

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K15887

研究課題名(和文)アルツハイマー病のミトコンドリア障害におけるGDF15の意義および臨床応用

研究課題名(英文)Significance and clinical application of GDF15 in mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease

研究代表者

辻 浩史(Tsuji, Hiroshi)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：40633970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア機能を反映するGDF15(Growth/differentiation factor 15) 分泌性蛋白の生体試料での動態を解明することが、アルツハイマー型認知症のミトコンドリア機能異常を明らかにできると考えた。まずは多発性硬化症(MS)と中枢神経系リンパ腫(CNS lymphoma)、神経膠腫において髄液中のGDF15値を測定し比較した。MS、CNS lymphoma、神経膠腫の髄液GDF15値は、MSと比較し、CNS lymphoma、神経膠腫では有意に上昇していた。GDF15が臨床応用できることが明らかになり、アルツハイマー型認知症などの神経変性疾患にも利用できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー型認知症は、高齢化社会と共に罹患者数が増加傾向にあり、社会問題となっている。アルツハイマー病の原因にアミロイド蛋白が、疾患感受性遺伝子にアポリポ蛋白Eのアイソフォームが関わってくる。これらの蛋白は神経細胞内の酸化ストレスに影響され、その細胞内の酸化を担うのがミトコンドリアである。最近、ミトコンドリア機能異常がアルツハイマー病の発症と関係があることが報告されており、またミトコンドリア機能を反映するのが、GDF15という分泌性蛋白である。本研究ではGDF15を髄液で測定できることが明らかとなり、臨床応用が可能となった。

研究成果の概要(英文)：A secreted protein called GDF15 (Growth/differentiation factor 15) reflects mitochondrial function. Elucidating the dynamics of GDF15 in biological samples may clarify AD and mitochondrial dysfunction. We, therefore, measured and compared GDF15 levels in cerebrospinal fluid in multiple sclerosis (MS), central nervous system lymphoma (CNS lymphoma), and glioma. The cerebrospinal fluid GDF15 values of 9 patients with multiple sclerosis, 6 patients with CNS lymphoma, and 3 patients with glioblastoma were  $320.4 \pm 246.5$  pg/ml,  $419.5 \pm 237.6$  pg/ml, and  $471.0 \pm 237.6$  pg/ml, respectively. The values were significantly higher in CNS lymphoma and glioma compared with MS ( $P = 0.009$ ,  $P = 0.037$ ). Based on the above results, GDF15 is useful in distinguishing between MS and malignant diseases of the central nervous system. These results show that GDF15 can be measured in clinical samples and used for neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease.

