

レビー小体病の早期予測と鑑別技術の開発戦略

川畠 伊知郎, 武田 篤, 福永 浩司

超高齢化社会の到来により加齢性神経疾患の克服と健康寿命の延伸が喫緊の課題である。アルツハイマー型認知症やレビー小体型認知症、パーキンソン病に代表される神経変性疾患では原因タンパク質が脳内に蓄積し、神経細胞内の凝集体が病理学的特徴として知られる。アミロイド β や α シヌクレインなどの原因タンパク質の蓄積が始まる初期では認知症状や運動障害等の臨床症状は認められず、蓄積の経過とともに脳炎症が始まる。その後、神経細胞死が進み臨床症状が発症してから初めて認知症やパーキンソン病であることを自覚する。そのため、神経変性の早期予測と疾患修飾薬を組み合わせた発症前の根本的予防法が期待される。私たちはこれまでに、 Ca^{2+} /カルモジュリン依存性キナーゼII (CaMKII) /プロテアソーム系に着目したアミロイド β の分解促進や、脂肪酸結合タンパク質 (FABP) /長鎖型ドパミンD2 (D_{2L}) 受容体に着目した α シヌクレインの伝播・取込み機序を標的とした神経変性疾患の低分子・中分子治療薬の開発を行ってきた。またFABPノックアウトマウスの解析から、FABPが神経変性過程において発現が増強され、ミトコンドリア障害と神経細胞死に関与することを見出した。そこで本稿ではこれらの知見に基づき、神経変性におけるFABPファミリータンパク質の生理的意義に着目しながら、神経変性疾患を予測可能な血漿バイオマーカーの解析と各疾患を区別するための鑑別方法について紹介し、新しい神経変性疾患の超早期予測の可能性について議論したい。

キーワード：レビー小体病, α シヌクレイン, 脂肪酸結合タンパク質, バイオマーカー, 早期診断技術

1. はじめに

超高齢化社会を迎えるにあたり、認知症やパーキンソン病に代表される神経変性疾患の予防と健康寿命の延伸が喫緊の課題である。日本の高齢化率は非常に高く、令和3年時点における65歳以上の人口の割合（高齢化率）は28.9%となり過去最高を記録している。また令和2年時点で、男性の平均寿命は約81.4歳、女性の平均寿命は約87.7歳となり、世界でも最も高い水準にある。高齢化や高度な少子化により労働力人口が減り続ける一方、社会保障制度については年金や医療、介護などを合わせた給付費が高齢者人口の増加に伴って増大し、高齢者1人を支える労働力人口の人数は1960年に11.2人、1980年が7.4人、2014年は2.4人となっており、2060年には高齢者1人に対して生産年齢人口約1人で支えることになる。難治性の加齢性神経疾患である認知症やパーキンソン病では、認知・運動障害などの臨床症状が現れてから初めて気付き、来院による診断をきっかけに治療が始まるところから、進行が早い場合やすでに進行後の治療開始において、その治療効果が限られる問題点があった（図1）。私たちはこれまでに脂肪酸結合タンパク

質 (FABP) が病因タンパク質の伝播に関与し、神経変性過程において発現が上昇すること、ミトコンドリア機能障害に関与することを明らかにしてきた^{1,2)}。そこで本稿では、神経変性におけるFABPファミリータンパク質の生理的意義に着目しながら、神経変性疾患を予測可能な血漿バイオマーカーの解析と各疾患を区別するための鑑別方法について紹介し、新しい神経変性疾患の超早期予測の可能性について議論する。

2. レビー小体病における3型脂肪酸結合タンパク質 (FABP3) の生理的意義

FABPは分子量約15 kDaのタンパク質で、水に不溶な多価不飽和脂肪酸を可溶化する細胞内キャリアーであり、リガンドである脂肪酸の細胞内動態を制御し、脂質代謝の恒常性維持やシグナル伝達に関与する。FABPには現在12のサブタイプが知られており、特性として最初に発見された組織部位に基づき命名された（表1）。代表的な組織分布に示すとおり、体内的様々な組織に分布している。このうちFABP3はレビー小体病の原因タンパク質である α シヌクレインと1:1で結合し³⁾、神経変性過程においてその凝集体形



