

## アルツハイマー病の神経傷害を抑制するペプチドを発見

～安価で有効な新規治療法開発への貢献に期待～

### ポイント

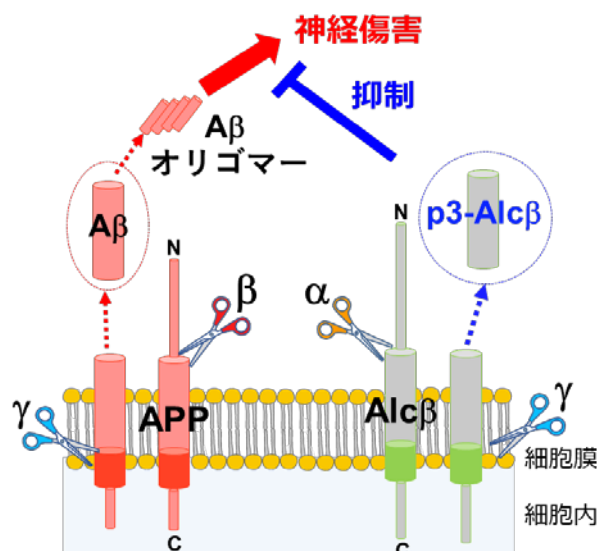
- ・脳由来の分泌ペプチド p3-Alc $\beta$  がアミロイド $\beta$  による神経傷害を保護・回復。
- ・神経細胞のミトコンドリアを活性化。
- ・安全で簡便な経皮投与製剤として、新規治療薬の開発への道を拓く可能性。

### 概要

北海道大学大学院薬学研究院の鈴木利治特任教授（認知症先進予防・解析学分野）、同大学大学院生命科学博士後期課程（研究当時）の齋藤 遥氏、浜松医科大学の尾内康臣教授、産業技術総合研究所生物プロセス研究部門の羽田沙緒里主任研究員、浜松ホトニクス株式会社中央研究所の塚田秀夫主幹、株式会社ペプチド研究所の熊谷久美子サイエンスアドバイザーらの研究グループは、脳内で分泌されるペプチドの「p3-Alc $\beta$ 」が神経細胞中のミトコンドリアを活性化することにより、アルツハイマー病の原因因子であるアミロイド $\beta$  が引き起こす神経毒性を抑制することを見出しました。

脳に薬剤を作用させようとすると、血液中の薬剤は血液脳関門(BBB)という強力なバリアによって通過を制限されます。しかし、末梢投与された p3-Alc $\beta$  は、アルツハイマー病のマウスモデルの BBB を透過して、アルツハイマー病によって活性が低下したミトコンドリアを活性化させることが明らかになりました。本研究によって、有効で安価なアルツハイマー病治療薬の開発につながることを期待されます。本研究成果をもとに、経皮投与の製剤化に成功し、臨床試験へ向けた準備を進めています。

なお、本研究成果は、2023年3月30日（木）公開の *EMBO Molecular Medicine* 誌に掲載されました。



p3-Alc $\beta$  の産生機構。p3-Alc $\beta$  は神経膜タンパク質 Alcadein $\beta$  (Alc $\beta$ ) から、A $\beta$  は神経膜タンパク質 APP から切断酵素による切断を受けて細胞外に分泌される。

## 【背景】

日本を含む先進諸国では、急速な高齢化による認知症患者の増加が社会問題となっています。2025年には、65歳以上の認知症患者の約700万人のうち、60～70%がアルツハイマー病（AD）になると推定されています。AD患者の脳内では、認知症を発症する20年以上も前から、アミロイド前駆体タンパク質（APP）から切り出されたアミロイドβペプチド（Aβ）<sup>\*1</sup>が細胞外に分泌され、多量体（オリゴマー）が形成されます。やがてオリゴマーはより大きな凝集体となり、脳に沈着して老人斑と呼ばれるADに特徴的な病理像が認められるようになります。遺伝子変異を伴う家族性ADの解析などから、Aβオリゴマーが神経細胞のシナプスを傷害し、神経毒性を現すことがAD発症の引き金になるという証拠が積み重ねられてきました。このような経緯から、Aβ凝集阻害物質やAβを認識する抗体など、Aβをターゲットとした治療法の開発が進められてきました。

