

201445004A

厚生労働科学研究委託費

認知症研究開発研究事業

(委託業務題目) 胃薬テプレノンのアルツハイマー病治療薬としての開発に関する研究

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 水島 徹

平成 27 ( 2015 ) 年 3 月

本報告書は、厚生労働省の認知症研究開発委託事業による委託業務として、学校法人慶應義塾が実施した平成26年度「胃薬テプレノンのアルツハイマー病治療薬としての開発」の成果を取りまとめたものです。

## 目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	
胃薬テプレノンのアルツハイマー病治療薬としての開発に関する研究 -----	1
水島徹	
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. 分子メカニズムの更なる解析に関する研究 -----	5
水島徹	
2. 薬物治療データベースを用いた解析に関する研究 -----	7
横山俊一	
3. 久山町のコホート研究に関する研究 -----	9
清原裕	
4. 臨床試験でのバイオマーカー確立に関する研究 -----	13
鈴木秀和	
5. 臨床研究（前向き試験）の実施に関する研究 -----	15
横山俊一	
III. 学会等発表実績 -----	17
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	22

厚生労働科学研究委託費（認知症研究開発研究事業）  
委託業務成果報告（総括）

胃薬テプレノンのアルツハイマー病治療薬としての開発に関する研究

業務主任者 水島 徹 慶應義塾大学薬学部分析科学講座 教授

研究要旨

それぞれの業務項目は、当初の予定通りにほぼ実施することが出来た。特に、臨床試験に関しては、治験薬の製造が完了し、来年度当初より、試験を開始出来る見通しである。このように研究は順調に進んでおり、研究期間内に胃薬テプレノンのアルツハイマー病治療薬としての開発に繋がる成果をあげることが期待できる。

業務項目の担当責任者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

- ①分子メカニズムの更なる解析：慶應義塾大学薬学部教授・水島徹
- ②薬物治療データベースを用いた解析：南風病院脳神経外科部長・横山 俊一
- ③久山町のコホート研究：九州大学大学院医学研究院教授・清原裕
- ④臨床試験でのバイオマーカー確立：慶應義塾大学医学部准教授・鈴木秀和
- ⑤臨床研究（前向き試験）の実施：南風病院脳神経外科部長・横山 俊一

A. 研究目的

最近、発売される新薬の数が減少している。この主な原因は、臨床試験で予想外の副作用が発生したりヒトで十分な体内動態が得られなかったりすることである。そこで我々が推進しているのは、ヒトでの安全性と体内動態が十分に確認されている既承認薬の新しい薬理効果を発見し、別の疾患治療薬として開発する創薬戦略、ドラッグリポジショニング（DR）である。DR の利点は、早く安く（毒性試験など既にあるデータを再利用出来る）確実に（臨床試験が予期せぬ副作用のため失敗するリスクがほとんどない）安全な医薬品を開発出来ることである。欧米に比べ我が国ではDRの推進が遅れていた。水島は我が国で最初にDRの重要性を提唱し、シンポジウム開催や論文発表を通してその啓蒙に取り組んできた（業績欄の日本語総説などを参照）。NHKの「新薬が生まれない」という特別番組において水島の研究が紹介されたことがきっかけとなり、我が国でもDRが盛んになっている。その中で

水島は、産官学でDRを推進するための勉強会を設立したり、既承認薬ライブラリーを整備しそれを基にDRを推進したりしてきた。本研究提案で我々は、これまでのDR経験を活かしてテプレノンをAD治療薬として開発する。またこの研究を通してDR手法を確立し公開することにより、我が国におけるDRを推進する。

現在AD治療に用いられている薬はAβの凝集を抑えたり神経細胞を保護したりすることは出来ない。そのため、症状を一時的には改善するものの病気の進行を抑制することは出来ない。上述のように我々は、テプレノンがHSPを増やすことを発見した。また我々は、テプレノンがHSP70（代表的なHSP）を増やすことにより小腸潰瘍にも有効であることを動物モデルで示し、この効果は同じ年に臨床試験でも確認された。通常の創薬では基礎と臨床の間には5年以上の期間が必要であるが、DRでは両者を直結出来ることをこの成果は示している（ヒトでの安全性が担保されているため）。さらに我々は、HSP70がAβの凝集を抑制したり神経細胞を保護したりすることにより、ADモデルマウスの記憶学習能力を顕著に改善することを示し、テプレノンがADの根本的治療薬になる可能性を示した。

そこで本研究で我々は、テプレノンのAD治療薬としての開発を行う。具体的には、他の動物モデルでの評価、分子メカニズムの更なる解析、ADモデルマウスでの薬物動態解析、既存臨床データを用いたエビデンス構築、臨床研究などを行う。特に、既承認薬には豊富な臨床情報があり、それを利用して臨床試験前にエビデンスを構築できるのがDRのメリットであるので、本研究で実施し、その方法論を確立する。

B. 研究方法

本研究で我々は（１）テプレノンの作用機構等の更なる解析（研究課題①～③）、（２）既存臨床データを用いたエビデンス構築（研究課題④～⑥）、（３）臨床研究の準備と実施（研究課題⑦～⑧）、以上三項目の研究を行う。

#### ①他の動物モデルでの評価

老人斑と並んで AD の病理学的特徴として Tau の重合があり、AD の発症・進行に重要な役割を果たしている。そこで、Tau の重合が見られる動物モデルで HSP70、及びテプレノンの効果を調べる。具体的には、ヒト Tau 過剰発現マウスと HSP70 過剰発現マウスを掛け合わせ（あるいはマウスにテプレノンを投与し）、記憶学習能力を行動実験により調べると共に、脳内での過剰リン酸化 Tau の量、及び顆粒状 Tau 凝集体の量をイムノブロット法、免疫染色法で調べる。