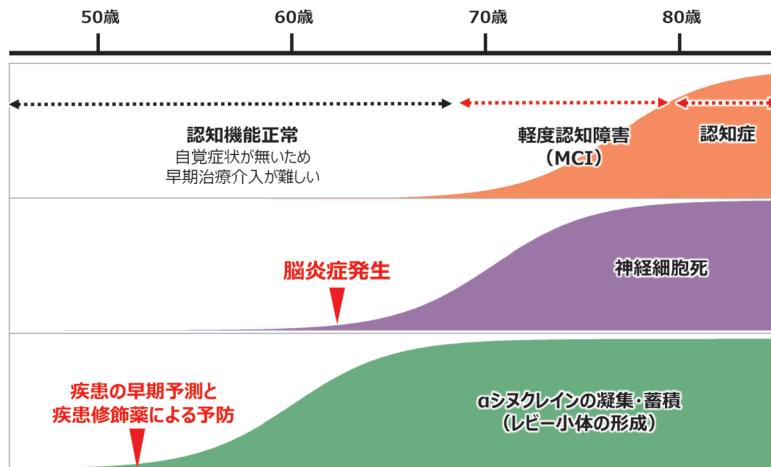


図1 レビー小体病における原因タンパク質の蓄積と発症までの時間経過

原因タンパク質の蓄積が始まる初期では認知症状は認められない。脳炎症発生後には神経細胞死が進み、発症してから初めて認知症であることを自覚する。そのため、疾患の早期予測と根本的の予防法を組み合わせた発症前の根本治療が期待される。>オンライン版カラー

表1 脂肪酸結合タンパク質 (FABP) のサブタイプと主な分布

サブタイプ	特性	代表的な組織分布
FABP1 (L-FABP)	肝臓型	肝臓、腎臓、小腸
FABP2 (I-FABP)	腸管型	小腸、大腸
FABP3 (H-FABP)	心臓型	心筋、骨格筋、神経系（神経細胞）
FABP4 (A-FABP)	脂肪細胞型	脂肪組織、マクロファージ
FABP5 (E-FABP)	表皮型	皮膚、角膜、乳腺、神経細胞
FABP6 (I-BABP)	胆汁酸結合型	小腸、胆嚢
FABP7 (B-FABP)	脳型	神経系（神経幹細胞、グリア細胞）
FABP8 (M-FABP)	粘膜型	消化管粘膜
FABP9 (T-FABP)	精巣型	精巣
FABP10 (Lb-FABP)	肝臓基底型	肝臓（肝細胞基底部）
FABP11 (F-FABP)	線維芽細胞型	線維芽細胞
FABP12 (MI-FABP)	髄鞘型	髄鞘

成を促進する⁴⁾。また FABP3 は長鎖型ドパミン D2 受容体 (D_{2L}) と結合し、その介在により α シヌクレインの細胞内取り込みに関与する⁵⁾。ミトコンドリアの電子伝達系を阻害し、酸化ストレスによる細胞死を誘発する神経毒 1-メチル-4-フェニルピリジニウム (MPP⁺) 処置下において、ノックアウトマウスによる FABP3 非存在下ではミトコンドリア機能障害は起こらない⁴⁾。FABP3 は神経変性過程において発現レベルが増加し、 α シヌクレインの脳内伝播^{6,7)}やドパミン生合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素の分解に必須である⁸⁾。そこで FABP3 標的薬を創製し、FABP3 選択的な低分子化合物およびペプチドをレビー小体病モデルマウスに投薬すると、 α シヌクレインの取り込みと凝集体形成を抑制し、パーキンソン病やレビー小体型認知症モデルにおける運動機能や記憶学習機能の回復をもたらす^{6,9,10)}。FABP3 はまたパーキンソン病剖検組織においてレビー小体