しかし、形成される多様なAβオリゴマーが様々な標的タンパク質（神経伝達物質受容体など）を介して神経毒性を発現することや、AD発症・悪化のメカニズムには個人差があることなどの複雑性が、有効な治療法の開発を困難にしています。現在開発が進んでいる治療薬の多くは、特定のタイプのAβオリゴマーや凝集体に対して高い結合親和性を示す抗体医薬です。そのため、孤発性AD<sup>\*2</sup>の多様な発症機構の解明とその多様性に対応できる予防・治療法の開発が切望されています。

## 【研究手法】

北海道大学のグループが見出した Alcadin β (Alc β) は神経細胞に特異的に発現する膜タンパク質で、Aβの前駆体膜タンパク質である APP を切断する酵素により同じ代謝様式で切断されることによって、p3-Alc β<sup>\*3</sup> という 37-40 アミノ酸のペプチドを産生します (p1 の図)。p3-Alc β は Aβ とは異なり非凝集性のペプチドで、脳神経細胞から脳脊髄液中に分泌されます。研究グループは、AD 患者の脳脊髄液中でこのペプチドが減少することを明らかにしてきました。本研究では、p3-Alc β の脳内における機能をマウス胎仔脳由来の初代培養神経細胞と AD マウスモデルを用いた実験により検証しました。

## 【研究成果】

これまでの研究から、Alcadin ファミリー分子から産生される p3-Alc の機能として、Aβの神経毒性を促進するか、もしくは抑制することでADの発症に関わることが予測できました。老化、特にAD発症によりAlc βの発現が低下し、その結果代謝産物であるp3-Alc βの産生も減少します。p3-Alc βの神経細胞に対する効果を調べるために、Aβによる傷害を受けやすい大脳皮質および海馬由来のマウス初代培養神経細胞を使って、加齢やADで低下するミトコンドリア<sup>\*4</sup>の活性を評価する実験を行いました。その結果、37アミノ酸のp3-Alc β 37の添加によって、神経細胞の代謝活性の増加と、ミトコンドリアが産生するエネルギー源であるATP産生量の増加が認められました。神経細胞は分裂による増殖をしないため、これらの細胞生存シグナルの増加は神経細胞のミトコンドリアの活性化を反映しています。

次に、p3-Alc βの37アミノ酸の中から機能部位を決定するために、断片化したペプチドを用いて検証した結果、9～19番目の11アミノ酸（p3-Alc β 9-19）がその機能部位であることが分かりました。p3-Alc β 9-19は、37アミノ酸のペプチド（p3-Alc β 37）と同様に有意に神経細胞のミトコンドリアを活性化させ、Aβオリゴマーに起因する傷害から神経細胞を保護する作用を有することを見出しました。

さらに、研究グループは、p3-Alc βがAβオリゴマーによる毒性から神経細胞を保護する作用がど

のようなメカニズムによるものかを明らかにするために、カルシウムイオンに着目しました。A $\beta$ オリゴマーは細胞内への過剰なカルシウムイオンの流入を引き起こし、これが神経変性の引き金となることが報告されています。解析の結果、p3-Alc $\beta$  9-19 と p3-Alc $\beta$  37 は、A $\beta$ オリゴマーによる NMDA 型グルタミン酸受容体\*<sup>5</sup>の異常活性化を介したカルシウムの過剰な流入を抑制していました。この新規なメカニズムにより、p3-Alc $\beta$  が A $\beta$ の毒性から神経細胞を守ることを明らかにしました。

脳を含む中枢神経に作用する薬剤は、血液成分の中枢神経側への物質移動を制限する血液脳関門 (BBB) という機構によって、投与しても作用部位へ十分量が到達できないことが問題となります。しかし、p3-Alc $\beta$  9-19 を末梢投与したラットでは PET\*<sup>6</sup>を用いた脳画像解析で脳のミトコンドリアの活性が上がったことから、p3-Alc $\beta$  9-19 が中枢神経系に到達し、末梢投与でも BBB を透過して機能を発揮することが明らかとなりました。また、ヒト型の神経毒性を示す A $\beta$ を産生しない野生型マウスと比較して、低下していた AD マウスモデルのミトコンドリアの活性が p3-Alc $\beta$ の投与によって野生型のレベルにまで回復したことから、個体レベルでも p3-Alc $\beta$ が A $\beta$ オリゴマーによる神経毒性から神経機能を保護することが示されました (図 1)。