#### ②分子メカニズムの更なる解析

HSP70、及びテプレノンの AD 抑制機構に関して我々は、HSP70 の抗炎症効果を介した炎症抑制、A $\beta$  の凝集抑制、神経細胞保護、プロテアーゼによる A $\beta$  分解の促進などが関与していることを明らかにしている（J Neurosci 2011; PLoS One 2013 など）。一方、HSP70 がグリア細胞による A $\beta$  貪食を促進したり A $\beta$  の産生を抑制したりする可能性も示唆されているので検証する。また（１）の研究で HSP70 が Tau の凝集やリン酸化を抑制することが示された場合、その分子機構を解析する。

#### ③AD モデルマウスでの薬物動態解析

テプレノンの体内動態は詳細に解析されており、そのデータは既に開示されている（脳に移行することも証明されている）。しかし AD 患者、及びその動物モデルでの解析はなされていない。そこで本研究では、AD モデル動物、及び健常動物にラベル化したテプレノンを経口投与し、血中、脳、及び胃粘膜での濃度を比較する。

#### ④OMICS 解析を用いたエビデンス確立

我々は薬剤の投与による遺伝子発現変化が、疾患における遺伝子発現変化（健常人との比較）と逆のパターンを示せば、その薬剤がその疾患に有効であるという仮定のもと、インシリコで治療薬を探索している（産総研との共同研究）。そこでこの技術を用いて、テプレノンの AD 治療薬としてエビデンスを得る。具体的には、神経細胞にテプレノンを作用させ、遺伝子発現変化をマイクロアレイで解析する。この結果と既に報告されている AD 患者の脳での遺伝子発現変化を数理解析し、AD 治療薬としてのテプレノンの有効性に関するエビデンスを構築する。

#### ⑤薬物治療データベースを用いた解析

横山が所属する南風病院には、全患者の投薬履歴と疾患の発症や進行に関するデータベースが整っている。そこでこのデータベースを用いて、テプレノン投与群と非投与群（他の胃薬が投与されている）での AD の発症リスクと進行の程度を比較し、AD 治療薬としてのテプレノンの有効性に関するエビデンスを構築する（解析可能な症例数を有していることは、確認している）。尚、本研究は倫理審査委員会の承認を得た後、ホ

ームページ上で過去に収集したデータを新しい研究に使用する旨を公開して行う（将来的に後ろ向き解析に使用することに関しては既に同意を得ている）。

#### ⑥久山町のコホート研究（久山町研究）における解析

清原が研究責任者を務める福岡県久山町で進行中の地域住民を対象にした追跡研究（久山町研究）において、テプレノン服用と AD 発症との関係を検討する。2002 年にスクリーニング健診を受けた久山町住民の内、65 歳以上の高齢者約 2000 人についてテプレノンの服用の有無を調査し、解析可能な人数が存在することは既に確認している。そこで、2012 年までの 10 年間において、この集団の AD をはじめとする認知症の発症について調査する。追跡開始時のテプレノン服用が、その後の AD 発症に及ぼす影響を他の認知症危険因子（APOE 遺伝子多型を含む）を調整して検証する。

#### ⑦臨床試験でのバイオマーカー確立

臨床試験において、薬剤による症状の改善だけでなく、予想された機構で薬剤が働いていることを確認することは大変重要である。テプレノンの抗潰瘍作用に関しては、吸収され血流で胃に運ばれたテプレノンが HSP70 を増やすことにより効果を発揮していることが分かっている。そこで我々は、ヒトで血液中、及び胃粘膜での HSP70 量を量ることにより、脳内での HSP70 量変化を類推することが出来ると考えている。そこで本研究では、テプレノンを健常人に投与し、血液サンプル、及び胃粘膜での HSP70 量を定量すると共に（倫理審査委員会の承認を得た後、実施する）、AD 動物モデルにテプレノンを投与し、胃粘膜、血液、脳での HSP70 量を測定する（我々は既に LC-MS 法を用いて血液中の HSP70 断片を検出することに成功している）。

#### ⑧臨床研究（前向き試験）の実施

南風病院で AD と診断され、ドネペジルによる治療の対象となり、さらに同意が取得出来た患者さん（目標症例数 100 名）を二群に分け、一群にはドネペジルとテプレノン（通常量の 2 倍（健常ラットでの脳内テプレノン濃度は末梢血濃度の約半分であったため。安全性は第一相臨床試験で確認済みである））を、もう一群にはドネペジルのみを一年間投与する。定期的に評価項目検査、及び血液中での HSP70 量を測定し、両群を比較する（二重盲検無作為化比較試験）。尚、本研究は倫理審査委員会の承認を得た後、Web 上に公開して行う。主要評価項目は神経心理検査（MMSE, ADAS-J cog 等）とする。また副次的評価項目として、画像検査による海馬周辺の萎縮やアルツハイマー病に特異的領域の血流低下を評価する。

#### （倫理面への配慮）

本研究は、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（平成 15 年 6 月 18 日公布）等に基づいて実施し、動物実験計画については、「慶應義塾大学動物実験委員会」にて承認を得た上で、本委員会の方針に基づいて実験動物を取り扱う。さらに、本研究のうち臨床研究については、臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年厚生労働省告示第 415 号、平成 21 年 4 月 1 日施行）、及び疫学研究に関する倫理

