

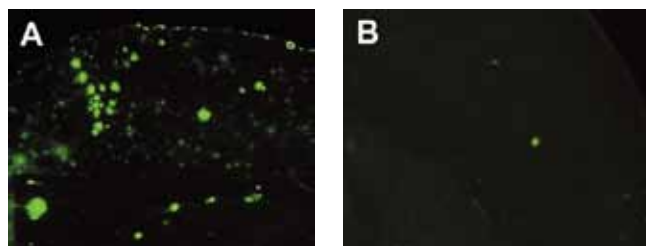
## 神経難病研究 Research on Neurodegenerative Diseases

### 新たな抗アミロイドβ治療法の開発

New Strategy of Anti-amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) Therapy for Alzheimer's Disease (AD)

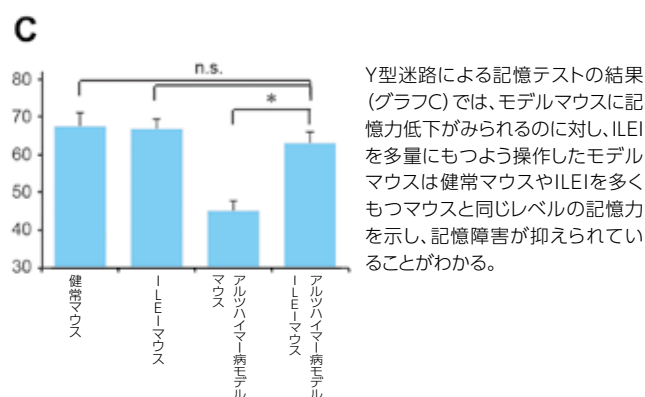
アルツハイマー病の原因は、アミロイド $\beta$ と呼ばれるタンパク質断片が脳に蓄積することですが、この根幹となる病態に有効な治療法は未だ開発されていません。

分子神経科学研究センターの研究グループは、アミロイド $\beta$ の脳内産生を抑えるタンパク質ILEIを新たに同定しました。健常者に対してアルツハイマー病患者の脳ではILEIの発現が減少している一方、アルツハイマー病モデルマウスの脳にILEIを強制的に発現させることにより、発症が抑制されることを確認しました(グラフC)。これまで、セクレターゼとよばれるタンパク質分解酵素の活性阻害剤がアミロイド $\beta$ 産生を抑制する薬剤として開発されてきましたが、副作用のため臨床応用は阻まれています。ILEIはセクレターゼ活性を阻害することなくアミロイド $\beta$ 産生を減らしアルツハイマー病の発症を抑制することから、ILEIが予防法や治療法の開発に新たな境地を開くことが期待されます。



モデルマウスの脳では $A\beta$ 沈着が斑状(緑の蛍光)に見られる(写真A)のに対し、ILEIを多量にもつモデルマウスの脳では $A\beta$ 沈着が明らかに少なくなっている(写真B)。

Accumulation of  $A\beta$  in the brain underlies the pathogenesis of AD. Although  $\gamma$ -secretase is a major target for therapeutic reduction of  $A\beta$  production, non-selective inhibition of its activity causes serious adverse effects due to blockade of Notch signaling. We identified a secretory protein named ILEI as a negative regulator of  $A\beta$  production. Notch signaling and  $\gamma$ -secretase activity are not affected by ILEI. We also show neuronal expression of ILEI and marked decrease in the level of secreted ILEI in AD brains. Transgenic overexpression of ILEI significantly reduces the brain  $A\beta$  burden and ameliorates the memory deficit in AD model mice. ILEI may be a plausible target for the development of disease-modifying therapies. (Nature Communications 5:3917, 2014)