に含まる¹¹⁾。これらの結果から、FABP3 がレビー小体病に特徴的な病態に関与することが示唆される。

3. 5型脂肪酸結合タンパク質 (FABP5) と虚血性脳機能障害

5型脂肪酸結合タンパク質 (FABP5) は、FABP3 と同様、細胞内における脂肪酸の運搬を担うタンパク質であり、主に皮膚、乳腺、前立腺、卵巣などの組織に発現している。FABP5 は脂肪酸代謝のほかシグナル伝達に関与し、細胞分化や増殖の制御に関与する。FABP5 は皮膚の角化やバリア機能の制御に関与する一方、乳腺がんや前立腺がんなどのがん細胞の増殖や浸潤の促進、卵巣での卵胞成熟や排卵に関与することが知られ、様々な生理機能を有する。私たちは最近、FABP5 が脳炎症過程において神経細胞にも発現が認められ、神経変性に関与することを見出した。ミトコン

ドリア呼吸鎖複合体Iの阻害薬であるロテノン存在下、酸化ストレスによって誘発される α シヌクレインの凝集とミトコンドリア障害との相互作用解析から、FABP5が酸化ストレスによって誘発される α シヌクレインのオリゴマー化・凝集形成とミトコンドリアへの局在化に関与することを見出した¹²⁾。また虚血性脳炎症モデルマウスにおけるFABP5の生理的役割を解析した結果、一過性脳虚血によりFABP5の発現レベルが上昇し、FABP5阻害薬の処置によりFABP5の低下と炎症関連物質であるプロスタグランジンE2の産生を抑制した^{13,14)}。これらの結果から、脳炎症にともなうミトコンドリア障害と神経機能消失におけるFABP5の生理機能が明らかとなった。

4. アストロサイトにおける7型脂肪酸結合タンパク質(FABP7)の生理的意義

7型脂肪酸結合タンパク質(FABP7)も他のFABPと同様、多価不飽和脂肪酸の細胞内キャリアであり、特にn-3系脂肪酸に高い親和性を示し、胎生期および出生直後の脳に強い発現が認められる。FABP7は小脳のバーグマングリア細胞や、脊髄・大脳皮質の放射状グリア細胞に高発現し、大脳皮質や小脳の神経細胞移動に関与すると考えられる。FABP7は様々な神経精神疾患、特に統合失調症の病態との関連が示唆され、FABP7 mRNAレベルが統合失調症患者の死後脳で非患者と比較して有意に上昇することが知られる。神経系以外では、乳がんや悪性膠芽腫などのがん細胞での発現や増殖・浸潤制御に関与し、FABP7は脂肪酸を介した神経可塑性やがん進展の調節分子と考えられている。私たちは新たに、レビー小体病におけるFABP7の生理的意義に着目した結果、オリゴデンドロサイトにおいてアラキド酸依存的な α シヌクレインの凝集体形成にFABP7が必須であることを明らかにした。FABP7リガンドにより α シヌクレインとFABP7の相互作用を阻害すると、サイコシン処置による α シヌクレインのオリゴマー化と凝集、神経細胞死が抑制されることを示した¹⁵⁾。さらに最近、オリゴデンドロサイトとブルキンエ細胞に発現するエンドサイトーシス関連タンパク質epsin-2が、クラスリン依存性エンドサイ

トーシスを介し、FABP7依存的なオリゴデンドロサイトへの α シヌクレインの取り込み・伝播を制御することを見出した¹⁶⁾。これらの結果から、FABP7が多系統萎縮症を含むレビー小体病においてその病態発現に関与する可能性が示唆される。