指針（平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号）を遵守して行う。本研究は、そのプロトコルが慶應義塾大学病院をはじめ、各参加施設での倫理委員会で承認された後、臨床試験登録システムに登録して実施する。研究対象者は、個人の意思に基づき参加の承諾、拒否、途中での撤回を申し入れることができる。また、協力拒否によりいかなる不利益を生ずることはなく、このことは同意書に明記される（同意書には関係する利益相反も記載される）。個人情報提供者には符号をつけ匿名化を行う。また、データシートなどには、名前、患者番号など個人の特定に通じる情報は記載せず、符号（データ番号）のみで対応させる（連結可能匿名化）。データの管理および両者の対応表は、研究事務局の管理下で厳重にキー管理する。説明文書および同意書にて研究計画を事前に十分に説明した上で、自由意志に基づく同意（インフォームド・コンセント）を受けける。また、本人のインフォームド・コンセントを得られない被験者は研究対象としない。提供者からインフォームド・コンセントの撤回があった場合は、原則として当該提供者に関わるデータを匿名化して破棄する。ただし、すでに公表されている研究結果については破棄しない。研究終了後には、従来と同じ方法で試料を廃棄する。取得したデータは、研究事務局において特定のコンピューター内のハードディスクに保存し、関係者のみがパスワードにて暗号化した情報を知り得ることができるようにする。データ管理のコンピューターはインターネットと接続していないものを使用する。書面は施錠可能なロッカー内で管理する。本試験の実施に起因して何らかの健康被害が生じた場合には、治療その他必要な処置をとるものとする。研究継続の適否、有害事象等の評価、計画変更について審議する「効果安全性評価委員会」を設置する。本試験では被験者の福利に対する配慮を最優先し、「臨床研究保険」に加入し健康被害が起きた場合は、補償を行う。本試験に用いる薬剤は市販医薬品の為、薬剤との因果関係の否定できない重篤な有害事象が発生した際には、製造会社に直ちに報告し必要な対応をもとめるとともに、研究過程で健康危険情報を得た場合には、厚生労働省に通報する。また、研究分担者や研究協力者に対しても、健康危険情報を把握した場合には、速やかに研究代表者に連絡するよう伝達する。

### C. 研究結果

HSP70の抗アルツハイマー病作用機構に関しては、ヒトTau過剰発現マウスとHSP70過剰発現マウスを掛け合わせ、研究の準備を行っている。また、HSP70がグリア細胞によるAβ貪食を促進する可能性を示唆した。一方、コホート研究を利用した臨床エビデンス構築に関しては、2002年にスクリーニング健診を受けた認知症のない60歳以上の高齢者1550人を対象者としてテプレノンの服用の有無を調査するとともに、全対象者

について2012年までの10年間の追跡調査を終了し認知症発症の有無を確定した。さらに、既存のデータベースを用いて、テプレノン投与群と非投与群（他の胃薬が投与されている）のアルツハイマー病の発症リスクと進行の程度を比較しエビデンスを構築する研究（後ろ向きコホート研究）に関しては、①研究のデザイン、②エンドポイントの定義、③対象集団、④比較対照集団を決定した。一方、臨床研究に関しては、以下の項目を決定した：①研究のデザイン（単施設研究、二重盲検、無作為化群間比較試験）、②エンドポイント（主要評価項目、副次評価項目）、③目標症例数と研究実施期間、④実施場所、⑤対象集団（適格基準、除外基準）、⑥登録・割付（登録の手順、割付方法、交絡因子に対する配慮）、⑦介入・治療内容（試験薬、投与期間、実薬およびプラセボの製造、併用禁止薬、被験者に対する中止基準、追跡不能例に対する対処）、⑧観察・検査項目とスケジュール。また、ヒト血中のHSP70のmRNA量を量るシステムを確立し、バリデーションを完了した。また現在、実薬とプラセボを委託製造している（2015年3月完了予定）。2015年3月までに、後ろ向きコホート研究と共に、公益社団法人鹿児島共済会南風病院臨床研究倫理審査委員会に申請する予定である。

### D. 考察

結果の項目に合わせて表記した。

### E. 結論

それぞれの業務項目は、当初の予定通りにほぼ実施することが出来た。特に、臨床試験に関しては、治験薬の製造が完了し、来年度当初より、試験を開始出来る見通しである。このように研究は順調に進んでおり、研究期間内に胃薬テプレノンのアルツハイマー病治療薬としての開発に繋がる成果をあげることが期待できる。

### F. 健康危険情報

該当なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Yamakawa, N., Suzuki, K., Yamashita, Y., Katsu, T., Hanaya, K., Shoji, M., Sugai, T. and Mizushima, T. Structure-activity relationship of celecoxib and rofecoxib for the membrane permeabilizing activity. *Bioorg. & Medic. Chem.* 22, 2529-2534. (2014)
2. Tanaka, K., Kurotsu, S., Asano, T., Yamakawa, N., Kobayashi D., Yamashita, Y., Yamazaki, H., Ishihara, T., Watanabe, H., Maruyama, T., Suzuki, H. and Mizushima, T. Superiority of pulmonary administration of mepenzolate bromide over other routes as treatment for chronic