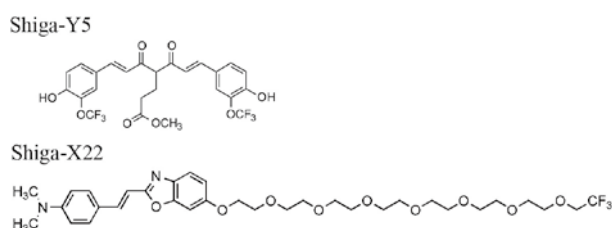


### 神経難病に関する分子イメージング Molecular Imaging of Neurological Diseases

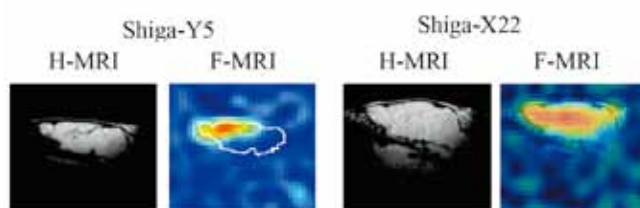
フッ素MR画像法という最先端の技術を駆使し、アルツハイマー病MR画像診断薬の開発研究を行っています。これまでに、230種類以上の化合物をスクリーニングし、有望な新規化合物34個を特許出願しました。なかでも、Shiga-Y5は先行薬の10倍以上の強いフッ素NMR信号を出し、アルツハイマー病モデルマウスで老人斑の画像化に成功しました。また、Shiga-Y5は認知症の治療効果をもつことも見いだしています。Shiga-Y5は2015年2月に日本および米国の特許を取得しました。

We have developed a novel  $^{19}\text{F}$ -containing curcumin derivative, named Shiga-Y5, as a potential imaging agent for  $^{19}\text{F}$ -MRI. Using Shiga-Y5, we have successfully obtained amyloid imaging in the brain of a transgenic mouse model of AD. When AD model mice were fed a chow diet that contained Shiga-Y5 for 6 months, the mice improved memory impairment and reduced insoluble  $A\beta_{42}$  in the brain. The results indicate that Shiga-Y5 is a potential diagnostic and therapeutic agent for AD. (Yanagisawa D et al., Neurobiol Aging 36: 201-210, 2015)

#### Shiga-Y5とShiga-X22の構造式



#### Shiga-Y5とShiga-X22による老人斑の画像化試験



H-MRIは脳の構造をみるプロトンMR画像、F-MRIは老人斑をみるフッ素MR画像。アルツハイマー病モデルマウスでは、フッ素画像(F-MRI)で老人斑を示す黄色から赤色の画像が得られる。

## NIPPON DATA 国民代表集団の追跡による生活習慣病・健康寿命に影響を与える要因の検討

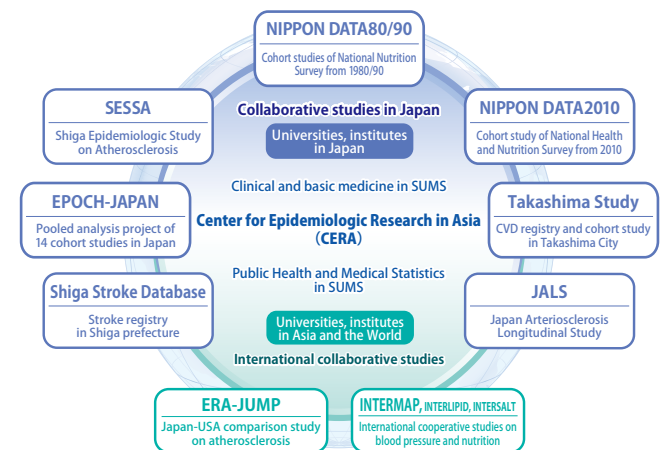
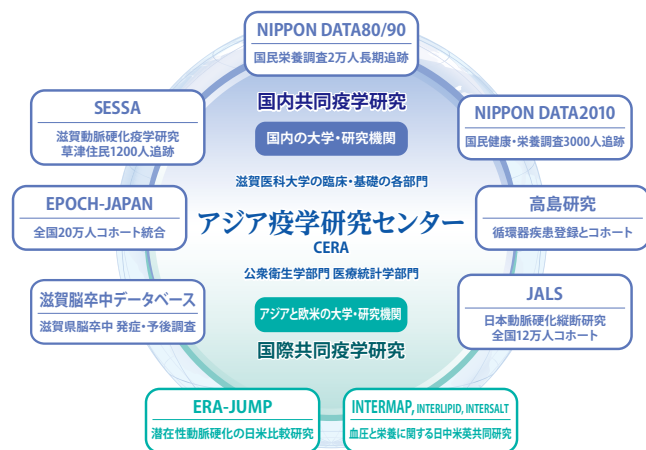
The National Integrated Project for Prospective Observation of Non-communicable Disease and its Trends in the Aged (NIPPON DATA)