5. 脂肪酸結合タンパク質のバイオマーカーとしての有用性と疾患鑑別への応用

私たちはこれまでに様々な疾患修飾薬を創出し、その薬理作用を明らかにしてきた。前述のとおり、認知症やパーキンソン病は発症後に診断されることが多い、病気が進行してからの治療効果には限界がある。この点、治療には対象患者のスクリーニングが不可欠であり、発症前の早期治療介入が望まれる。そこで、レビー小体病の病態解明において発症への関与が示唆されるFABPファミリータンパク質に着目し、国立病院機構仙台西多賀病院において収集されたヒト臨床検体を用いたバイオマーカー解析を実施した(ヒト倫理委員会、東北大学薬倫19-5、仙台西多賀病院29-10承認)。具体的に、病態を検出する定量的バイオマーカーを開発するために、軽度認知障害、アルツハイマー病、パーキンソン病、レビー小体型認知症の患者600人の血漿を、高感度ELISAシステムSIMOAを用いて測定した。その結果、血漿中FABP3濃度は各疾患で上昇していた。一方、血漿中FABP5は各疾患で特徴的に減少した。さらにその他のFABPファミリータンパク質および既知のバイオマーカー群において、血漿中濃度に疾患特異的な差異が観察された。これらの測定結果について、数万通りの中から最適な組み合わせを選別し数値化することで(特許WO/2022/163818)、単一バイオマーカーと比較し飛躍的に精度の高いスコアとして各疾患と健常者を識別することが可能となった(図2)。現在、各疾患における血漿中FABPファミリータンパク質の特徴的变化について、その生理的意義を検討している。また鑑別可能な対象疾患を広げ、早期治療介入に不可欠な様々な神経変性疾患の定量的予測技術を改良中である。

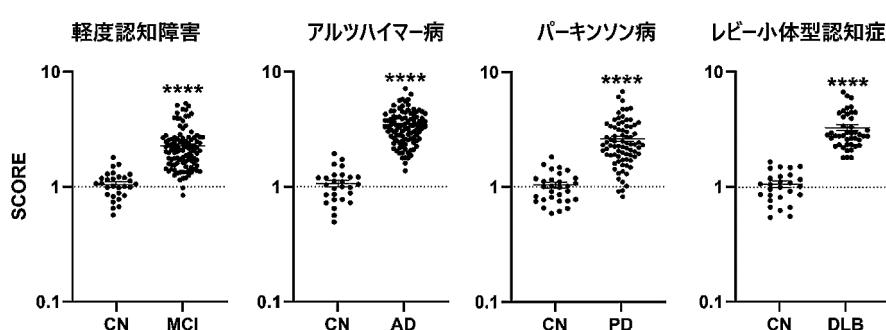


図2 血漿中の脂肪酸結合タンパク質レベルの変化に着目した新たなバイオマーカーとその定量的予測技術

特許WO/2022/163818に基づき各疾患における最適なバイオマーカーを数値化し、健常者または各疾患群で比較が可能である。臨床症状からは診断がつきにくい患者の疾患鑑別が期待される。CN: 健常者比較群、MCI: 軽度認知機能障害、AD: アルツハイマー病、PD: パーキンソン病、DLB: レビー小体型認知症。CN, n = 30; MCI, n = 106; AD, n = 102; PD, n = 85; DLB, n = 47. ***P < 0.0001 vs. health control (CN) (Welch's t-test).

6. おわりに

近年、認知症のバイオマーカー開発が大きく進んでいる。特に、アルツハイマー病の早期診断や病態進展の診断に有用な臨床的、画像診断的、および生化学的バイオマーカーを確立することを目的に、世界的な進展が期待され、髄液中のアミロイド β 42 やタウタンパク質、およびアミロイド陽電子放射断層撮影（PET）がアルツハイマー病の病態における最も早い段階を検出するバイオマーカー候補と考えられている。また血液バイオマーカーにおいては、血漿中のアミロイド β 1-42／アミロイド β 1-40 比率を測定することで、アミロイド PET 画像と高い相関性を示すことが確認されている。これまで大規模な設備とコストが課題であったが、血液バイオマーカーによる認知症の診断法が開発され、低侵襲で簡便かつ迅速に脳内アミロイド β の蓄積状態を把握できるようになりつつある。私たちは新たに FABP ファミリータンパク質に着目したレビー小体病のバイオマーカー解析により、アルツハイマー病、パーキンソン病、レビー小体型認知症を健常者から識別し、各疾患を鑑別可能な基礎技術を確立した。私たちはまた、現在レビー小体病