- obstructive pulmonary disease. *Sci. Rep.* 28, 4510. (2014).
3. Sawazaki, R., Ishihara, T., Usui, S., Hayashi, E., Tahara, K., Hoshino, T., Higuchi, A., Nakamura, S., Tsubota, K. and Mizushima, T. Diclofenac protects cultured human corneal epithelial cells against hyperosmolarity and ameliorates corneal surface damage in a rat model of dry eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55, 2547-2556. (2014)
  4. Kurotsu, S., Tanaka, K., Niino, T., Sugizaki, T., Azuma, A., Suzuki, H. and Mizushima, T. Ameliorative effect of mepenzolate bromide against pulmonary fibrosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 350, 79-88. (2014)
  5. Yamashita, Y., Tanaka, K., Asano, T., Yamakawa, N., Kobayashi D., Ishihara, T., Hanaya, K., Shoji, M., Sugai, T., Wada, M., Mashimo, T., Fukunishi, Y. and Mizushima, T. Synthesis and biological comparison of enantiomers of mepenzolate bromide, a muscarinic receptor antagonist with bronchodilatory and anti-inflammatory activities. *Bioorg. & Medic. Chem.* 22, 3488-3497. (2014)
  6. Ishihara, T., Nara, S. and Mizushima, T. Interactions of lecithinized superoxide dismutase with serum proteins and cells. *J. Pharm. Sci.* 103, 1987-1994. (2014)
  7. Kamio, K., Azuma, A., Ohta, K., Sugiyama, Y., Nukiwa, T. Kudoh, S. and Mizushima, T. Double-blind controlled trial of lecithinized superoxide dismutase in patients with idiopathic interstitial pneumonia, short term evaluation of safety and tolerability. *BMC Pulm. Med.* 14, 86. (2014)
  8. Ishihara, T., Kaneko, K., Ishihara, T. and Mizushima, T. Development of biodegradable nanoparticles for liver-specific ribavirin delivery. *J. Pharm. Sci.* 103, 4005-4011. (2014)
  9. Ishihara, T., Hayashi, E., Yamamoto, S., Kobayashi, C., Tamura, Y., Sawazaki, R., Tamura, F., Tahara, K., Kasahara, T., Ishihara, T., Takenaga, M., Fukuda, K. and Mizushima, T. Encapsulation of beraprost sodium in nanoparticles: analysis of sustained release properties, targeting abilities and pharmacological activities in animal models of pulmonary arterial hypertension. *J. Control Release* 97, 97-104. (2015)
- (熊本)
- 6 Tohru Mizushima Identification of a unique NSAID, fluoro-loxoprofen with gastroprotective activity. Invited lecture in the 4th International Forum in Annual Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology. (2014) (Tokyo)
  - 7 Tohru Mizushima Therapeutic effect of lecithinized superoxide dismutase (PC-SOD) on idiopathic pulmonary fibrosis in humans and bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Invited lecture in the International Advanced Drug Delivery Symposium. (2014) (Taipei)
  - 8 Tohru Mizushima Drug repositioning Invited lecture in the San Diego Japan Bioforum. (2014) (San Diego)
  - 9 水島徹 ドラッグリポジショニング 医療薬学フォーラム 2014 での招待講演 (2014) (東京)
  - 10 水島徹 ドラッグリポジショニングによる創薬パラダイムシフト 日本 DDS 学会での大会長講演 (2014) (東京)
  - 11 水島徹 既存リソース、未利用リソースを活用したスマートライフケア ものづくりナノ医療イノベーション拠点シンポジウムでの招待講演 (2014) (川崎)
  - 12 水島徹 ドラッグリポジショニング JST-CRDS 次世代基盤技術俯瞰ワークショップでの招待講演 (2014) (東京)
  - 13 水島徹 ドラッグリポジショニング 日本生化学会フォーラムでの招待講演 (2014) (京都)
  - 14 水島徹 ドラッグリポジショニングの現状と今後の展望 日本におけるケミカルバイオロジー研究新展開」に関する研究開発専門委員会での招待講演 (2014) (東京)
  - 15 水島徹 ドラッグリポジショニングとスマートヘルスケア 医薬品産業情報研究会での招待講演 (2014) (東京)
  - 16 水島徹 ドラッグリポジショニングとスマートヘルスケア 日本 DDS 学会創立 30 周年記念シンポジウムでの招待講演 (2014) (東京)

## 2. 学会発表

- 1 水島徹 ドラッグリポジショニング JST-ERATO 河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクトシンポジウムでの招待講演 (2014) (東京)
- 2 水島徹 ドラッグリポジショニング 第2回 TR シンポジウムでの招待講演 (2014) (東京)
- 3 水島徹 ドラッグリポジショニングの現状と課題 千里ライフサイエンス専門実務セミナー・新規効能治療薬の創製「ドラッグ・リポジショニングを用いて」での基調講演 (2014) (大阪)
- 4 水島徹 分子シャペロンと創薬 Diabetes Scientific Seminar での特別講演 (2014) (東京)
- 5 水島徹 ドラッグリポジショニングの現状と課題 日本薬学会シンポジウムでの招待講演 (2014)

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
該当なし

厚生労働科学研究委託費（認知症研究開発研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

分子メカニズムの更なる解析に関する研究

担当責任者 水島 徹 慶應義塾大学薬学部分析科学講座 教授

**研究要旨**

HSP70 の抗アルツハイマー病作用機構に関しては、ヒト Tau 過剰発現マウスと HSP70 過剰発現マウスを掛け合わせ、研究の準備を行っている。また、HSP70 がグリア細胞による A $\beta$  貪食を促進する可能性を示唆した。

**A. 研究目的**

本研究提案で我々は、これまでの DR 経験を活かしてテプレノンを AD 治療薬として開発する。またこの研究を通して DR 手法を確立し公開することにより、我が国における DR を推進する。

現在 AD 治療に用いられている薬は A $\beta$  の凝集を抑えたり神経細胞を保護したりすることは出来ない。そのため、症状を一時的には改善するものの病気の進行を抑制することは出来ない。我々は、HSP70 が A $\beta$  の凝集を抑制したり神経細胞を保護したりすることにより、AD モデルマウスの記憶学習能力を顕著に改善することを示し、テプレノンが AD の根本的治療薬になる可能性を示した。

そこで本研究で我々は、テプレノンの AD 治療薬としての開発を行う。その中で本分担研究では、他の動物モデルでの評価、分子メカニズムの更なる解析を行う。

**B. 研究方法**

①他の動物モデルでの評価

老人斑と並んで AD の病理学的特徴として Tau の重合があり、AD の発症・進行に重要な役割を果たしている。そこで、Tau の重合が見られる動物モデルで HSP70、及びテプレノンの効果を調べる。具体的には、ヒト Tau 過剰発現マウスと HSP70 過剰発現マウスを掛け合わせ（あるいはマウスにテプレノンを投与し）、記憶学習能力を行動実験により調べると共に、脳内での過剰リン酸化 Tau の量、及び顆粒状 Tau 凝集体の量をイムノプロット法、免疫染色法で調べる。

②分子メカニズムの更なる解析

HSP70、及びテプレノンの AD 抑制機構に関して我々は、HSP70 の抗炎症効果を介した炎症抑制、A $\beta$  の凝集抑制、神経細胞保護、プロテアーゼによる A $\beta$  分解の促進などが関与していることを明らかにしている

