

## 課題 F 「精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究」

### 1) 研究課題名

「加齢による脳機能低下関連分子の定量」

### 2) 所属機関名 / 氏名

医薬基盤研究所 創薬基盤研究部 プロテオームリサーチプロジェクト 朝長 毅

### 3) 目的

認知症発症や加齢による脳機能低下に関与するバイオマーカーの定量系を確立し、発症前診断に応用することを目的とする。

### 4) 概要

現在の AD 治療薬開発の多くは A $\beta$  産生を主な標的としているが、大多数を占める孤発性 AD で A $\beta$  の脳内産生が異常を来しているのか、或いは分解が低下しているのかどうか不明である。つまり未だに認知症の過半数を占める AD 病理の上流は殆ど手付かずの状態である。これは A $\beta$  42 が非常に蓄積しやすいために、新たに産生された A $\beta$  42 が既に蓄積している物に捕捉されていることによる。この問題をクリアして新たなブレークスルーを可能にするには、A $\beta$  と同じプロセスで産生され、かつ A $\beta$  のように凝集しないペプチドを見出すことが必要である。大阪大学精神医学教室大河内らは、A $\beta$  が生理的に必要な物質であり、他の基質からも A $\beta$  様ペプチドが分泌されているに違いないので、それを発見・同定・測定することで、A $\beta$  42 産生・分解が脳内でどのように変化しているのかを明らかにしようと考えて、一連の研究成果を公表してきた。質量分析技術などを駆使して「A $\beta$  様ペプチド」が分泌されていることを明らかにした。さらに脳脊髄液中に存在する APLP1 由来の新規 APL1 を同定し、A $\beta$  とは異なり凝集せず患者脳内でも蓄積していないことを明らかにした。そして、APL1 の一つである APL1 28 が A $\beta$  42 のサロゲートマーカーであることを発見した。AD および MCI 患者で APL1 28 の産生比率の上昇が起こっていることを明らかにし、A $\beta$  42 産生比の増大がアミロイド蓄積の原因となっていることを世界に先駆け証明した(Yanagida et al, EMBO MM, 2009)。さらに APLP2 由来の新規 APL2 の同定にも成功した。そして APL2 は A $\beta$  42 を分解する代表的な酵素であるネプリライシンによる部分的切断を受けることを発見した。

以上の成果をもとに、医薬基盤研究所では AD のサロゲートマーカー候補因子 APL1 , APL2 の血液中での定量系を確立し、血液での超早期 AD 診断法を開発する。具体的には、高性能三連四重極型質量分析計を用い、SRM/MRM 手法で血中 APL1 ペプチドを定量する。サンプルとして、大阪大学精神科で採取された血漿を材料とし、限外ろ過膜および APL1 抗体による前処理法を用い、内部標準としてサンプルに既知の濃度の安定同位体標識ペプチドを加え、その内部標準ペプチドを基準に約数 pg/ml の超微量なレベル(血中で最も微量といわれているサイトカインの量に匹敵するレベル)のペプチドを超高感度質量分析計を用いて定量する。また、これまで大阪大学精神医学教室で測定した髄液中の APL1 と血中 APL1 の量が関連しているかどうか検討する。

一方、AD 発症の上流における A $\beta$ 42 の分解低下の関与については、ヒト脳脊髄液中の APL2 分子種の解析が有用である。APL2 には APL2<sub>35</sub>、38、39 の 3 つの分子種が存在するが、APL2<sub>35</sub> 分子種はより長さの長い APL2<sub>38/39</sub> 分子種がネプリライシンによる特異的分解を受けて産生されることが分かったからである（未発表データ）。そこで、大阪大学精神医学教室と医薬基盤研究所とが共同で、ヒト脳脊髄液中の APL2 の定量系を確立し、「A $\beta$ 42 の分解速度の低下」を捉えるためのサロゲートマーカーとなりうるか、そして AD バイオマーカーとしての有用性について検討する。

#### 5) 実施体制