研究分野：神経内科

キーワード：GDF15

## 1. 研究開始当初の背景

### 研究の学術的背景

アルツハイマー型認知症(AD)は認知症の原因疾患の中でも最も頻度が高く、高齢社会に伴い本邦での患者数は増加傾向で社会問題となっている。ADは緩徐に脳内の神経細胞が減少していく神経変性疾患であり、根本治療薬は未だ有効のものはない。AD脳の神経病理学的な特徴として、神経原線維変化や老人斑があげられる。この老人斑はAD疾患特異的な病理変化であり、構成する蛋白質がA $\beta$ である。A $\beta$ によるAD発症の関与については病理所見だけではなく、A $\beta$ のオリゴマーが神経毒性を有することがin vitro, in vivoで明らかにされていること、A $\beta$ 前駆体(amyloid precursor protein: APP)の遺伝子変異による家族性ADの報告などにより、A $\beta$ は重要なAD病因関連分子と位置付けられている。このためA $\beta$ の神経障害の生化学的メカニズムを解明することが、ADの発症機構を解明し、根本治療を開発する上で極めて本質的な意義を有する。一方、ADの遺伝的な危険因子として、コレステロール代謝に関与するAPOEの対立遺伝子 $\epsilon$ 4が明らかになっている。APOEには3つのアイソフォーム(APOE2, APOE3, APOE4)があり、それぞれ3つの対立遺伝子( $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3,  $\epsilon$ 4)の遺伝子産物である。ADとの関係については対立遺伝子 $\epsilon$ 4の保因者AD頻度が高く、 $\epsilon$ 4がホモなほど発症年齢が低下することが分かっている。これまで酸化ストレスによりADが発症すると考え、A $\beta$ やAPOE4との関係について研究を行ってきた。その結果、クリサミンGの抗酸化作用によってA $\beta$ の神経細胞毒性を防御することを明らかにし(Neurosci Lett. 15; 333: 5-8, 2002)、APOE4については、APOE3よりも抗酸化作用が弱いことによって酸化ストレスに対する脆弱をきたすことを報告した(Neurology 54: 2319-2321, 2000)。さらに家族性ADの原因遺伝子の一つであるpresenilin 1の産生や活性が酸化ストレスで亢進することも明らかにしている(J Neurosci Res 85:1137-1145, 2010)。これらの知見とA $\beta$ がフリーラジカルを生じること、酸化刺激により細胞内のA $\beta$ が増加すること、A $\beta$ オリゴマーがミトコンドリア障害作用を有することなどの報告がある。以上より研究代表者は、ADの病態において酸化ストレスは重要であること、酸化ストレスが契機となって脳内にA $\beta$ が蓄積し、それがさらにA $\beta$ オリゴマーを介して酸化ストレスの促進につながるとともに、A $\beta$ の凝集が促進されて神経細胞死が惹起されていく悪循環を形成する病態カスケードを想定している。またAPOE4も何らかの作用によって酸化ストレスを促進することによりADの病態を悪化させるものと推定している。

細胞内の酸化還元に関わる必要な器官はミトコンドリアであるが、既にAD脳におけるミトコンドリアの形態異常や機能異常が先行研究で報告されている。最近、A $\beta$ オリゴマーがミトコンドリアを障害することやADの遺伝的マーカーとしてミトコンドリアの膜蛋白であるTOMM40の同定の報告がある。A $\beta$ がミトコンドリア蛋白であるA $\beta$  binding alcohol dehydrogenase(ABAD)と結合し、アルデヒド解毒作用を抑制することも知られている。APOEに関しては、 $\epsilon$ 4キャリアのADでは認知機能障害とミトコンドリア障害が相関すること、APOE4断片がミトコンドリア蛋白と結合し機能を障害すること、 $\epsilon$ 4の保因者はミトコンドリアのチトクロームオキシダーゼ活性が低下していることなどが報告されている。このような報告はADにおけるミトコンドリアと酸化ストレスとの間の密接な関係を示唆するものである。

ミトコンドリアが直接障害される代表的な疾患としてミトコンドリア病が挙げられる。ミトコンドリア病はミトコンドリアDNA変異で発症し、認知機能障害などの中枢神経症状を始め、他臓器が障害される疾患である。研究代表者の研究グループでは、GDF15がミトコンドリア病の血清中で増加していることを発見し(Ann Neurol. 78: 814-823, 2015)、ミトコンドリア病の診断アルゴリズムに記載されるようになった。GDF15はもともと胎盤で発見された成長因子で、損傷した組織や疾患の進行中において、炎症やアポトーシスを調節する機能をもつTGF $\beta$ スーパーファミリーに属する分泌蛋白質である。さらにGDF15はミトコンドリア病だけではなく、大規模高齢者コホート研究で血清GDF15濃度の上昇が死亡の予測因子であることが明らかになり、ミトコンドリア機能異常が高齢者の負のアウトカムと推測されている。GDF15はミトコンドリア障害を直接反映するマーカーとなり、ミトコンドリア機能異常が推定されるADにおいても関係があると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では新たに見出されたGDF15に注目し、AD発症の病因関連分子であるA $\beta$ やAPOE4とミトコンドリア障害との関係を解明する。またGDF15がミトコンドリア障害の観点からADの病勢を反映するバイオマーカーとなりえるか臨床検体を用いて検討した。本研究によりミトコンドリア障害がADの病態において重要な意義を有することが明らかになれば、ADの疾患制御薬として抗酸化薬やミトコンドリア保護薬の開発につながると考えられる。さらにGDF15をADにおけるミトコンドリア障害のバイオマーカーとして臨床応用が可能となることで、ADの診断や重症度を評価するだけではなく、今後開発される治療候補薬の臨床効果の指標として利用出来る。