(J Neurosci 2011; PLoS One 2013 など)。一方、HSP70 がグリア細胞による A $\beta$  貪食を促進したり A $\beta$  の産生を抑制したりする可能性も示唆されているので検証する。また (1) の研究で HSP70 が Tau の凝集やリン酸化を抑制することが示された場合、その分子機構を解析する。

(倫理面への配慮)

本研究は、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（平成 15 年 6 月 18 日公布）等に基づいて実施し、動物実験計画については、「慶應義塾大学動物実験委員会」にて承認を得た上で、本委員会の方針に基づいて実験動物を取り扱う。

**C. 研究結果**

HSP70 の抗アルツハイマー病作用機構に関しては、ヒト Tau 過剰発現マウスと HSP70 過剰発現マウスを掛け合わせ、研究の準備を行っている。また、HSP70 過剰発現マウス、及び野生型マウスからグリア細胞を単離し、その A $\beta$  貪食能を比較した。その結果、HSP70 過剰発現マウスから単離したグリア細胞でより貪食能が亢進していることを見出した。以上の結果は、HSP70 がグリア細胞での A $\beta$  貪食を促進する可能性を示唆している。

**D. 考察**

結果の項目に合わせて表記した。

**E. 結論**

これまで我々は HSP70 の AD 抑制機構に関して、HSP70 の抗炎症効果を介した炎症抑制、A $\beta$  の凝集抑制、神経細胞保護、プロテアーゼによる A $\beta$  分解の促進などが関与していることを明らかにしている。本研究で明らかになったグリア細胞での A $\beta$  貪食を促進する活性を含め、HSP70 が様々な機構で AD を抑制することが分かってきた。



## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

総括報告書の記載の通り

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

厚生労働科学研究委託費（認知症研究開発研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

薬物治療データベースを用いた解析

担当責任者 横山俊一 南風病院脳神経外科部長

**研究要旨**

当院データベースを調査し、本研究の目的に合致するデータ抽出が可能である事が明らかになった。テプレノンのアルツハイマー病発症抑制に関わる後ろ向き研究を行なう準備が整った。

**A. 研究目的**

本研究で我々は、これまでのドラッグリポジショニング (DR) 経験を活かしてテプレノンをアルツハイマー病 (AD) 治療薬として開発する。またこの研究を通して DR 手法を確立し公開することにより、我が国における DR を推進する。

現在 AD 治療に用いられている薬はアミロイドβ (Aβ) の凝集を抑えたり神経細胞を保護したりすることは出来ない。そのため、症状を一時的には改善するものの病気の進行を抑制することは出来ない。我々は、heat shock protein (HSP) 70 が Aβ の凝集を抑制したり神経細胞を保護したりすることにより、AD モデルマウスの記憶学習能力を顕著に改善することを示し、テプレノンが AD の根本的治療薬になる可能性を示した。

本研究では、これまでに南風病院を受診し、テプレノンを投与した患者において、テプレノンが AD 発症または進行に影響を与えているかを明らかにすることを目的とする。

**B. 研究方法**

①薬物治療データベースを用いた解析

本研究では、2006年4月から2014年12月の期間に南風病院外来を受診した患者で、テプレノン投与群を研究対象群、非投与群を比較対照群とし、テプレノンを投与した患者が AD 発症または進行に影響を与えているかを明らかにするための後ろ向き研究を行なう。

研究対象群、比較対照群の両群間において、南風病院にてドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン、メマンチンの処方の有無についてレセプトデータを用いて調査する。本研究では上記のアルツハイマー病治療薬を投与している患者をアルツハイマー病発症患者と定義し、両群間におけるアルツハイマー病発症率についての比較検討を行う。

(倫理面への配慮)

本研究は、「南風病院臨床研究倫理審査委員会」にて承認を得る。

**C. 研究結果**

データベースより特定の薬剤を処方した患者を抽出可能か調査した。また、症例数がどの程度見込めるかを調査した。具体的には、レセプトデータベースより薬価収載コードにて薬剤を特定し、その投与実績を他の診療情報を含め抽出した。処方日からの追跡も可能であり、テプレノンのアルツハイマー病発症抑制に関わる後ろ向き研究を行なう準備が整った。南風病院臨床研究倫理審査委員会に書類を提出し、解析を開始する。

**D. 考察**

当院データベースは本研究の目的に合致した解析が可能と思われる。

**E. 結論**

テプレノンのアルツハイマー病発症抑制に関わる後ろ向き研究を行なう準備が整った。

**F. 健康危険情報**

該当なし

**G. 研究発表**

Yokoyama S, Kajiya Y, Yoshinaga T, Tani A, Hirano H: Imaging discrepancies between magnetic resonance imaging and brain perfusion single-photon emission computed tomography in the diagnosis of Alzheimer's disease, and verification with amyloid positron emission tomography. *Psychogeriatrics* 14, 110-117, 2014

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働科学研究委託費（認知症研究開発研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）  
分担研究報告

久山町のコホート研究に関する研究

研究代表者 清原 裕  
(九州大学大学院医学研究院環境医学分野・教授)

**研究要旨** テプレノン服用が認知症，特にアルツハイマー病（AD）発症に与える影響を前向き追跡研究の手法で検討するために，2002年に福岡県久山町の住民健診でテプレノン服用の有無を調べた60歳の住民1,760名を2012年までの10年間前向きに追跡し，認知症発症や死亡などの情報収集とその整備を行った。認知症発症や死亡の情報は久山町研究の追跡システムにより把握した。認知症の臨床診断は「精神疾患の診断と統計のためのマニュアル改訂第3版(DSM-ⅢR)」に基づいて行った。ADと血管性認知症(VaD)の診断には，それぞれNINCDS-ADRDAとNINDS-AIRENの診断基準を用いた。対象者が死亡した場合は九州大学病理学教室で剖検を行い，詳細な神経病理学的評価を行った。

