

剰発現させた培養系を確立し、*in vitro* における LPL の機能を解析した。その結果、細胞内に発現する LPL によっても細胞外の A $\beta$  を取り込み、分解させることが明らかになった。次年度以降に動物モデルでの検討に備え LPL トランスジェニックマウスを作成し、APP-TG マウスとの交配マウスを作成し、現在加齢させている。解析は平成 25 年度になる予定である。A $\beta$  は ApoE-HDL に結合して分解されるもの、LPL に結合して分解されるもの、ならびに BBB を介して脳外へ排出されるものがある。現在 AD 治療法としてワクチン療法や抗体療法が試みられているが、BBB を介した脳内への抗体移行の効率が悪い。仮に BBB を介した脳内への抗体移行の効率を促進される方法が開発されれば、使用する抗体量を減らすことが可能といなり、大きな財政的な貢献ができる。本年度我々は、A $\beta$  抗体修飾による脳内移行促進させる薬剤開発を開始し、いくつかの候補化合物が抗体の脳内移行効率を高めることを明らかにした。また、この化合物による脳内移行効率の増加が、ApoE アイソフォーム依存的であるかどうかを検討する必要がある。

#### E. 結論

(1) HDL 産生ができない ABCA1 ノックアウトマウスでは、BBB の透過性の更新が見られた。昨年度の結果と合わせて考えると、この原因として脳内 HDL が存在しないためである可能性が考えられた。

(2) microRNA-33 が培養アストロサイトで ApoE, HDL 産生を低下させ、アンチセンス microRNA-33 が増加させることを確認した。化合物とは異なる創薬の可能性がある。(3) 脳内に存在するリポ

タンパクリパーゼ(LPL)が、新規 A $\beta$  結合分子であり、A $\beta$  の細胞内取り込みと分解を促進することを発見した。LPL トランスジェニックマウスを作成し APP-Tg マウスと交配させたマウスを作成し加齢させている。(4) ワクチン療法や抗体療法が試みられているが、BBB を介した脳内への抗体移行の効率が悪い。本年度我々は、A $\beta$  抗体修飾による脳内移行促進させる薬剤開発を開始し、いくつかの候補化合物が抗体の脳内移行効率を高めることを明らかにした。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Zou K, Liu J, Watanabe A, Hiraga S, Liu S, Tanabe C, Maeda T, Terayama Y, Takahashi S, Michikawa M, Komano H.

A $\beta$ 43 is the earliest depositing A $\beta$  species in APP transgenic mouse brain and is converted to A $\beta$ 41 by two active domains of ACE

Am J Pathol, in press.

Hosono-Fukao T, Ohtake-Niimi S, Hoshino H, Akatsu H, Hossain M, Nishitsuji K, van Kuppevelt, Kimata K, Michikawa M, Wyss-Coray T, Uchimura K. Heparan Sulfate Subdomains that are Degraded by Sulf Accumulate in Cerebral Amyloid  $\beta$  Plaques of Alzheimer's Disease : Evidence from Mouse Models and Patients.

Am J Pathol, 180(5): 2056-2067, 2012.

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.* 20(7): 574-583, 2012.

道川 誠  
アルツハイマー病の分子病態と ApoE  
細胞工学 31 巻 No10, p1135-1138, 2012

Ito and Michikawa  
Regulation by FGF-1 of apoE/HDL generation in astrocytes.  
*Apolipoproteins-Regulatory Functions , Health Effects and role in disease*, Editeors, Sidorov A.D, and Nikitin M.Y. Nova Biomedical. 131-143, 2012

道川 誠  
アルツハイマー病研究の進歩—特に脂質代謝と関連して  
老年期認知症研究会 19 巻(No. 2) 2012 年

道川 誠  
アルツハイマー病の危険因子アポリポタンパク質 E4 の疾患発症の分子機構に関する最近の知見と新薬開発への応用おのの可能性  
医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス Vol 44, No1, 21-25, 2013

## 2. 学会発表

Makoto Michikawa  
Effects of apoE on lipid transport in the brain and Alzheimer disease  
ApoE, ApoE receptors and Neurodegeneration Symposium  
June 4th-5th, 2012, Mayo Clinic  
Jacksonville, FL, USA

道川 誠  
口腔疾患とアルツハイマー病

第 14 回抗加齢歯科医学研究会  
2012 年 11 月 11 日、東京

道川 誠  
アルツハイマー病の血管因子  
第 31 回日本認知症学会 シンポジウム  
「血管性認知症研究の最前線」  
2012 年 10 月 26 日、つくば

Michikawa M.  
Oral diseases as a risk for Alzheimer disease  
Nagoya City University and Hallym University joint symposium.  
2013,1.14, Hallym University, Korea

道川 誠  
脳内脂質代謝変動とアルツハイマー病分子病態  
—Apolipoprotein E 依存的脂質輸送との関連から—  
北海道大学大学院薬学研究院  
2012-7-2

Michikawa M. et al, Arachidonic acid diet prevents memory impairment and brain Aβ deposition in Tg2576 mice.  
Symposium: PUFA and its derivatives-Brain and neuroprotective agents for senescence. ISN-ESN, Aug 30, 2011, Athens, Greece.

道川 誠  
口腔疾患とアルツハイマー病  
日本抗加齢医学会総会 シンポジウム  
2012 年 6 月 23 日 (土) 横浜

道川 誠  
特別講演 1. Apolipoprotein E の脳内機能とアルツハイマー病  
第 9 回合同地方会  
2012 年 2 月 9 日 (土)、岡山

ゾウケン、劉俊俊、渡邊淳、劉しゅ余、

田邊千晶、前田智司、寺山靖夫、高橋智、道川誠、駒野宏人  
Early deposition of Ab43 in APP transgenic mouse brain  
第31回日本認知症学会 2012年10月26日、つくば

辻田麻紀・秋田展克・横山信治・野路久仁子・道川誠  
高グルコースにより誘発される低 HDL 産生の分子制御機構の解明  
High D-glucose reduced apoA-I and HDL generation in liver cells  
第85回日本生化学会、2012年12月15日、福岡

伊藤仁一、星川真理子、長安祐子、道川誠  
アストロサイトによって放出される

FGF-2 の apoE/HDL 新生促進作用  
第85回日本生化学会、2012年12月15日、福岡

Maki Tsujita, Nobukatsu Akita, M Anwar Hossain, Frank J Gonzalez, Shinji Yokoyama and Makoto Michikawa  
Stress-mediated acute corticosterone production is depending on plasma HDL level but not long-term stress response in mice  
チトクローム P450 発見 50 周年記念シンポジウム、2012年12月2日、福岡