の新規治療薬候補化合物の前臨床試験を実施中である。前述のアルツハイマー病の予測技術と合わせ、疾患修飾薬の対象患者を発症前にスクリーニングすることで早期治療介入を実現し、健康寿命延伸による持続可能な長寿社会の発展に今後も貢献してまいりたい。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Kawahata I, et al. *J Pharmacol Sci.* 2022;148:248-254.
- 2) 川畠伊知郎, 他. *日薬理誌.* 2022;157:401-404.
- 3) Fukui N, et al. *J Biol Chem.* 2021;100663.
- 4) Kawahata I, et al. *Int J Mol Sci.* 2019;20:5358.
- 5) Kawahata I, et al. *Biomedicines.* 2021;9:49.
- 6) Yabuki Y, et al. *Int J Mol Sci.* 2020;21:2230.
- 7) Matsuo K, et al. *Brain Res.* 2021;147383.
- 8) Kawahata I, et al. *Int J Mol Sci.* 2020;21:3779.
- 9) Wang H, et al. *J Pharmacol Sci.* 2023;152:30-38.
- 10) Guo Q, et al. *CNS Neurosci Ther.* 2023;29:1547-1560.
- 11) Oizumi H, et al. *Front Aging Neurosci.* 2021;13:648982.
- 12) Wang Y, et al. *Biomedicines.* 2021;9:110.
- 13) Guo Q, et al. *Redox Biol.* 2023;59:102547.
- 14) Guo Q, et al. *Biomedicines.* 2021;9:529.
- 15) Cheng A, et al. *Acta Pharmacol Sin.* 2021.
- 16) Cheng A, et al. *Brain.* 2023;146:3172-3180.

Development of early prediction and discriminating techniques for Lewy body diseases

Ichiro Kawahata, Atsushi Takeda, Kohji Fukunaga

Department of CNS Drug Innovation, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

Abstract. The advent of a super-aged society poses urgent challenges in overcoming age-related neurological disorders and extending a healthy lifespan. Neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies, and Parkinson's disease are characterized by the accumulation of pathogenic proteins in the brain, leading to the formation of intracellular aggregates known as pathological hallmarks. In the early stages of protein accumulation, before the onset of clinical symptoms such as cognitive impairment or motor dysfunction, brain inflammation begins to occur. Subsequently, neuronal death progresses, and clinical symptoms manifest as dementia or Parkinson's disease. Therefore, there is a need for early prediction of neurodegeneration and the development of disease-modifying drugs for pre-symptomatic prevention. To address this issue, we have focused on enhancing the degradation of amyloid- β protein by targeting Ca^{2+} /calmodulin-dependent kinase II (CaMKII)/proteasome system and on suppressing the propagation and uptake mechanisms of α -synuclein by targeting fatty acid-binding proteins (FABPs) coupled with the long isoform of dopamine D2 (D_{2L}) receptor. Additionally, our analysis of FABP knockout mice has revealed an increased expression of FABPs in the neurodegenerative process, suggesting their involvement in mitochondrial dysfunction and neuronal death. Based on these findings, this article highlights the physiological significance of FABP family proteins in neurodegeneration and discusses the analysis of plasma biomarkers for predicting neurodegenerative disorders and the discriminatory methods for distinguishing between Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies, and Parkinson's disease. Furthermore, we explore the potential of ultra-early prediction of neurodegenerative disorders.