### 【今後への期待】

p3-Alc $\beta$ は、脳脊髄液中に分泌されて、神経細胞のミトコンドリアの活性化と A $\beta$ 傷害性に対して保護的な作用を示すペプチドです。加齢や AD 発症に伴ってその量が減少します。本研究により、p3-Alc $\beta$ がこれまでに開発されてきた AD 治療薬とは異なるメカニズムで AD に有効であることが示唆されました。p3-Alc $\beta$ を用いることで、AD に有効な新規治療法の開発に結びつく可能性があります (図 2)。著者らの研究チームは、現在米国パスポートテクノロジー社と共同で、マイクロポレーション装置 (パスポートシステム、下記【関連するプレスリリース】参照) \*<sup>7</sup>を用いた p3-Alc $\beta$  9-19 の経皮吸収製剤 ALC919 を開発しており、今後臨床試験を実施する予定です。

### 【謝辞】

本研究は AMED 橋渡し研究戦略的推進プログラム (脳移行性経皮吸収ペプチドを用いたアルツハイマー病治療薬の前臨床試験)、AMED 認知症研究開発事業 (非病変蛋白脳画像と液性バイオマーカーを取り入れた早期認知症の層別化研究) などの支援を受けて行われました。北海道大学の認知症先進予防・解析学分野は、ジャパン・メディカル・リーフ社の支援による寄附分野です。

### 【関連するプレスリリース】

北海道大学・PassPort Technology 社共同プレスリリース「PassPort Technologies と北海道大学が脳移行性経皮吸収ペプチドを用いたアルツハイマー病治療薬の共同研究プロジェクトを開始」

発表日：2019 年 10 月 8 日

URL： [https://www.hokudai.ac.jp/news/191008\\_pr.pdf](https://www.hokudai.ac.jp/news/191008_pr.pdf)

## 論文情報

論文名 Brain p3-Alc $\beta$  peptide restores neuronal viability impaired by Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide (脳由来 p3-Alc $\beta$  ペプチドは、アルツハイマー病のアミロイド $\beta$ ペプチドによって損なわれた神経細胞の生存活性を回復する)

著者名 Saori Hata<sup>\*1,3</sup>, Haruka Saito<sup>\*2</sup>, Takeharu Kakiuchi<sup>4</sup>, Dai Fukumoto<sup>4</sup>, Shigeyuki Yamamoto<sup>4</sup>, Kensaku Kasuga<sup>5</sup>, Ayano Kimura<sup>2</sup>, Koichi Moteki<sup>2</sup>, Ruriko Abe<sup>1</sup>, Shungo Adachi<sup>3</sup>, Shoich Kinoshita<sup>2</sup>, Kumiko Yoshizawa-Kumagaye<sup>6</sup>, Hideki Nishio<sup>6</sup>, Takashi Saito<sup>7,8</sup>, Takaomi C. Saïdo<sup>7</sup>, Tohru Yamamoto<sup>9</sup>, Masaki Nishimura<sup>10</sup>, Hidenori Taru<sup>1</sup>, Yuriko Sobu<sup>1</sup>, Hiroyuki Ohba<sup>4</sup>, Shingo Nishiyama<sup>4</sup>, Norihiro Harada<sup>4</sup>, Hideo Tsukada<sup>4</sup>, Takeshi Ikeuchi<sup>5</sup>, Yasuomi Ouchi<sup>#11</sup>, and Toshiharu Suzuki<sup>#1</sup> (\*共同筆頭著者、<sup>1</sup>北海道大学大学院薬学研究院、<sup>2</sup>北海道大学大学院生命科学院、<sup>3</sup>産業技術総合研究所、<sup>4</sup>浜松ホトニクス株式会社中央研究所、<sup>5</sup>新潟大学脳研究所、<sup>6</sup>株式会社ペプチド研究所、<sup>7</sup>理化学研究所脳科学総合研究センター、<sup>8</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科、<sup>9</sup>香川大学医学部、<sup>10</sup>滋賀医科大学神経難病研究センター、<sup>11</sup>浜松医科大学光先端医学教育研究センター、<sup>#</sup>共同責任著者)