H. 特許申請  
なし

厚生労働科学研究費補助金(認知症対策総合研究事業)

(分担)研究報告書

A $\beta$  産生分子機構の解明と特異的制御法による治療法の開発

研究分担者: 富田泰輔 東京大学大学院薬学系研究科

研究要旨

A $\beta$  は前駆体タンパク APP より、 $\beta$  および  $\gamma$  セクレターゼによる切断を受け産生・分泌される。この A $\beta$  産生システムはいずれも膜タンパクであり、細胞膜脂質環境と小胞輸送系に大きく影響を受けることが知られている。申請者はこれまでに、 $\beta$  セクレターゼがスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) 代謝系、 $\gamma$  セクレターゼがセラミド代謝系の影響をうけることを明らかにした。一方、孤発性アルツハイマー病の成因については未だ明らかにされていないが、近年の GWAS 解析により、BIN1、PICALM、CD2AP など小胞輸送関連分子遺伝子の SNP がアルツハイマー病発症リスクと相関することが示され、発症メカニズムと細胞内小胞輸送経路の変容が示唆された。すなわち、神経細胞膜脂質および小胞輸送の変容が A $\beta$  産生に影響を与え、ひいてはアルツハイマー病発症に関わるという分子機構が想定された。そこで本研究においては、セクレターゼ活性を制御するこれら膜脂質代謝経路および小胞輸送系に関わる分子群を解析し、その活性を制御する低分子化合物を開発することで、新規アルツハイマー病治療薬の開発を目指す。

A. 研究目的 :

本研究計画においては、神経細胞膜脂質組成及び小胞輸送系に着目し A $\beta$  産生を選択的に阻害する創薬標的分子の同定と低分子化合物のスクリーニングを行う。本年度は具体的に、1) S1P 代謝経路による A $\beta$  制御機構の分子機構解明と *in vivo* における治療効果の解析、2) GWAS より同定された孤発性 AD の遺伝学的危険因子の機能解明、の 2 点について解明を進めた。

B. 研究方法

① A $\beta$  産生に影響を与える新規 GPCR の RNAi スクリーニングにより得られた候補分子について、主に培養細胞と薬理学的実験を利用して解析を進めた。

② GWAS 解析より AD の遺伝学的危険因子と同定された遺伝子のうち、BIN1 (Bridging integrator 1) および PICALM

(Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein) の発現変動が A $\beta$  産生に与える分子機構について精査した。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験については当施設の実験規則ならびに動物愛護の精神に則って行い苦痛の防止にも留意した。

C. 研究結果

①前年度までに見出していた A $\beta$  産生を低下させる  $\gamma$  セクレターゼモジュレーター FTY720、KRP-203 の標的候補分子を検討し、特に神経系培養細胞において EDG6/S1PR4 のノックダウンにより FTY720 による A $\beta$  産生効果が失われることを見出した。また FTY720 の薬理作用において Gi 阻害剤である Suramin が影響を与えなかった。

②GWAS 解析より孤発性 AD 患者において BIN1 および PICALM 遺伝子近傍に存在する SNP が遺伝学的危険因子として同定された。これまでに培養細胞を用い BIN1 が BACE1 の発現量を制御していること、PICALM が  $\gamma$  セクレターゼの局在を制御していることを見出していた。それぞれの分子機構についてさらに検討を進め、BIN1 については BACE1 の細胞質内領域と直接結合し、リサイクリングエンドソームからリソソームへの輸送を正に制御している、A $\beta$  産生抑制因子であることが明らかとなった。一方 PICALM は  $\gamma$  セクレターゼ構成因子のうち特に Nicastrin の細胞質内領域に直接結合していること、 $\gamma$  セクレターゼのリソソーム局在化を亢進することで A $\beta$  42 産生を亢進させる因子であることが示された。実際、リソソーム成熟化を抑制する PIKfyve 阻害剤である YM201636 によっても A $\beta$  42 産生比率の低下が確認された。またマウス *Picalm* ノックアウトマウスの解析を開始し、ホモノックアウトマウスが耐性致死であるがヘテロノックアウトマウスでは発生異常が見られないこと、さらにヘテロノックアウトマウスでは脳内 A $\beta$  42 存在比率が有意に低下していることが明らかとなった。

#### D. 考察

①神経細胞における FTY720、KRP-203 の標的分子として、EDG6/S1PR4 受容体が示唆された。またこのシグナル経路は低分子量 G タンパク質を介していない、新規メカニズムであることが示唆された。この受容体に関連する特異的リガンドや低分子化合物の開発はアルツハイマー病治療薬開発につながる可能性がある。

②BIN1 の BACE1 発現量へ与える分子メカニズムとして、リソソームへの分解経路の制御であることが示唆され、BIN1 機能を亢進させることで A $\beta$  産生を抑制できる可能性が考えられた。また BIN1 は神経細胞シナプスにおける活動電位依存性神経伝達物質の放出にも関与しており、神経活動に応じた A $\beta$  産生・分泌に関連していることも考えられた。一方、PICALM については、 $\gamma$  セクレターゼのリソソーム局在化による A $\beta$  42 産生亢進機能が示され、低分子化合物による制御の可能性についても明らかとなった。さらにノックアウトマウスを用いた個体レベルでの検証により、PICALM 機能の部分的抑制によって A $\beta$  42 蓄積の低下が期待されたことから、アルツハイマー病モデルマウス A7 との交配を開始した。

#### E. 結論

①FTY720 や KRP-203 による EDG6/S1PR4 経路を介した A $\beta$  産生制御システムは新

規アルツハイマー病治療薬開発における新規創薬標的分子であると考えられた。

②GWAS解析より見出されたBIN1、PICALMはそれぞれ $\beta$ 、 $\gamma$ セクレターゼの発現や局在を変化させることによってA $\beta$ 産生レベルを調節、ひいてはアルツハイマー病発症に関与している。特にPICALM機能の部分的抑制薬はアルツハイマー病発症を抑制する可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Takeo K, Watanabe N, Tomita T\*, Iwatsubo T: Contribution of  $\gamma$ -secretase cofactors to the formation of catalytic pore of presenilin 1. *J Biol Chem* 287(31):25834-25843, 2012
- 2) Suzuki K, Hayashi Y, Nakahara S, Kumazaki H, Prox J, Horiuchi K, Zeng M, Tanimura S, Nishiyama Y, Osawa S, Sehara-Fujisawa A, Saftig P, Yokoshima S, Fukuyama T, Matsuki N, Koyama R, Tomita T\*, Iwatsubo T: Activity-dependent Cleavage of Neuroigin 1. *Neuron* 76(2):410-422, 2012
- 3) Takagi-Niidome S, Osawa S, Tomita T\*, Iwatsubo T: Inhibition of  $\gamma$ -secretase activity by a monoclonal antibody against the extracellular

hydrophilic loop of presenilin 1. *Biochemistry* 52(1):61-69, 2013.

