

Title	Development of a Femtomolar-Acting Humanin Derivative Named Colivelin by Attaching Activity-Dependent Neurotrophic Factor to Its N Terminus : Characterization of Colivelin-Mediated Neuroprotection against Alzheimer's Disease-Relevant Insults In Vitro and
Sub Title	最強ヒューマニン誘導体「コリベリン」の開発： ADNFとヒューマニンのハイブリッドペプチドの抗アルツハイマー病細胞死抑制作用
Author	山田, 真吏奈
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.23-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0023

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Development of a Femtomolar-Acting Humanin Derivative Named Colivelin by Attaching Activity-Dependent Neurotrophic Factor to Its N Terminus: Characterization of Colivelin-Mediated Neuroprotection against Alzheimer's Disease-Relevant Insults In Vitro and In vivo

(最強ヒューマニン誘導体「コリベリン」の開発：ADNFとヒューマニンのハイブリッドペプチドの抗アルツハイマー病細胞死抑制作用)

山田 真 吏 奈

内容の要旨

アルツハイマー病（ア病）は全世界に1,000万人の有病者が存在する原因不明の神経変性疾患であり、進行性の記憶認知障害と神経脱落を主徴とする。治療法はドネペジルなど症状をわずかに改善するもののみで、根本的な治療薬開発が望まれている。我々は、ア病特異的神経細胞死に拮抗する新規の短鎖ペプチド、ヒューマニン（Humanin：HN）をア病脳後頭葉から同定した。

本研究では、HNの神経保護作用をさらに強化するため、HNの強力な誘導体であるAGA-(C8R) HNGI7のN末端にActivity-dependent neurotrophic factor (ADNF) という9アミノ酸からなるペプチドを結合させた誘導体コリベリン (Colivelin) を作成した。コリベリンは初代培養神経に対するAβ毒性に対して100nMという極めて低い濃度で神経保護作用を発揮した。また、培養神経細胞株F11においてV642I-APPを高発現した際に誘導される神経細胞死に関しても同様に100nMの濃度で作用した。この際にコリベリンの神経保護作用がCa²⁺/calmodulin依存性タンパクキナーゼIV (CaMK IV) およびSTAT3のドミナントネガティブ変異体を同時に発現させた際に阻害されたことから、コリベリンの神経保護作用がこの両者を介していることが示唆された。M146L-PS1の高発現による神経細胞死はADNFでは拮抗できないことが報告されているが、コリベリンはこれも100nMの濃度で拮抗した。これは、N末端側に結合したADNFによりHN部分の神経保護作用が増強されていると考えられる。その一方で、HNが有効でなくADNFが有効であると報告されているグルタミン酸の神経毒性に対するコリベリンの効果を検討したところ、100nMの濃度でこれを抑制した。この結果から、コリベリンのN末端側のADNF配列それ自身が神経保護作用を発揮するということが示唆された。

我々はさらに、コリベリンのin vivoにおける効果を検討した。この際にまずAβ脳室内反復投与モデルを用い、コリベリンの脳室内投与による治療効果を検討したところ、Aβによって誘導される記憶障害が顕著に改善された。またこの作用は同量のADNFを用いた際よりも強力であった。さらにin vivoにおける神経細胞死抑制効果を検討する為、Aβ1-42海馬内注モデルを用いた。このモデルではAβによって海馬CA1領域の神経細胞死が誘導されるが、コリベリンを24時間前に脳室内投与することによって細胞死が完全に抑制された。また、ムスカリン型アセチルコリン受容体阻害剤3-quinuclidinyl benzilate (3-QNB) の誘導する機能的記憶障害モデルを用いてコリベリン腹腔内投与の効果を検討すると、コリベリンが用量依存性に記憶障害を改善した。これらの結果から、コリベリンは神経細胞死抑制作用を有するという点で今までに無い新規ア病治療薬シードとして非常に有望であるということが示された。

論文審査の要旨

アルツハイマー病（ア病）は認知症の最大の原因であり、高齢社会を背景に大きな問題となっている。治療薬としてドネペジルや抗酸化剤が臨床的に使用されているが、その効果は十分ではなく、有効な治療薬開発が望まれている。本研究では、ア病関連神経毒性に特異性の高い神経保護作用を示すHumanin (HN) と短鎖の神経保護ペプチドActivity-dependent neurotrophic factor (ADNF) に着目し、両者を結合させることによりコリベリンと名付けた新たな神経保護ペプチドを作成した。in vitroにおいてコリベリンは100nMという超低濃度でAβ依存性、非依存性神経細胞死を抑制する効果を発揮した。また、in vivoにおいても、コリベリンはAβ誘導性記憶障害抑制作用、Aβ誘導性神経細胞死抑制作用を示した。さらにコリベリンを腹腔内投与することによって、ムスカリン型アセチルコリン受容体阻害剤誘導性記憶障害が抑制されたことから、コリベリンが脳血液関門を通過して、ア病関連記憶障害に拮抗することが示唆された。以上の知見から、HN誘導体であるコリベリンが有望なア病治療薬候補であると考えられた。

審査ではまず、本研究においてア病治療薬の効果を迅速に判定するために作成した、Aβ脳室内反復投与モデルに関する質問がなされた。これに対して、このモデルは従来存在したAβを大量に脳室内投与するモデルを改良したものであり、ア病患者で想定されている脳内の可溶性Aβが増加した状態を再現したモデルであることが回答された。また、このAβ脳室内反復投与モデルにおいて大脳中核のコリン作動性神経障害が誘導されることから、特に初期のア病者の病態、記憶障害を模倣したモデルである点も併せて回答された。ついで、ア病の病理学的特徴の一つである神経原線維変化に関して、その構成成分であるタウへのコリベリンの作用について質問がなされた。この点に関しては現在のところ詳細な検討がなされていないが、重要な指摘であることが確認された。さらに、コリベリンの構成成分であるADNFが実際にコリベリンの2量体化を促進するかとの質問がなされた。これに対して、免疫沈降実験によってコリベリンがADNF部分でも結合すること、BIAcoreを用いた検討でコリベリン同士の解離定数がHN同士のそれより10²程度小さいことが回答された。コリベリンの作用機序に関しても、本研究によってSTAT3が関与することが示唆されたが、実際にどのようにその効果を発揮しているのかという質問がなされた。これに対しては、現在検討中であるが、細胞死抑制遺伝子の発現を誘導することや、記憶に関連する分子に作用することを現在検討しているとの回答がなされた。また、今後はコリベリンの副作用を早急に検討し、速やかに臨床応用へと研究を推進することが望ましいとの助言を受けた。

以上のように、本研究は今後さらに検討すべき点が多く残されているものの、現在有効な治療法が存在しないア病に対して有望な治療薬シーズを創成し、今後の発展により臨床応用に結びつく可能性が高い有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 解剖学 相磯 貞和
内科学 鈴木 則宏 薬理学 安井 正人
生理学 岡野 栄之
学力確認担当者：
審査委員長：鈴木 則宏

試問日：平成19年1月16日