らかになった。その分子機構として A β 42/A β 40 比の低下による可能性が示された。DHA には A β 沈着抑制作用は弱かったが、その理由として経口摂取した DHA が脳内の細胞膜に効率よく反映されていない可能性が考えられた。またアラキドン酸および DHA 摂取は双方とも脳内炎症抑制作用があることが明らかになった。アルツハイマー病では、脳内炎症による 2 次的な細胞障害が惹起されることが知られていることから、これら脂肪酸

摂取は、こうした脳内炎症を抑制することで細胞障害を弱める可能性があると考えられる。

ヒトにおけるアラキドンなどの脂肪酸摂取の影響を検証するために、国立長寿医療研究センター予防開発部で行われている長期縦断疫学調査で得られたデータを解析した。横断的な解析の結果、女性において、アラキドン酸摂取量が多い群で、論理的記憶 I の得点が高い傾向が認められた。すなわちアラキドン酸摂取量が多い群ほど、認知機能が高い可能性が考えられた。一方、男性では有意な関連性が認められなかった。3年目に開始したため横断的な解析までは終了したが、収集したデータの縦断的検討は今後に予定する。脂肪酸摂取の有効性が確認できれば、予防法確立に向けて介入試験を行う必要がある。

E. 結論

不飽和脂肪酸摂取のアルツハイマー病分子病態ならびに認知機能障害への影響をアルツハイマー病モデルマウスを用いて解析した。アラキドン酸摂取により脳内 A β 沈着が抑制され、認知障害発症も緩和された。アラキドン酸摂取群、DHA 摂取群の双方で、脳内炎症抑制効果が明らかになった。アラキドン酸摂取の影響をヒトで検証するために、長期縦断疫学調査で得られたデータを解析した。横断的な解析の結果、女性において、アラキドン酸摂取量が多い群で、論理的記憶 I の得点が高い傾向が認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yasuno F, Tanimukai S, Sasaki M, Hidaka S, Ikejima C, Yamashita F, Kodama C, Mizukami K, Michikawa M, Asada T.

Association Between Cognitive Function and Plasma Lipids of the Elderly After Controlling for Apolipoprotein E Genotype

Am. J. Geriatr. Psychiat., in press, 2011.

Takamura A, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Murayama S, Ihara Y, Abe K, Shoji M, Michikawa M, Matsubara E.

The dissociation of A β from lipoprotein in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease accelerates A β 42 assembly.

J. Neurosci. Res., in press, 2011.

Takamura A, Okamoto Y, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Mouri A, Nabeshima T,

Sun H, Abe K, Shoji M, Yanagisawa K, Michikawa M, Matsubara E. Extracellular and intraneuronal HMW-A β oligomers represent a molecular basis of memory loss in Alzheimer's disease model mouse.

Mol. Neurodegener., 6: 20, 2011.

Nishitsuji K, Hosono T, Uchimura K, and Michikawa M. Lipoprotein lipase is a novel A β -binding protein that promotes glycosaminoglycan-dependent cellular uptake of A β in astrocytes.

J. Biol. Chem., 286: 6393-6401, 2011.

Akatsu H, Ogawa N, Kanesaka T, Hori A, Yamamoto T, Matsukawa N, Michikawa M. Higher activity of peripheral blood angiotensin-converting enzyme is associated with later-onset of Alzheimer's disease.

J. Neurol. Sci., 300: 67-73, 2011.

Minagawa H, Watanabe A, Akatsu H, Adachi K, Ohtsuka C, Terayama Y, Hosono T, Takahashi S, Wakita H, Jung C-G, Komano H, and Michikawa M.

Homocysteine, another risk factor for Alzheimer's disease, impairs apolipoprotein E3 function.

J. Biol. Chem., 285:38382-38388, 2010.

Jung C-G, Horike H, Cha B-Y, Uhm K-O, Yamauchi R, Yamaguchi T, Hosono T, Iida K, Woo J-T, Michikawa M.

Honokiol increases ABCA1 expression level by activating retinoid X receptor β .

Biol. Pharm. Bull., 33:1105-1111, 2010.

Nakamura T, Watanabe A, Fujino T, Hosono T, and Michikawa M

Apolipoprotein E4 (1-272) fragment is associated with mitochondrial proteins and affects mitochondrial function in neuronal cells

Mol. Neurodegener., 4: 35, 2009.

Doi Y, Mizuno T, Maki Y, Jin S, Mizoguchi H, Ikeyama M, Doi M, Michikawa M, Takeuchi H, and Suzumura A

Microglia activated with toll-like receptor 9 ligand CpG attenuate oligomeric amyloid- β neurotoxicity in vitro and in vivo models of