雑誌名 *EMBO Molecular Medicine* (ヨーロッパ分子生物学機構の科学誌)

D O I 10.15252/emmm.202217052

公表日 2023年3月30日(木)(オンライン公開)

## お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 特任教授 鈴木利治(すずきとしはる)

T E L 011-706-3250 メール tsuzuki@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.pharm.hokudai.ac.jp/shinkei/>

産業技術総合研究所生物プロセス研究部門 主任研究員 羽田沙緒里(はたさおり)

T E L 029-861-4300 メール saori.hata@aist.go.jp

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課(〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jip-press@general.hokudai.ac.jp

産業技術総合研究所広報部報道室

T E L 029-862-6216 F A X 029-862-6212 メール hodo-ml@aist.go.jp

浜松医科大学総務課広報室

T E L 053-435-2151 F A X 053-435-2112 メール koho@hama-med.ac.jp

【参考図】

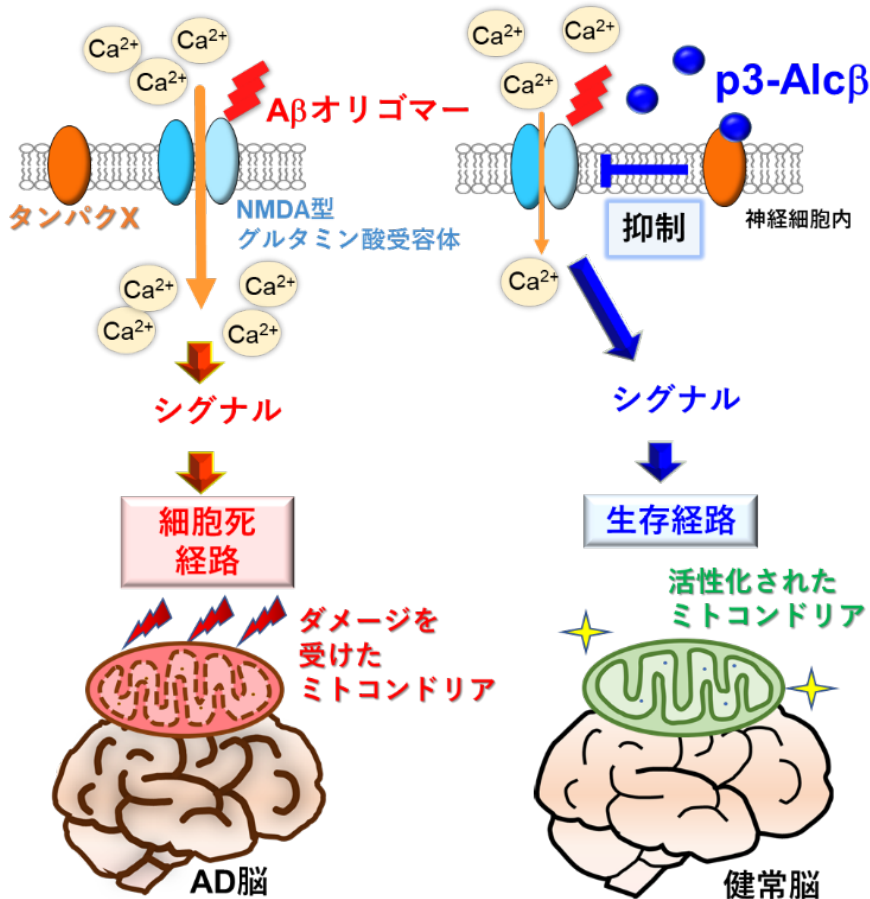


図 1. p3-Alcβ の作用機構。左：Aβ オリゴマーが、NMDA 型グルタミン酸受容体を非生理的に活性化し、異常なカルシウム流入を引き起こすことで、ミトコンドリアの機能低下と神経細胞死を誘発する。右：脳内ペプチド p3-Alcβ は、NMDA 型グルタミン酸受容体の異常活性化を抑制し、Aβ オリゴマーによるミトコンドリアの機能低下を防ぎ、神経細胞を健全な状態へ回復する。研究グループは、p3-Alcβ が加齢および AD の進行に伴い減少することを解明している。