- 4) Imamura Y, Umezawa N, Osawa S, Shimada N, Higo T, Yokoshima S, Fukuyama T, Iwatsubo T, Kato N, Tomita T\*, Higuchi T: Effect of helical conformation and side-chain structure on  $\gamma$ -secretase inhibition by  $\beta$ -peptide foldamers: Insight into substrate recognition. *J Med Chem* in press

##### 2. 学会発表

<海外>

- 1) Taisuke Tomita\*, Yuichi Morohashi, Kunihiko Kanatsu, Takeshi Iwatsubo: PICALM regulates A $\beta$ 42 production by modulation of  $\gamma$ -secretase trafficking. AAIC2012. July 16, 2012, Vancouver, Canada
- 2) Taisuke Tomita\*: Activity dependent membrane protein processing and AD. October 7, 2012, Workshop on Alzheimer's disease and related disorders. Taipei, Taiwan
- 3) Taisuke Tomita\*, Shizuka Takagi-Niidome, Takeshi Iwatsubo: The  $\alpha$ -helical structure of the hydrophilic loop1 of presenilin 1 contributes to the formation of the substrate binding site. Neuroscience 2012. October 15, 2012, New Orleans

- 4) Toji Miyagawa, Yuichi Morohashi, Shoji Tsuji, Taisuke Tomita\*, Takeshi Iwatsubo: BIN1 negatively modulates A $\beta$  production from cultured cells. Neuroscience 2012. October 15, 2012, New Orleans
- 5) Taisuke Tomita\*, Shizuka Takagi-Niidome, Tomoki Sasaki, Takeshi Iwatsubo: Hydrophilic loop 1 and the C terminus of presenilin 1 are involved in the initial substrate binding of the  $\gamma$ -secretase. March 6-10, 2013, AD/PD 2013, Florence, Italy
- 6) Koji Takeo, Shun Tanimura, Ivan Krasmirov Zahariev, Satoshi Yokoshima, Tohru Fukuyama, Taisuke Tomita\*, Takeshi Iwatsubo: Molecular mechanism of phenylimidazole-type  $\gamma$ -secretase modulators. March 6-10, 2013, AD/PD 2013, Florence, Italy
- 3) 富田泰輔\*: $\gamma$ セクレターゼの構造活性相関 2012年10月4日 第三回神経科学と構造生物学の融合研究会 大阪
- 4) 富永綾、富田泰輔\*、岩坪威: $\gamma$ -secretase 活性中心サブユニット Presenilin1 の第4膜貫通領域の構造解析 2012年10月26日第31回日本認知症学会学術集会 つくば
- 5) 金津邦彦、諸橋雄一、富田泰輔\*、岩坪威:PICALM がアルツハイマー病の病態形成に寄与する分子機構の解明 2012年10月26日第31回日本認知症学会学術集会 つくば
- 6) 福島正哉、諸橋雄一、富田泰輔\*、岩坪威:低分子量 G タンパク質 Rab2A、Rab30 による A $\beta$  産生・分泌調節機構の解析 2012年10月26日第31回日本認知症学会学術集会 つくば
- 7) 富田泰輔\*:  $\gamma$ セクレターゼ抑制薬 2012年10月28日 第31回日本認知症学会学術集会 つくば

<国内>

- 1) 富田泰輔\*: $\gamma$ セクレターゼ活性制御機構の理解に基づいたアルツハイマー病治療薬開発 2012年5月22日 第53回日本神経学会学術集会 東京
- 2) 富田泰輔\*:認知症への先制医療:アミロイド蓄積をいつ、どのように防ぐか 2012年9月29日 第34回日本生物学的精神医学会学術集会 神戸
- 8) 富田泰輔\*:アルツハイマー病の先制医療開発に向けた A $\beta$  代謝システムの理解 2012年11月27日 第30回神経治療学会総会 小倉
- 9) Taisuke Tomita\*: Development of pre-emptive medicine for Alzheimer disease based on molecular basis of A $\beta$  production. December 6, The 17th Takeda Science Foundation

Symposium on Bioscience. Osaka,  
Japan

- 10) Yuichi Morohashi, Taisuke Tomita\*,  
Kunihiko Kanastu, Takeshi Iwatsubo:  
PICALM regulates A $\beta$ 42 production  
by modulation of  $\gamma$ -secretase  
trafficking. December 11, 2012, The  
35th Annual Meeting of the Molecular  
Biology Society of Japan. Fukuoka,  
Japan.
- 11) Taisuke Tomita\*, Kunimichi Suzuki,  
Takeshi Iwatsubo: Activity-dependent  
proteolytic cleavage of Neuroligin 1.  
December 13, 2012, The 35th Annual  
Meeting of the Molecular Biology  
Society of Japan. Fukuoka, Japan.
- 12) 富田泰輔\*:セクレターゼ活性の制御によ  
るアルツハイマー病治療薬開発 2013年  
3月1日 第29回高峰カンファレンス 東  
京
- 13) 高杉展正、佐々木朝樹、富田泰輔\*、岩  
坪威:スフィンゴ脂質類似化合物 FTY720  
及び KRP203 によるアミロイド  $\beta$  産生制御  
機構の解析 2013年3月21日 第86回  
日本薬理学会年会 福岡
- 14) 富田泰輔\*:セクレターゼ活性の制御とシ  
ナプス機能の分子連関 2013年3月28  
日 日本薬学会 133 年会 横浜

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



厚生労働科学研究費補助金(認知症対策総合研究事業)

(分担)研究報告書

Aβ分解調節

西道 隆臣

理化学研究所脳科学総合研究センター

研究要旨

これまで、Aβ分解酵素ネプリライシンが脳内のAβ定常量を規定すること、また、加齢に伴うネプリライシンの発現低下が孤発性アルツハイマー病の原因に寄与する可能性を示してきた。すなわち、ネプリライシンの活性制御法の確立は、抗AD戦略へ発展する可能性が大きい。本年度は、ネプリライシンが、その細胞内領域のリン酸化/脱リン酸化の状態によって、細胞膜への局在および活性が規定されており、リン酸化状態を制御するPP1aが、重要な役割を担っている事を明らかにした。さらに、PP1aの上流にあると考えられるソマトスタチン受容体(SSTR-1およびSSTR-4)が、ネプリライシン活性の増強に関与する可能性も見出し、これらが新たな創薬標的となる事が示唆された。一方、脳特異的な発現を示すアデノ随伴ウイルスを用いた系により、ネプリライシンによる遺伝子治療へ展開できる可能性を示すことに成功した。このような、薬理学的アプローチや遺伝子治療法の確立は、ネプリライシンを基軸としたAβ分解促進のための新たな抗AD戦略へ発展することが大きく期待される。