NIPPON DATA80/90では、全国300地区からの日本人の代表集団である厚生省循環器疾患基礎調査及び国民栄養調査対象者の追跡調査を実施しています。1980年および1990年に調査を受けた合計約2万人が対象です。日本人の生活習慣病と健康寿命に影響を与える要因を明らかにすることを目的としています。

NIPPON DATA2010では、2010年の国民健康・栄養調査対象者を対象として「循環器病の予防に関する調査」を厚生労働省の指定研究として実施しました。これは従来の循環器疾患基礎調査の後継調査であり、約3,000人の集団の長期追跡調査を行っています。糖尿病や循環器疾患の新規発症およびそれらの規定因子の同定を行うなど、日本人を代表する新たな生活習慣病予防のエビデンスを創ります。

NIPPON DATA80/90 are two cohort studies based on participants in the National Surveys on Circulatory Disorders, and the National Nutritional Surveys, conducted in 1980 and 1990, respectively. The combine cohorts have follow-up almost 20,000 men and women across Japan, in order to focus on prevention of lifestyle-related diseases and promotion of healthy aging.

NIPPON DATA2010 is a cohort study to synthesize current evidence on prevention of lifestyle-related diseases such as diabetes mellitus and cardiovascular disease for Japanese populations by identifying determinants of those diseases. The study began in 2010 by inviting participants of the National Health and Nutritional Survey conducted by the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW). With the participants' informed consent, we were able to conduct surveys that include almost 3,000 men and women on lifestyle and related factors, and we are now actively following-up the study participants.



## 循環器疾患の疫学と予防に関する国際共同研究、国内共同研究

International and Domestic Joint Research on the Prevention and Epidemiology of Cardiovascular Disease

栄養と血圧に関する国際共同研究 (INTERMAP / INTERLIPID) では、日本、中国、アメリカ、イギリスの一般成人約4,700人を対象として、詳細な食事調査と血圧測定を行い、高血圧と関連する栄養要因を明らかにしています。また、INTERLIPID研究では日本在住日本人とハワイ在住日系人の循環器危険因子の比較を行っています。

循環器疫学コホート研究の統合データベース共同研究 (EPOCH-JAPAN) は、厚生労働省の研究班として始まった、わが国を代表する14のコホート研究が参加した共同研究です。20万人の長期追跡データを統合することにより日本人の総死亡・循環器疾患死亡に関連する要因の分析を進めています。

INTERMAP / INTERLIPID (International Collaborative Study on Nutritional Factors and Blood Pressure), INTERMAP was conducted to examine associations between nutritional factors and hypertension among 4,680 participants in China, Japan, UK, and US. In INTERMAP, dietary surveys and blood pressure measurements were conducted using a highly standardized protocol. INTERLIPID, an ancillary study of INTERMAP, investigates cardiovascular risk factors in Japanese in Japan and Japanese-Americans in Hawaii.

EPOCH-JAPAN (Pooled Analyses Project of Cohort Studies of Cardiovascular Diseases Across Japan) began in 2005 with the aim to pool data from well-established cohort studies across Japan. A total of 14 cohort studies have participated in the project, providing long-term data on more than 200,000 men and women (3 million person-years) across Japan. The goal of the project is to clarify associations between risk factors and total and cardiovascular disease mortality that are less clear with smaller sample sizes.

# 幹細胞・ヒト疾患モデル研究 Research on Stem Cells and Human Disease Models

## 多能性幹細胞の未分化性維持・リプログラミング機構

Maintenance of the Undifferentiated State and Reprogramming Mechanism of Pluripotent Stem Cells

内部細胞塊 (Inner Cell Mass, ICM) 由来の胚性幹細胞 (ES) は、全ての臓器に分化し得る多能性と、旺盛な増殖性のために生物学、再生医学分野で精力的に研究がなされています。

本学の研究グループは、Klf5 (Krüppel like factor 5) ノックアウトマウス、Klf5 ノックアウト ESC を樹立、研究する過程で、Klf5 が内部細胞塊細胞の ES 化 (= 幹細胞化) に必須の遺伝子である事を見出しました。また、Klf5 が ESC の自己複製過程 (未分化性維持・増殖) にも極めて重要である事も見出しています。