収集したデータを整備した結果，追跡開始時に認知症を既に発症していた住民は121名だった。したがって，認知症のない60歳以上の男女1,539名の追跡集団を確定した。このうち149名が追跡開始時にテプレノンを服用していた。10年間の追跡期間中に377名の認知症発症を認めた。そのうち356例(94%)の脳を剖検あるいはCT/MRIで形態学的に調べた(336例に画像診断を，94例に剖検を行った)。認知症発症例の病型別内訳はAD 247例，VaD 102例，その他の病型45例だった。追跡からの脱落例はいなかった。

A. 研究目的

認知症の病型の中で最も頻度の高いアルツハイマー病（AD）の成因はまだまだ不明な点が多く，根本的な治療法も確立されていないのが現状である。ADモデルマウスを用いた実験において，テプレノン服用が認知機能低下だけでなくAD病理の進行を抑制することが明らかとなり，ADの根治薬になる可能性が示された。福岡県久山町では，1985年から認知症の追跡調査が進行中であるが，2002年の住民健診時に行った薬剤調査においてテプレノン服用の有無を調べた。そこで，久山町の高齢住民の追跡調査においてテプレノン服用が認知症，特にAD発症に与える影響を検討するために，本年度は久山町研究の追跡システムで収集した情報の整備を行い解析用のデータセットの完成を目指した。

B. 研究方法

2002年に久山町の健診を受診し，テプレノン服用の有無を調べた60歳以上の住民1,760名(男性:737名，女性:1,023名)を対象として2014年12月までの健診，往診，追跡調査，剖検の記録を調査し，各

対象者について認知症発症の有無を判定した。認知症発症者またはその疑いのある者については詳細な病歴を家族および主治医より聴取し，臨床情報を集めるとともにCT/MRIの画像診断を行うように努めた。また，対象者が死亡した場合は九州大学病理学教室で剖検を行い，詳細な神経病理学的評価を行った。

認知症の臨床診断は，米国精神医学会による「精神疾患の診断と統計のためのマニュアル改訂第3版(DSM-ⅢR)」に基づいて行った。ADと血管性認知症(VaD)の診断には，それぞれNational Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA)の診断基準とBranch of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke with support from the Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences (NINDS-AIREN)の診断基準を用いた。

(倫理面の配慮)

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」に基づき研究計画書を作成し、九州大学医学部倫理委員会の承認を得て行われた。本研究は、すべての対象者からインフォームドコンセントを取得したうえで実施した。研究者は、対象者の個人情報の漏洩を防ぐうえで細心の注意を払って研究を遂行した。

### C. 研究結果

直近の認知症発症情報に漏れがある可能性を考慮し、2012年12月までの10年間にわたる追跡調査のデータセットを完成した。追跡開始時に認知症をすでに発症していた対象者は121名だった。したがって、認知症のない60歳以上の男女1,539名の追跡集団を確定した。このうち149名が追跡開始時にテプレノン服用していた。10年間の追跡期間中に377名が認知症を発症した。そのうち356例(94%)の脳を剖検あるいはCT/MRIで形態学的に調べた(336例に画像診断を、94例に剖検を行った)。認知症発症例の病型別内訳はAD 247例、VaD 102例、その他の病型45例だった。このうちの17例はADとVaDによる混合型認知症であり、これらはそれぞれの病型に振り分けた。また追跡からの脱落例はいなかった。

### D. 考察

2002年の久山町住民健診でテプレノン服用の有無を調べた高齢住民を10年間追跡し、認知症発症の有無を把握したデータセットが完成した。来年度は、このデータセットを用いてテプレノン服用が認知症、特にAD発症に与える影響を明らかにする予定である。

### E. 結論

テプレノンの服用情報を有する認知症発症の追跡集団のデータセット作成が完了した。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Ozawa M, Ohara T, Ninomiya T, Hata J, Yoshida D, Mukai N, Nagata M, Uchida K, Shirota T,

Kitazono T, Kiyohara Y: Milk and dairy consumption and risk of dementia in an elderly Japanese population: the Hisayama Study. *J Am Geriatr Soc* 62: 1224-1230, 2014

2. Hokama M, Oka S, Leon J, Ninomiya T, Honda H, Sasaki K, Iwaki T, Ohara T, Sasaki T, Laferla FM, Kiyohara Y, Nakabeppu Y: Altered expression of diabetes-related genes in Alzheimer's disease brains: the Hisayama Study. *Cereb Cortex* 24: 2476-2488, 2014

#### 2. 学会発表

1. 清原 裕: <ランチョンセミナー>日本人の糖尿病合併症～久山町研究から考える～. 第57回日本糖尿病学会年次学術集会, 大阪市, 2014.5

2. 秦 淳, 清原 裕: <シンポジウム老年病のコホート研究>心血管病と認知症の疫学:久山町研究. 第56回日本老年医学会, 福岡市, 2014.6

3. 小原知之, 清原 裕: <シンポジウム 血管性認知症: 身体医学の視点から>血管性認知症の疫学: 久山町研究. 第29回日本老年精神医学会, 東京都, 2014.6

4. 小原知之, 秦 淳, 吉田大悟, 福原正代, 永田雅治, 岸本裕歩, 北園孝成, 神庭重信, 清原 裕: 地域住民における中年期および老年期の喫煙と認知症発症との関連: 久山町研究. 第56回日本老年医学会学術集会・総会, 福岡市, 2014.6

5. 清原 裕: <記念講演>生活習慣病と認知症: 久山町研究. 第55回日本人間ドック学会学術大会, 福岡市, 2014.9

6. Tomoyuki Ohara, Toshiharu Ninomiya, Yutaka Kiyohara: <シンポジウム 老年病のコホート研究> Dietary patterns and risk of dementia in an elderly Japanese population: the Hisayama Study. 14<sup>th</sup> International College of Geriatric Psychoneuropharmacology, つくば市, 2014.10