A. 研究目的：

本研究では、アルツハイマー病(AD)の発症に深く関与するAβの脳内における代謝を制御する神経ペプチド-受容体-シグナル伝達システムを同定し、その機構を明らかにする。さらに、同定した機構に対するモジュレーターをマウスに投与し、脳内Aβレベルを制御することによって、アルツハイマー病の予防と治療に応用することを目的とする。

B. 研究方法

ネプリライシン活性制御因子として、神経ペプチドの一つソマトスタチンや神経成長因子(NGF, BDNF, NT-3, NT-4)の同定に

至っている。これらによるネプリライシン活性制御機構の詳細を明らかにし、新たな創薬標的を提示する。一方、末梢投与により脳特異的な発現を示すアデノ随伴ウイルス系を確立しており、この系を用いたネプリライシンによるADに対する遺伝子治療法の可能性を提起するために、ADモデルを用いて、その効果を検証する。

(倫理面への配慮)

本研究は、当該施設の倫理委員会の承認を受けて行った。特に動物実験については当研究施設の実験規則ならびに動物愛護の精神に則って行い苦痛の防止にも留意した。

### C. 研究結果

神経成長因子 (NGF, BDNF, NT-3, NT-4) によるネプリライシンの活性制御機構の解析から、ネプリライシンの局在は、ネプリライシン細胞内領域 (N 末端から 6 残基目のセリン) のリン酸化/脱リン酸化により制御されている事が明らかとなった (Kakiya N. et al. JBC 2012)。特に、protein phosphatase 1a (PP1a) が、ネプリライシン活性の増強に関与している事が明らかとなった。これは、以前我々が報告した、ネプリライシン活性増強因子：ソマトスタチンの作用と共通の分子機構である可能性が示唆された。そこで、初代培養神経細胞へソマトスタチンを添加した結果、PP1a の発現が増強する事を明らかにした。また、PP1a は、DARPP32 の作用により活性化している事も示唆された。次に、ネプリライシン活性に対するソマトスタチン受容体 (SSTR) アゴニストのスクリーニングを行った結果、SSTR-1 と SSTR-4 特異的なアゴニストにより、ネプリライシン活性が増強する事を明らかにした。

一方、ネプリライシンによる遺伝子治療を確立するために、末梢投与ながら脳特異的な発現を示すアデノ随伴ウイルス (rAAV9) にネプリライシン cDNA を神経特異的なプロモーターと共に組み込んだ rAAV9-NEP を作製し、マウスでの効果を検証した。その結果、導入したネプリライシンは想定通りの発現パターンを示す事が確認されたため、次に AD モデルマウスとしてまず、APP トランスジェニックマウス (APP-Tg) への、rAAV9-NEP の導入を試みた。rAPPV9-NEP の導入により、APP-Tg マウスの脳内 A $\beta$  レベルの低下が確認され、

行動異常の改善も認められた (Iwata N. et al. Sci. Rep. 2013)。

### D. 考察

A $\beta$  分解酵素ネプリライシンの活性は、その細胞内領域のリン酸化/脱リン酸化状態により規定されていることから、これら制御に関与する因子が新規創薬候補として挙げられる。特に、ネプリライシン活性の増強に関与するソマトスタチンは、その受容体 SSTR がヘテロダイマーを形成することや、SSTR-4 単独の欠損マウスの解析では、ネプリライシン活性の変化や脳内 A $\beta$  量に変化が認められていないことから、SSTR-1 と SSTR-4 が協調的に作用している可能性が考えられる。細胞膜に局在する受容体は、創薬標的として好都合であり、今後の詳細な解析が待たれる。

rAAV9-NEP による遺伝子治療の可能性は、その発現特異性から、末梢投与という簡便な方法で脳 (神経) 特異的な遺伝子導入が可能になると考えられ、汎用性と安全性を両立させた方法となりえるだろう。

### E. 結論

A $\beta$  分解酵素ネプリライシンの活性は、神経成長因子を起点とする MAPK 経路により抑制され、ソマトスタチンを起点とする PP1a を介した経路によりネプリライシン活性が増強される。また、ソマトスタチンは、SSTR-1 および SSTR-4 を介してシグナル下流の PP1a の活性化に関与している事も示唆された。このように、ネプリライシン活性の制御機構が明らかになったことで、ネプリライシン活性賦活化のための新規創薬標的を提示できた。更に、ネプリライシン

の遺伝子治療の可能性を示したことで、ネプリリシンを基軸としたAβ分解促進のための新たな抗AD戦略へ発展することが期待される。この戦略を樹立するために、更に詳細な解析を進めている。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

1. Kakiya, N., Saito, T., Nilsson, P., Matsuba, Y., Tsubuki, S., Takei, N., Nawa, H., Saido T.C. (2012) Cell-surface expression of the major Aβ degrading enzyme, neprilysin, depends on phosphorylation by MEK and dephosphorylation by protein phosphatase 1a. *J. Biol. Chem.*, 287, 29362-29372.
2. Y Abramowski, D., Rabe, S., Upadhaya, A.R., Reichwald, J., Danner, S., Staab, D., Capetillo-Zarate, E., Yamaguchi, H., Saido, T.C., Wiederhold, K.H., Thal, D.R., Staufenbiel, M. (2012) Transgenic expression of intraneuronal Aβ42 but not Aβ40 leads to cellular Aβ lesions, degeneration, and functional impairment without typical Alzheimer's disease pathology. *J. Neurosci.*, 32, 1273-1283.
3. Schlenzig, D., Röncke, R., Cynis, H., Ludwig, H.H., Scheel, E., Reymann, K., Saido, T., Hause, G., Schilling, S., Demuth, H.U. (2012) N-terminal Pyroglutamate (pGlu) formation of Aβ38 and Aβ40 Enforces Oligomer Formation and Potency to Disrupt Hippocampal LTP. *J. Neurochem.*, i121, 774-784.
4. Iwata, N., Sekiguchi, M., Hattori, Y., Takahashi, A., Asai, M., Ji, B., Higuchi, M., Staufenbiel, M., Muramatsu, S., Saido T.C. (2013) Global brain delivery of neprilysin gene by intravascular administration of AAV vector in mice. *Sci. Rep.*, in press.