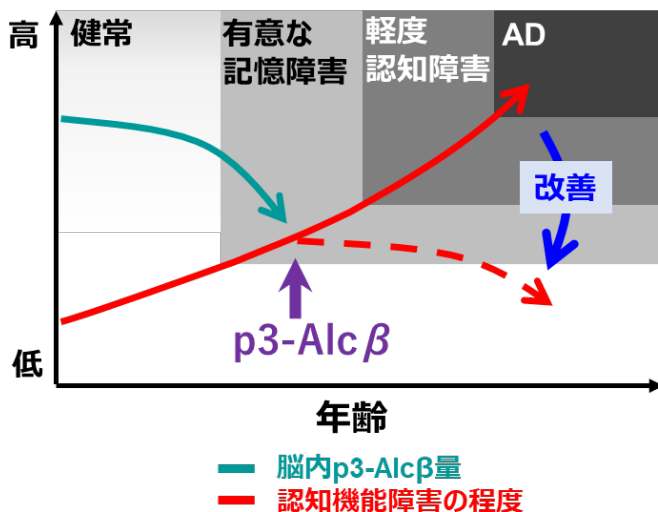


図 2. p3-Alcβ の AD 治療薬としての活用。AD 初期患者では p3-Alcβ の低下が認められる。有意な記憶障害が生じる時期から p3-Alcβ (経皮吸収剤名 ALC919) を投与することで、AD の進行を遅らせ認知機能障害を抑制する効果が期待できる。

## 【用語解説】

- \*1 A $\beta$  … アミロイド前駆体タンパク質 APP から $\beta$ セクレターゼ(BACE1) と  $\gamma$  セクレターゼというタンパク質切断酵素で切断されることによって生じる主に 40 もしくは 42 アミノ酸の分泌性ペプチド。凝集性を示し多量体化することで神経毒性を示す。
- \*2 孤発性 AD … 家族性 AD と異なり原因遺伝子 (*App*, *PSEN*) に発症性的変異が認められないアルツハイマー病で、患者の 9 割以上を占めると言われている。
- \*3 p3-A $\beta$  … 神経特異的膜タンパク質 Alcadin $\beta$  から  $\alpha$  セクレターゼ(ADAM10/17)と  $\gamma$  セクレターゼの切断によって生じる主に 37 もしくは 40 アミノ酸の分泌性ペプチド (Hata et al., *J. Biol. Chem.* [2009] 284, 36024; *Ann. Neurol.* [2011] 69, 1026)。AD 患者で減少する (Hata et al., *Alzheimers Dement.* (N.Y.) [2019] 5, 740)。
- \*4 ミトコンドリア … 細胞のエネルギー源である ATP を産生する小器官である。AD 患者ではミトコンドリア機能が低下することが報告されている。
- \*5 NMDA 受容体 … NMDA 型グルタミン酸受容体で、A $\beta$  オリゴマーが作用する標的分子の一つと考えられている。グルタミン酸刺激によりカルシウムの神経細胞内刺激を誘導する。A $\beta$  オリゴマーによる受容体の異常な刺激は、過剰なカルシウム流入を引き起こし、神経細胞死を誘発する。
- \*6 PET … ポジトロンエミッショントモグラフィーのことで、本研究では、ミトコンドリア PET プローブ[<sup>18</sup>F]BCPP-EF を用いて、生体脳のミトコンドリア機能を定量化している。
- \*7 PassPort System … 米国 PassPort Technology 社が開発した皮膚表面に微細な孔を開けるマイクロポレーション技術と、微細孔を介した薬物の吸収を制御するパッチ組成技術を組み合わせた新しい投与技術。この技術を用いることで、これまで注射剤や点滴剤などに投与経路が限定されていた薬剤に対し、皮膚から有効成分を吸収させる経皮投与という新たな可能性を広げることができる。PassPort System の活用は、低分子薬のみならず、ペプチドや核酸といった中分子医薬、タンパク質のような高分子のバイオ医薬品など多くのモダリティの医薬品に経皮投与という新たな選択肢を提案することが可能となる (上記【関連するプレスリリース】も参照)。