7. Toshiharu Ninomiya, Yutaka Kiyohara: Secular trends in dementia and its risk factors in a Japanese Community: the Hisayama Study. Global Dementia Legacy Event Japan, Tokyo,

2014.11

8. 清原 裕：〈特別講演〉変貌する日本人の生活習慣病の現状と課題：久山町研究．第61回日本臨床検査医学会学術集会，福岡市，2014.11

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

#### I. 研究協力者

小原知之（九州大学大学院医学研究院精神病態医学・助教）

厚生労働科学研究委託費（認知症研究開発研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

臨床試験でのバイオマーカー確立

担当責任者 鈴木 秀和 慶應義塾大学医学部消化器内科 准教授

研究要旨

ヒト血中の HSP70 の mRNA 量を量るシステムを確立し、バリデーションを完了した。

A. 研究目的

本研究提案で我々は、これまでの DR 経験を活かしてテプレノンを AD 治療薬として開発する。またこの研究を通して DR 手法を確立し公開することにより、我が国における DR を推進する。

現在 AD 治療に用いられている薬は A $\beta$  の凝集を抑えたり神経細胞を保護したりすることは出来ない。そのため、症状を一時的には改善するものの病気の進行を抑制することは出来ない。我々は、HSP70 が A $\beta$  の凝集を抑制したり神経細胞を保護したりすることにより、AD モデルマウスの記憶学習能力を顕著に改善することを示し、テプレノンが AD の根本的治療薬になる可能性を示した。

そこで本研究で我々は、テプレノンの AD 治療薬としての開発を行う。その中で本分担研究では、臨床試験で実施する、ヒト血中の HSP70 の mRNA 量を量るシステムを確立する。

B. 研究方法

⑦臨床試験でのバイオマーカー確立

臨床試験において、薬剤による症状の改善だけでなく、予想された機構で薬剤が働いていることを確認することは大変重要である。テプレノンの抗潰瘍作用に関しては、吸収され血流で胃に運ばれたテプレノンが HSP70 を増やすことにより効果を発揮していることが分かっている。そこで我々は、ヒトで血液中、及び胃粘膜での HSP70 量を量ることにより、脳内での HSP70 量変化を類推することが出来ると考えている。そこで本研究では、テプレノンを健常人に投与し、血液サンプル、及び胃粘膜での HSP70 量を定量すると共に（倫理審査委員会の承認を得た後、実施する）、AD 動物モデルにテプレノンを投与し、胃粘膜、血液、脳での HSP70 量を測定する（我々は既に LC-MS 法を用いて血液中の HSP70 断片を検出することに成功している）。

（倫理面への配慮）

本研究は、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（平成 15 年 6 月 18 日公布）等に基づいて実施し、動物実験計画については、「慶應義塾大学動物実験委員会」にて承認を得た上で、本委員会の方針に基づいて実験動物を取り扱う。

C. 研究結果

まず動物を用いて検討した。具体的には、マウスを前身加温処理し、皮膚、胃などの組織と血液を採取した。血液は血球と可溶性画分に分けた。それぞれのサンプルでの HSP70 量をイムノブロット法、及び ELISA 法で測定したところ、再現性のある結果は得られなかった。一方、血球から mRNA を調製し、リアルタイム PCR で HSP70 の mRNA 量を測定したところ、再現性よく前身加温による増加が見られた。さらに臨床検査会社と共同で、保存しているヒト末梢血での HSP70 の mRNA 量を測定したところ、定量可能であることが判明し、バリデーションも確立した。

D. 考察

結果の項目に合わせて表記した。

E. 結論

以上の結果から、臨床試験。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukuhara, S., Matsuzaki, J., Tsugawa, H., Masaoka, T., Miyoshi, S., Mori, H., Fukushima, Y., Yasui, M., Kanai, T., **Suzuki, H.**\* Musosal

expression of aquaporin-4 in the stomach of histamine type 2 receptor knockout mice and *Helicobacter pylori*-infected mice. **J. Gastroenterol. Hepatol.** 29(S4):53-59, 2014.

2. Nishizawa, T., **Suzuki, H.** \* Mechanisms of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance and molecular testing. **Front. Mol. Biosci.** 1:19. doi: 10.3389/fmolb.2014.00019.
3. **Suzuki, H.**\*, Matsuzaki, J., Fukushima, Y., Suzuki, F., Kasugai, K., Nishizawa, T., Naito, Y., Hayakawa, T., Kamiya, T., Andoh, T., Yoshida, H., Tokura, Y., Nagata, H., Kobayakawa, M., Mori, M., Kato, K., Hosoda, H., Takabayashi, T., Miura, S., Uemura, N., Joh, T., Hibi, T., Tack, J. Randomised clinical trial: rikkunshito in the treatment of functional dyspepsia – a multi-centre, double-blind, randomised, placebo-controlled study. **Neurogastroenterol. Motil.** 26(7):950-961, 2014.
4. **Suzuki, H.**\*, Matsuzaki, J., Masaoka, T., Inadomi, J.M. Greater loss of productivity among Japanese workers with gastroesophageal reflux disease (GERD) symptoms that persist vs resolve on medical therapy. **Neurogastroenterol. Motil.** 26(6):764-771, 2014.
5. Matsuzaki, J., **Suzuki, H.**\* MicroRNAs in Barrett's esophagus: Future prospects. **Front. Genet.** 5:69, 2014.