## 2. 学会発表

<海外>

1. Saido, T.C. A single locus knockin mouse

model of AD. Neuroscience 2012, New Orleans, USA 2012, 10.

2. Saido, T.C. A single-locus knock-in mouse model of AD. Workshop on Alzheimer's Disease and Related Disorders, Xinbei, Taiwan 2012, 10.

<国内>

1. 西道隆臣. アルツハイマー病の新しい遺伝子改変モデル. アルツハイマー病の最先端研究シンポジウム in 熊本, 熊本, 日本, 2012, 9.
2. 西道隆臣. 新しいアルツハイマー病モデルマウス: Single locus knockin mice. 第45回広島神経医科学研究会, 広島, 日本, 2013, 1.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

## シード依存性タウ蓄積モデルの構築

研究分担者：長谷川成人<sup>1)</sup>

研究協力者：宮田悠<sup>1,2)</sup>、野中隆<sup>1)</sup>、久永真市<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都医学総合研究所 病態細胞生物研究室

<sup>2)</sup> 首都大学東京 大学院理工学研究科生命科学コース

### 研究要旨

タウの蓄積機序として、最初に凝集核(シード)が形成され、正常タウがシードに結合して線維化が進行する機構を考えて、その検証を行っている。培養細胞に様々なタウオパチー患者の不溶性画分を導入し、患者脳で認められる病的なタウ蓄積を培養細胞内で再現することを試みた。ヒトタウを発現させた細胞に、タウオパチー患者脳サルコシル不溶性画分を導入したところ、発現させたタウがリン酸化されて凝集体を形成し、界面活性剤の不溶性画分に回収することが示された。タウ蓄積のない患者脳不溶性画分の場合には蓄積がおこらないこと、また不溶性画分からタウを免疫除去すると蓄積が起こらないことから、不溶性画分内の異常タウがシードとして働き、発現したタウが不溶化することが強く示唆された。また、シードとして作用する患者脳の異常タウは異常プリオンと同様、熱やプロテアーゼに対して強い安定性を有していることが示された。

### A.研究目的

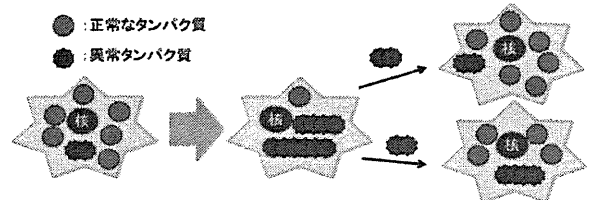
培養細胞でアルツハイマー病(AD)の患者脳に蓄積するタウのリン酸化や蓄積を再現するモデルは多数報告されているが、リン酸化の質、量、ユビキチン化、さらには蓄積の状態や不溶性タウの構造は、実際のAD患者脳に蓄積するタウのものとは本質的に異なっている。我々は、線維化したタウや $\alpha$ シヌクレインをリポフェクション試薬を用いて細胞内に導入すると細胞内で発現した正常蛋白分子がリン酸化やユビキチン化を受けて蓄積することを見いだした。この結果から、細胞内に形成した異常蛋白分子が一つの細胞に留まらず、細胞間を伝わることにより、同じ病変が脳全体に広がることで病気が進行するという考えに至り、「細胞内異常タンパク質伝播仮説」(図1)を提唱している。

今年度はADを含むタウオパチー患者脳に実際に蓄積する異常タウを細胞内に導入し、発現させたタウを蓄積させるかどうか、またそのシード能はどのような性質によるものかを検討

した。

その結果、AD、ピック病、FTDP-17の患者

### 細胞内異常蛋白質伝播仮説



脳に蓄積するそれぞれの異常タウは、培養細胞内に発現したタウを蓄積するタウアイソフォームが一致した場合にだけ蓄積させること、さらにその活性は、異常プリオンと同様、熱安定、プロテアーゼ抵抗性であることが示された。

### B.研究方法

AD、ピック病 (PiD)、FTDP-17 (Intron 10+16 変異)のそれぞれの患者剖検脳 (側頭葉あるいは頭頂葉)を1% Sarkosyl, 0.8M NaClを含むトリス緩衝液でホモジナイズし、15000rpm, 10分の遠

心後、上清をとり、それを超遠心することで Sarkosyl 不溶性画分を調製した。得られた画分を生理食塩水にて洗浄後、少量のリン酸緩衝液にけん濁し、超音波処理により均一に分散させ、これをシードとして、ヒト3リピート(3R)タウ、4リピート(4R)タウを発現する SH-SY5Y 細胞に遺伝子導入試薬を用いて導入した。シード添加後2日間培養を行った後、細胞を回収し、50mM Tris-HCl, 1% Triton X-100, 1% Sarkosyl を含む緩衝液で順次可溶化し、得られたそれぞれの画分を電気泳動した。PVDF 膜に転写後、抗タウ抗体 (T46, HT7)、抗リン酸化タウ抗体(pS396)等を用いてイムノブロット解析を行った。

### (倫理面への配慮)

すべての遺伝子操作は当研究所の専門委員会に遺伝子組換え生物等の使用等に関する申請を提出して承認をうけ、実験指針に従って行った。また、剖検脳からの試料調製については当研究所の倫理委員会に申請を提出して承認をうけ、実験指針に従って行った。

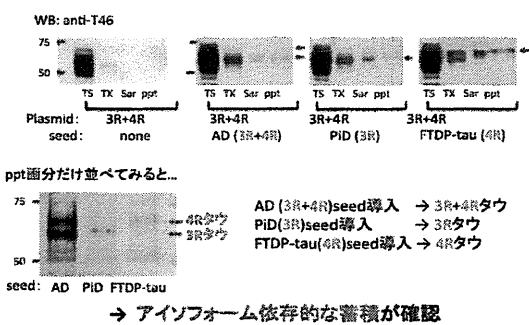
## C. 研究結果

### 1. 培養細胞内への患者脳タウシードの導入

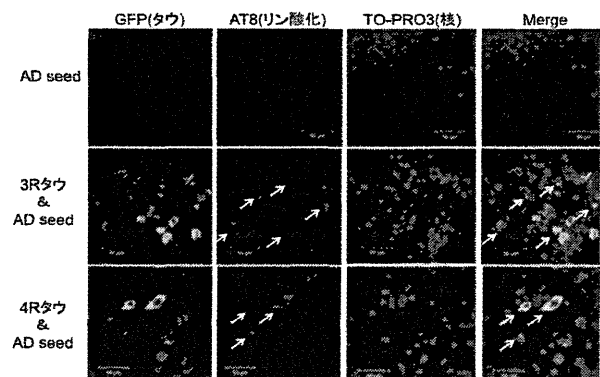
はじめに、培養細胞内にシードを導入し、内在性に発現しているタウが蓄積するかどうかを検討した。培養細胞内に患者脳由来シードを導入してから2日間培養した後、細胞を回収し界面活性剤を用いて細胞成分を4つの分画に分けてイムノブロット解析を行った。しかし、いずれの患者脳由来シードを細胞内に導入しても、ppt 画分にはバンドが検出されなかった。次に、培養細胞に 3R1N、4R1N タウ、あるいはその両方を発現させ、イムノブロットにて解析した。その結果、TS 画分に強いバンドが検出され、細胞内にタウが発現し、それが可溶性画分に回収されることが確認されたが、培養細胞にタウを一過性に過剰発現させただけでは ppt 画