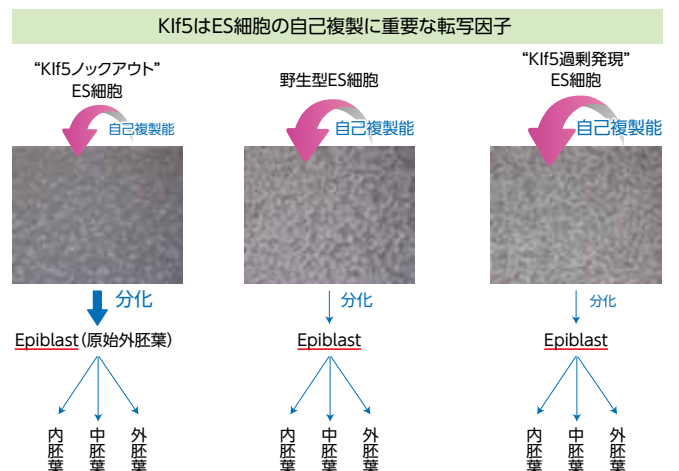
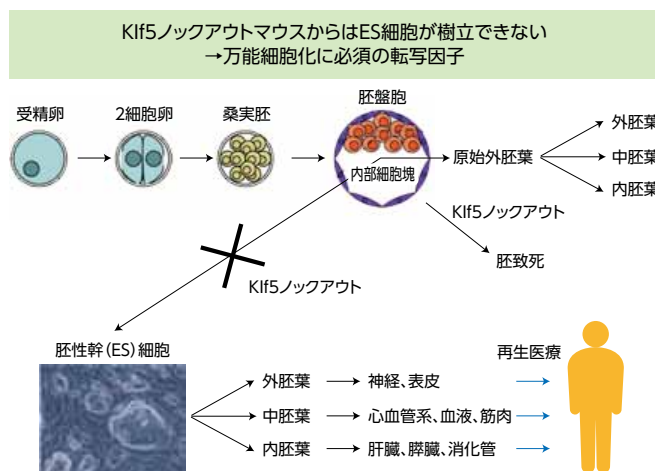
Klf5 ノックアウト ESC を樹立したところ、Klf5 ノックアウト ESC では、顕著に増殖能が低下するとともに、分化マーカーが高発現し、自発分化する傾向があることから、分化相側に遷移している事を見出しました。一方 Klf5 過剰発現 ESC では顕著に増殖能が亢進するとともに、LIF 除去を行っても分化しないことが分かってきています。

元来マウスの ESC は増殖能が極めて高いにもかかわらず、Klf5 過剰発現によって未分化性を保ちつつ増殖能をさらに亢進させられる事は驚異的です。このような Klf5 の特質を、増えにくい幹細胞、例えばヒト ES・iPS 細胞を未分化性を維持したまま増やす手法の開発に繋がられるのではないかと期待しています。

Murine embryonic stem (ES) cells are derived from the inner cell mass (ICM) of the blastocyst and can be maintained indefinitely in a self-renewing state. The potential of ES cells to differentiate into specific cell types may find use in regenerative medicine. However, exploitation of ES cells for therapeutic uses requires a better understanding of the molecular mechanisms underlying both the regulation of pluripotency and proliferation of ES cells.

Our group showed that homozygous disruption of Klf5 results in defective ICM development and early embryonic lethality. Klf5 KO ES cells have increased expression of various differentiation marker genes, leading to frequent spontaneous differentiation. Conversely, overexpression of Klf5 in ES cells suppressed the transcription of differentiation marker genes, and maintained pluripotency in the absence of LIF. Klf5 also regulates ES cell proliferation.

Future studies should increase our understanding of how ES cells maintain their pluripotent and proliferative state, and be useful to create mouse type pluripotent stem cells from human iPS cells.