## 2. 学会発表

1. 鈴木秀和、松崎潤太郎、福島康之. 機能性ディスぺプシア (FD) に対する六君子湯の有効性 (多施設共同二重盲検無作為化プラセボ対照比較試験). パネルディスカッション4 「FDの亜分類と治療選択」第100回日本消化器病学会総会. 東京. 2014年4月23日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし



厚生労働科学研究委託費（認知症研究開発研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

臨床研究（前向き試験）の実施

担当責任者 横山俊一 南風病院脳神経外科部長

**研究要旨**

軽度から中等度のアルツハイマー病患者にテプレノン投与し、その認知機能進行抑制効果を明らかにすることを目的とする臨床研究の準備が整った。研究プロトコールを作成し、南風病院臨床研究倫理審査委員会にて承認を得た。

**A. 研究目的**

本研究で我々は、これまでのドラッグリポジショニング（DR）経験を活かしてテプレノン投与をアルツハイマー病（AD）治療薬として開発する。またこの研究を通してDR手法を確立し公開することにより、我が国におけるDRを推進する。

現在AD治療に用いられている薬はアミロイドβ（Aβ）の凝集を抑えたり神経細胞を保護したりすることは出来ない。そのため、症状を一時的には改善するものの病気の進行を抑制することは出来ない。我々は、heat shock protein（HSP）70がAβの凝集を抑制したり神経細胞を保護したりすることにより、ADモデルマウスの記憶学習能力を顕著に改善することを示し、テプレノンがADの根本的治療薬になる可能性を示した。

実際に患者にテプレノン投与するこの臨床研究でそのADに対する臨床的効果を検討することは、根本治療薬のないAD治療に大きな可能性をもたらす。本研究では、軽度～中等度AD患者にテプレノン投与し、その認知機能進行抑制効果を明らかにすることを目的とする。

**B. 研究方法**

①テプレノンの認知機能障害抑制効果に関する臨床研究

プラセボ対照二重盲検比較試験で行い、テプレノン投与による認知機能進行抑制効果を明らかにする。対象患者を無作為に以下の2群に分け薬剤を投与する。

- 1) ドネペジル+テプレノン群（60例）
- 2) ドネペジル+プラセボ群（60例）

評価項目は以下の通りである。神経心理検査としてMini-Mental State Examination（MMSE）、立方体模写、時計描画、クリクトン尺度、geriatric depression scale（GDS）、FAST ステージ、Zarit 介護負担度、Neuropsychiatric Inventory（NPI）、Alzheimer's Disease Assessment Scale 日本版（ADAS-J cog）、画像

診断としてMRIのVoxel-Based Specific Regional Analysis System for Alzheimer's Disease（VSRAD）、脳血流SPECTの疾患特異領域解析を行う。また、血液中のHSP70量を測定する。

（倫理面への配慮）

本研究は、「南風病院臨床研究倫理審査委員会」にて承認を得た。

**C. 研究結果**

本年度は研究プロトコールを作成し、南風病院倫理審査委員会での承認が得られた。また、実際に患者に投与するテプレノンおよびプラセボの準備を開始し、3月中に用意できる見込みとなった。

**D. 考察**

必要な準備は終了し、2015年4月より患者登録可能と思われる。

**E. 結論**

研究プロトコール作成および倫理委員会の承認を終えた。対象患者の登録を4月より開始する。

**F. 健康危険情報**

該当なし

**G. 研究発表**

Yokoyama S, Kajiya Y, Yoshinaga T, Tani A, Hirano H: Imaging discrepancies between magnetic resonance imaging and brain perfusion single-photon emission computed tomography in the diagnosis of Alzheimer's disease, and verification with amyloid positron emission tomography. *Psychogeriatrics* 14, 110-117, 2014

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

様式第19

学会等発表実績

委託業務題目「臨床試験でのバイオマーカー確立」

機関名 慶應義塾大学医学部

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
機能性ディスペプシア(FD)に対する六君子湯の有効性(多施設共同二重盲検無作為化プラセボ対照比較試験)、口頭、パネルディスカッション4「FDの亜分類と治療選択」	鈴木秀和、松崎潤太郎、福嶋康之	第100回日本消化器病学会総会	2014年4月	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所（学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
Musosal expression of aquaporin-4 in the stomach of histamine type 2 receptor knockout mice and Helicobacter pylori-infected mice.	Fukuhara, S., Matsuzaki, J., Tsugawa, H., Masaoka, T., Miyoshi, S., Mori, H., Fukushima, Y., Yasui, M., Kanai, T., Suzuki, H.	J. Gastroenterol. Hepatol. 29(S4):53-59, 2014	2014年12月	国外

<p>Randomised clinical trial: rikkunshito in the treatment of functional dyspepsia – a multi-centre, double-blind, randomised, placebo-controlled study.</p>	<p>Suzuki, H., Matsuzaki, J., Fukushima, Y., Suzaki, F., Kasugai, K., Nishizawa, T., Naito, Y., Hayakawa, T., Kamiya, T., Andoh, T., Yoshida, H., Tokura, Y., Nagata, H., Kobayakawa, M., Mori, M., Kato, K., Hosoda, H., Takabayashi, T., Miura, S., Uemura, N., Joh, T., Hibi, T., Tack, J.</p>	<p>Neurogastroenterol. Motil. 26(7):950-961, 2014</p>	<p>2014年7月</p>	<p>国外</p>
<p>Ameliorative effect of mepenzolate bromide against pulmonary fibrosis.</p>	<p>Kurotsu, S., Tanaka, K., Niino, T., Asano, T., Sugizaki, T., Azuma, A., Suzuki, H., Mizushima, T.</p>	<p>J. Pharmacol. Exp. Ther. 350(1):79-88, 2014</p>	<p>2014年7月</p>	<p>国外</p>
<p>Greater loss of productivity among Japanese workers with gastroesophageal reflux disease (GERD) symptoms that persist vs resolve on medical therapy.</p>	<p>Suzuki, H., Matsuzaki, J., Masaoka, T., Inadomi, J.M.</p>	<p>Neurogastroenterol. Motil. 26(6):764 – 771, 2014</p>	<p>2014年6月</p>	<p>国外</p>