分にはバンドは検出されなかった。一方、タウを発現させた細胞に患者脳由来シードを導入すると、TS 画分だけでなく、ppt 画分にもバンドが検出された。興味深いことに、細胞に発現させたタウのアイソフォームと導入したシード内に含まれているタウのアイソフォームが一致するときに ppt 画分にバンドが検出され、タウの蓄積が起こっていることが確認された(図2)。

3Rタウと4Rタウを共発現させた細胞に患者脳不溶性画分を導入



すなわち、3R タウと 4R タウが両方蓄積する AD 由来シードを加えた細胞では、3R タウあるいは 4R タウ発現細胞いずれの細胞でもタウは蓄積し、3R タウが蓄積する PiD 由来シードを加えた細胞では 3R タウ発現細胞でのみ蓄積した。また、4R タウが蓄積する FTDP-17 由来シードを加えた細胞では 4R タウ発現細胞でのみ蓄積がみられた。この蓄積は免疫組織染色による観察でも確認された(下図)。



したがって、培養細胞に発現させたタウは、シード依存的かつアイソフォーム依存的に蓄

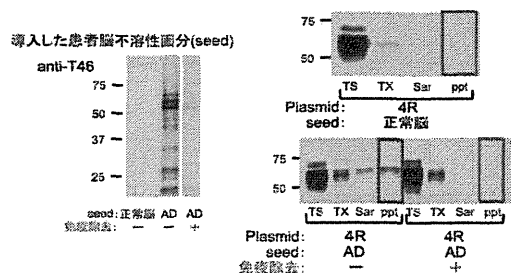
積することが示された。

## 2. 免疫除去によるタウの蓄積阻害の検討

タウオパチ患者脳から抽出したサルコシル不溶性画分には、タウ以外に様々なタンパク質が含まれている。これまで観察された培養細胞におけるシード依存的なタウの凝集が、シード内の異常タウが原因であるのかを調べる必要がある。そこで、タウ蓄積のない剖検脳不溶性画分、あるいはタウを選択的に取り除いた患者脳不溶性画分を培養細胞に導入し、培養細胞に発現させたタウが蓄積するかどうかを検討した。免疫除去は、非リン酸化タウ特異的抗体とリン酸化タウ特異的抗体の複数の抗体を組み合わせて行った。また、免疫除去後に患者脳由来不溶性画分内から異常タウの多くが除去されていることを確認した後、培養細胞内にこれらの不溶性画分を導入し、発現させたタウの不溶度を不溶性画分の免疫沈降前後で比較した。その結果、タウ蓄積がない患者脳不溶性画分を導入した場合や、タウを除去した不溶性画分を導入した細胞では、不溶性画分に全くタウのバンドが検出されず、タウ蓄積が起こらないことが示された(下図)。

### 免疫除去によるタウの蓄積阻害の検討

- ①タウの蓄積がない正常脳の不溶性画分を細胞内に導入
- ②タウ抗体を用いて免疫除去した患者脳シードの導入



患者脳不溶性画分からタウを免疫除去すると、タウ蓄積は起こらない  
→ タウの免疫療法の可能性

## 3. シードの熱安定性

タウのシード依存的な構造変化は、プリオン病の原因分子である異常プリオンのそれとよく似ている。蓄積するタウの構造も、クロスβ

構造を有している点で異常プリオンと共通している。異常プリオンの構造は非常に安定であり、熱やプロテアーゼ、放射線、ホルマリンなどの処理をしてもシーディング能力は保たれることが知られている。そこで、患者脳に蓄積する異常タウが異常プリオンと同様の性質を有しているか検討するため、患者脳由来不溶性画分に熱処理を加えシード能が保たれるかどうかを調べた。

熱処理前後の患者脳由来不溶性画分をタウ発現細胞に導入し解析しところ、いずれの患者脳シードにおいても、熱処理の有無に関わらず細胞内に発現させたタウが蓄積することが示された。すなわち、タウオパチ患者脳に蓄積した異常タウは、異常プリオンと同様、熱に対して安定な性質を持つことが明らかとなった。

## 4. シードのプロテアーゼ安定性

次に、患者脳由来不溶性画分にプロテアーゼ処理を施し、シーディング能力が保たれるかどうかを調べた。患者脳に蓄積した異常タウをプロテアーゼで処理すると、特定の構造を持たない表層部分は分解されるが、分子同士が密に結合している線維の中心部分(線維のコア領域)は分解されずに残ることが報告されている。トリプシン、キモトリプシン、Protenase Kなどのプロテアーゼで処理した患者脳由来不溶性画分をタウ発現細胞に導入したところ、いずれの不溶性画分を加えた細胞においても不溶性画分にバンドが出現し、タウが蓄積することが示された。すなわち、タウオパチ患者脳に蓄積した異常タウ線維は異常プリオンと同様、プロテアーゼに安定な性質を持っていることが示された。

## E. 考察

タウの異常病変はADだけでなく、PiDなど他の神経変性疾患にも見られる病変であるこ

とから、疾患特異的ではない、単なる終末病変ではないかという議論が一時期あった。しかしその後の解析で、タウの蓄積が認められる疾患は、それぞれ病理構造物の形態や蓄積するタウのアイソフォームが異なる特徴を持つことが明らかにされ、タウの蓄積と神経変性疾患の関係性が再び注目されるようになった。1998年にはFTDP-17にタウの遺伝子変異が発見され、タウのミスセンス変異や発現異常が異常リン酸化タウの蓄積を伴う認知症疾患を引き起こすことが遺伝学的にも証明された。

近年、異常タンパク質の蓄積機構として、シード依存性凝集が注目されている。線維化したタウが、凝集核となり正常タウと相互作用を起こすことでタウを異常構造、すなわち線維構造に変化させ、細胞内に蓄積する。実際に、試験管内の系や培養細胞の系、動物モデルにおいてもシード依存性凝集仮説を支持する結果が報告されつつある。