## カニクイザルを用いた病態解明

Pathological Studies using Cynomolgus Monkey

カニクイザルにもアルツハイマー病関連病変が形成されますが、20歳以上の高齢でないと発症しません。そこでアデノ随伴ウイルスにアルツハイマー病関連遺伝子を組換えて、早期に病変を見いだすためのモデル作製を試みています。

子宮内膜症は霊長類だけに発症する疾患で、正確な病理発生は自然発症を起こす動物種だけで明確にできます。内膜組織が遠隔地へ播種、移植される際の免疫学的なファクター、すなわち免疫抑制に関わる細胞、NK細胞の挙動などについて、カニクイザルを用いて研究しています。

Alzheimer's disease-associated pathologies are found in aged cynomolgus monkeys more than 20 year-old. However the 20 year-longevity is too long as a laboratory animals. Therefore, we are planning to develop a novel model with early onset of the pathologies using adeno-associated virus vector modified with Alzheimer's disease-candidate genes.

Spontaneous Endometriosis develops exclusively in primate species, due to characteristic anatomical structure of oviducts and ovaries. Therefore, rodent models could not reflect precise pathomechanisms as histopathological changes in humans. We investigate the behavior of immunosuppression cells and NK cells, when the onset of endometriosis reveals the transplantation of endometrial cells to the ectopic tissues.

# がん治療研究 Research on Cancer Treatment

## 肺がんペプチドワクチン療法 Peptide Vaccine Therapy for Lung Cancer

独自開発した新規がんペプチドワクチンの臨床応用によるがん年齢世代の生活の質(QOL)を維持した健康寿命の延長と日本発の革新的な医薬品の研究開発をめざしています。

GMPペプチド製剤を用いて非小細胞肺がんを対象にICH-GCPに準拠したPMDA承認下の多施設共同医師主導型治験等を進めています。本研究における次相試験の立案と迅速な実施により、創薬期間の大幅な短縮が期待されます。

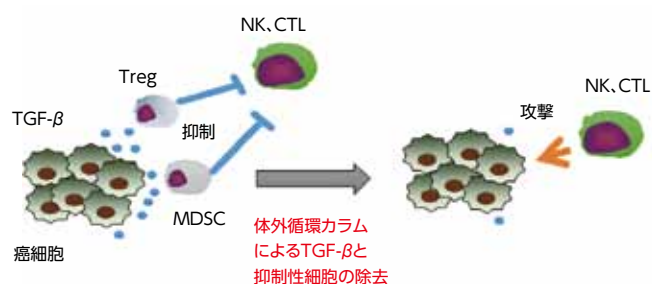
We aim to extend the healthy life expectancy with maintaining the good quality of life of cancer age generation, through the development of innovative medicines from Japan by clinical application of originally developed cancer peptide vaccine therapy. We are conducting an ICH-GCP-based multicenter investigator initiated clinical trial that is approved by PMDA using GMP-grade peptide for non-small cell lung cancer. By designing the next phase trial using the information of this study, a significant reduction of drug discovery period is expected.



## 免疫細胞抑制物質および免疫細胞を吸着する治療用カラムの開発

Development of a column for adsorbing immunosuppressive cytokine and cell

がん細胞は免疫を抑制するTGF- $\beta$ の分泌、Treg (制御性T細胞) やMDSC (骨髄由来抑制細胞) の誘導により、NK細胞やキラー細胞(CTL)のがん細胞攻撃を妨げます。そこで、がん患者さんの末梢血からTGF- $\beta$ などの免疫抑制物質やTregおよび MDSCを吸着して取り除くことのできる血液透析カラムを開発しています。カラムを通過したがんを攻撃する免疫細胞のみを体内に戻すことにより、がんを治療できると考えています。



Cancer cells produce an immunosuppressive cytokine, TGF- $\beta$ , and induction of Treg cells and MDSCs, resulting that NK cells and CTLs against cancer cells are inhibited. Therefore, we are going to establish a column adsorbing TGF- $\beta$  and Treg cells and MDSCs in the peripheral blood of cancer patients. The Immune cells through the column will be enhanced anti-cancer activity by depleting immunosuppression.

## 科学研究費採択件数と金額の推移

Research funding from the Grants-in-Aid for Scientific Research

年度	平成21年度 (FY2009)	平成22年度 (FY2010)	平成23年度 (FY2011)	平成24年度 (FY2012)	平成25年度 (FY2013)	平成26年度 (FY2014)
申請件数	303	336	338	305	313	331
採択件数	97	127	155	151	152	147
採択率	32%	38%	46%	50%	49%	44%
採択金額(千円)	214,726	268,312	355,215	332,128	345,305	327,579