本年度は、患者脳に蓄積する異常タウが正常タウを異常に変換する活性(シーディング能)を有するか、またそれほどのような性質かを明らかにすることを目的とし、一過性にタウを発現させた細胞内にタウオパチ-患者脳から調製したサルコシル不溶性画分を導入し細胞内におけるタウの蓄積を解析した。その結果、患者脳に蓄積する異常タウはシーディング能を有すること、培養細胞内におけるタウの蓄積はアイソフォーム依存的に起こることが明らかとなった。タウオパチ-は疾患により蓄積するタウのアイソフォームが異なることが知られているが、細胞に発現させたタウのアイソフォームと導入したシードに含まれるタウのアイソフォームが同じ場合でないとタウの蓄積は起こらなかった。この結果は、孤発性疾患において、何らかの原因で構造変化したタウが出現すると、そのアイソフォームと同じアイソフォームの正常タウが相互作用を起こし、細胞に蓄積す

ると考えられる。例えば、PiDにおいては最初に3Rタウが構造変化するため3Rタウが細胞に蓄積する。ADにおいては最初に3Rタウと4Rタウが、おそらくは重合して構造変化するため両方のアイソフォームがほぼ同じ割合で蓄積する。AD脳に蓄積するタウは、6種類のタウアイソフォームすべてが含まれていることが既に判明しているが、6種類のアイソフォームすべてがひとつのタウ線維に入り交じった状態で存在するのか、あるいはそれぞれのアイソフォームがそれぞれの線維を構成しているのかは未だ定かではない。しかしながら、3Rタウと4Rタウのいずれもがほぼ同程度含まれていることや、PHFという特異な線維構造をとっていることなどを考慮すると、少なくとも3Rタウと4Rタウは一つの重合体を形成していることが推察される。

培養細胞内におけるタウのシード依存的な凝集は、プリオン病の原因分子である異常プリオンの構造変化とよく似ている。プリオンは、何らかの原因でミスフォールディングを起こすと、その異常な構造が正常なプリオンを自身と同じ異常構造に変換する能力を獲得する。この異常構造を有するプリオンは他の細胞にも伝播、感染すると考えられている。異常タウ線維と異常プリオンは、クロス $\beta$ 構造を有しているという点でも共通しており、両者を比較することはタウの蓄積機構を解明するうえで重要なポイントである。

異常プリオンのクロス $\beta$ 構造は非常に安定であり、熱あるいはプロテアーゼ処理してもシーディング能力は保たれる。そこで患者脳由来タウ線維を熱あるいはプロテアーゼで処理した場合にもシーディング能力が保たれるか調べた。その結果、いずれの患者脳由来の不溶性画分においても、各タウの蓄積が起こることが示され、患者脳由来の異常タウは異常プリオンと同様に熱あるいはプロテアーゼ耐性の性質を

持っていることが明らかとなった。患者脳に蓄積しているタウは、その多くが線維状構造をとっていると考えられているが、線維の中心部分は分子同士が密に結合しており、プロテアーゼ耐性を示す。分子同士が密に結合している中心部分が残っていれば、その部分がシードとして機能すると考えられ、プロテアーゼ耐性領域がシーディング能の責任領域であると可能性が高い。

## F. 結論

培養細胞に AD, PiD, FTDP-17 のそれぞれの患者剖検脳由来の不溶性タウを導入すると蓄積するタウのアイフォームに一致して、同じタウアイソフォームの蓄積が起こることが示された。タウの蓄積がない患者脳不溶画分やタウを免疫除去した不溶性画分を導入した場合には蓄積がおこらないことから、不溶性画分中の異常タウがシード能を有することが強く示唆された。それぞれの患者脳不溶性画分中のタウのシーディング能は、異常プリオンと同様、熱安定、プロテアーゼ安定性を示した。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1). Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Hosokawa M, Oikawa T, Arai T, Akiyama H, Mann D, Hasegawa M, Prion-like spreading of pathological alpha-synuclein in brain. *Brain* in press.
- 2). Ogaki K, Li Y, Takanashi M, Ishikawa KI, Kobayashi T, Nonaka T, Hasegawa M, Kishi M, Yoshino H, Funayama M, Tsukamoto T, Shioya, Y Kokochi M, Imai H, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Motoi Y, Tomiyama H, Hattori N.

(2013). Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTL, PSP, and CBS. *Parkinsonism & Related Disorders* 19:15-20.

- 3). Hosokawa M, Arai T, Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Yamashita M, Akiyama H, Hasegawa M (2012) Methylene blue reduced abnormal tau accumulation in P301L tau transgenic mice. *PLoS One* 2012; 7(12): e52389

- 4). Tsujii H, Arai T, Kametani F, Nonaka T, Yamashita M, Suzukake M, Hosokawa M, Yoshida M, Hatsuta H, Takao M, Saito Y, Murayama M, Akiyama H, Hasegawa M, Mann DMA, Tamaoka A (2012). Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy. *Brain* 135; 3380–3391.

- 5). Egawa N, Kitaoka S, Tsukita K, Naitoh M, Takahashi K, Yamamoto T, Adachi F, Kondo T, Okita K, Asaka I, Takashi Aoi T, Watanabe A, Yamada Y, Morizane A, Takahashi J, Ayaki T, Ito H, Yoshikawa K, Yamawaki S, Suzuki S, Watanabe D, Hioki H, Kaneko T, Makioka K, Okamoto K, Takuma H, Tamaoka A, Hasegawa K, Nonaka T, Hasegawa M, Kawata A, Yoshida M, Nakahata T, Takahashi R, Marchetto MCN, Gage FH, Yamanaka S, Inoue H. A (2012). Drug-Screening Platform for ALS Using Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells. *Sci Transl Med* 4(145): 145ra104.

- 6). Parker SJ, Meyerowitz J, James JL, Liddell JR, Nonaka T, Hasegawa M, Kanninen KM, Lim SC, Paterson BM, Donnelly PS, Crouch PJ, White AR. (2012). Inhibition of TDP-43 accumulation by



bis(thiosemicarbazonato)-copper complexes. PLoS One 7(8): e42277.

7). Kokubo Y, Taniguchi A, Hasegawa M, Hayakawa Y, Morimoto S, Yoneda M, Hirokawa Y, Shiraishi T, Saito Y, Murayama S, Kuzuhara S (2012).  $\alpha$ -Synuclein Pathology in the Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism Dementia Complex in the Kii Peninsula, Japan. J Neuropathol Exp Neurol. 71: 625-30.

8). Wang Y, Shi M, Chung KA, Zabetian CP, Leverenz JB, Berg D, Srulijes K, Trojanowski JQ, Lee VMY, Siderowf AD, Hurtig H, Litvan I, Schiess MC, Peskind E, Masuda M, Hasegawa M, Lin X, Pan C, Galasko D, Goldstein DS, Jensen PH, Yang H, Cain KC, Zhang J (2012). Phosphorylated  $\alpha$ -Synuclein in Parkinson's Disease. Sci Transl Med. 4: 121ra20.

9). Shahpasand K, Uemura I, Saito T, Asano T, Hata K, Shibata K, Toyoshima Y, Hasegawa M, and Hisanaga S (2012). Regulation of mitochondrial transport and inter-microtubule spacing by Tau phosphorylation at the sites hyperphosphorylated in Alzheimer's disease. J Neurosci 32: 2430-2441.

10). Takahashi M, China Y, Nonaka T, Hasegawa M, Watanabe N, Arai T, (2012). Prolonged nitric oxide treatment induces tau aggregation in SH-SY5Y cells, Neurosci Lett 510 : 48– 52.

11). Iguchi Y, Katsuno M, Takagi S, Ishigaki S, Niwa JI, Hasegawa M, Tanaka F, Sobue G. (2012) Oxidative stress induced by glutathione

depletion reproduces pathological modifications of TDP-43 linked to TDP-43 proteinopathies. Neurobiol Dis. 45: 188-195.

12). Tsuji H, Nonaka T, Yamashita M, Suzukake M, Kametani F, Akiyama H, Mann DM, Tamaoka A and Hasegawa M (2012) Epitope mapping of antibodies against TDP-43 and detection of protease-resistant fragments of pathological TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration. Biochem Biophys Res Commun 417: 116–121.

## 2.学会発表

1). Hasegawa M: Prion-like Spreading of Pathological  $\alpha$ -synuclein in Brain. The 17th Takeda Science Foundation Symposium □on Bioscience, Osaka [2012. 12. 6]

2). 長谷川成人：レビー小体と  $\alpha$  シヌクレイン. 第6回 レビリー小体型認知症研究会 (レビリー小体発見100周年記念大会), 横浜 [2012.11.10]

3). 長谷川成人：非アルツハイマー型認知症研究の frontline 第2回 都医学研シンポジウム 脳神経疾患の臨床・研究の拠点形成による医療イノベーション, 東京 [2012. 11. 28]

4). 長谷川成人：TDP-43 と関連疾患. 第31回 日本認知症学会学術集会 教育講演2「病因仮説再考」, 筑波 [2012. 10. 26]

5). 長谷川成人：蓄積タンパク質の解析から発症機構の解明、治療法の開発へ. 国立精神・神経医療研究センター病院 第7回 精神医療セミナー, 東京 [2012.11.20]

- 6). 鈴掛雅美, 長谷川成人: 異常  $\alpha$  シヌクレインの脳内伝播. 第 3 回神経科学と構造生物学の融合研究会/大阪大学蛋白質研究所セミナー, 大阪 [2012. 10. 5]
- 7). 長谷川成人ら: 難病 ALS や若年性認知症の TDP-43 の解析、病態を解明, 日経新聞朝刊, マイナビニュースなど [2012. 9. 12]
- 8). 長谷川成人: 神経変性疾患の分子病態機序. 日本食品免疫学会 2012 年度大会 (JAFI2012) 「高齢化社会における食品免疫学の役割」シンポジウム 1 「健康寿命の延伸と食品免疫学の可能性」, 東京 [2012. 10. 16]
- 9). 長谷川成人: 神経疾患と異常タンパク質. 第 13 回北海道神経変性疾患治療研究会, 札幌 [2012. 9. 14]
- 10). 秋山治彦、長谷川成人、野中隆: 「脳の老化を科学する」第 10 回 サイエンスカフェ in 上北沢 東京 [2012. 8. 3]
- 11). 長谷川成人: 神経疾患における異常タンパク質のプロテオミクス解析. 日本プロテオーム学会 2012 年大会 シンポジウム S5 医学の最前線とプロテオミクス, 東京 [2012. 7. 27]
- 12). 長谷川成人: 神経疾患研究とプロテオミクス. 「包括脳ネットワーク」リソース・技術開発支援拠点「神経細胞プロテオミクス」チュートリアル「神経科学へのプロテオミクスの応用」仙台 [2012. 7. 25]
- 13). 長谷川成人: 分子間の Propagation の機序と蛋白癌仮説. 神経変性疾患に関する調査研究班 平成 24 年度ワークショップ Propagation 仮説最前線 - 分子から細胞、細胞から個体へ -, 東京 [2012. 7. 20]
- 14). 長谷川成人: 神経変性疾患は「蛋白癌」か? 名古屋大学グローバル COE プログラム 機能分子医学への神経疾患・腫瘍の融合拠点 グローバル COE 第 5 回国内シンポジウム, 名古屋 [2012. 7. 19]
- 15). 長谷川成人, 野中隆, 辻浩史, 玉岡晃, 吉田眞理, 村山繁雄, David Mann, 新井哲明, 秋山治彦: ALS と TDP-43 の生化学. 第 53 回神経病理学会総会シンポジウム 2 「筋萎縮性側索硬化症: TDP-43 の発見とその後」, 新潟 [2012. 6. 30]
- 16). 長谷川成人, 野中隆, 増田 (鈴掛雅美, 辻浩史, 玉岡晃, 吉田眞理, 村山繁雄, 新井哲明, 秋山治彦: 「蛋白癌」としての神経変性疾患. 第 53 回神経学会総会シンポジウム S (3) 11: 神経変性疾患の病態解明・その病態とバイオマーカーの開発を目指して, 東京 [2012. 5. 25]
- 17). 長谷川成人: 認知症研究の最前線 -異常たんぱく質を排除しろ-. 第 1 回 都医学研都民講座 「たんぱく質からみた健康と病気」, 東京 [2012. 4. 18]
- 18). 長谷川成人: 「蛋白癌」としてのアルツハイマー病. 北海道大学 IBL 寄附講座シンポジウム, アルツハイマー病研究の進展と治療戦略. 平成 23 年 2 月 23 日, 札幌 [2012. 2. 23]
- 19). 長谷川成人: 異常タンパク分子から解明される神経変性疾患の新しい考え方. 首都大学東京 化学コースセミナー, 東京 [2012. 2. 3]

#### H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1.特許取得 特になし

2.実用新案登録 特になし

3.その他 特になし

### III.研究成果の刊行に関する一覧表