### 3. 研究の方法

GDF15 を臨床検体で測定可能かを検討するために、多発性硬化症 9 名と中枢神経系リンパ腫 6 名、神経膠芽腫 3 名の髄液検体を用いて GDF15 値を測定した。

### 4. 研究成果

多発性硬化症 9 名と中枢神経系リンパ腫 6 名、神経膠芽腫 3 名の髄液 GDF15 値は、それぞれ  $320.4 \pm 246.5$  pg/ml,  $419.5 \pm 237.6$  pg/ml,  $471.0 \pm 237.6$  pg/ml であり、多発性硬化症例と比較し、中枢神経系リンパ腫、神経膠腫では有意に上昇していた ( $P = 0.009$ ,  $P = 0.037$ )。本結果から、GDF-15 は、臨床的に鑑別が困難である MS と中枢神経系の悪性疾患の鑑別に有用であった。このように GDF15 の測定が臨床検体できることが明らかになり、アルツハイマー型認知症などの神経変性疾患にも利用できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tsuji Hiroshi, Ouchi Shogo, Okune Sho, Yamazaki Daichi, Hayakawa Mikito, Sato Masayuki, Masuda Yosuke, Hosaka Ai, Tamaoka Akira	4. 巻 20
2. 論文標題 Superficial siderosis of the central nervous system despite successful treatment of cerebral arteriovenous malformation: A case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Interdisciplinary Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 100671 ~ 100671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.inat.2020.100671	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ishii Akiko, Yokoyama Minato, Tsuji Hiroshi, Fujii Yasuhisa, Tamaoka Akira	4. 巻 19
2. 論文標題 Pembrolizumab treatment of metastatic urothelial cancer without exacerbating myasthenia gravis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eNeurological Sci	6. 最初と最後の頁 100236 ~ 100236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ensci.2020.100236	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nohara Seitaro, Ishii Akiko, Yamamoto Fumiko, Yanagiha Kumi, Moriyama Tetsuya, Tozaka Naoki, Miyake Zenshi, Yatsuga Shuichi, Koga Yasutoshi, Hosaka Takashi, Terada Makoto, Yamaguchi Tetsuto, Aizawa Satoshi, Mamada Naomi, Tsuji Hiroshi, Tomidokoro Yasushi, Nakamagoe Kiyotaka, et al.	4. 巻 405
2. 論文標題 GDF-15, a mitochondrial disease biomarker, is associated with the severity of multiple sclerosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 116429 ~ 116429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2019.116429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nohara Seitaro, Tsuji Hiroshi, Tamaoka Akira	4. 巻 64
2. 論文標題 Alien leg phenomenon in corticobasal syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 254 ~ 255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jocn.2019.03.053	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuji Hiroshi, Ayako Shioya, Takayashiki Norio, Irie Toshiyuki, Itoi Satoshi, Kodama Taisuke, Kaji Yuki, Matsuoka Ryota, Mashiko Ryota, Shibata Yasushi, Ishii Akiko, Siato Yuko, Tamaoka Akira	4. 巻 14
2. 論文標題 Meningeal carcinomatosis presenting with leukoencephalopathy-like imaging findings	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eNeurologicalSci	6. 最初と最後の頁 21~23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ensci.2018.11.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kato M, Chino Y, Sato R, Kinoshita K, Tsuji H, Tokuda Y, Tamaoka A, Sumida T.	4. 巻 20
2. 論文標題 Lateral medullary infarction in a patient with central nervous system lupus.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Rheum Dis.	6. 最初と最後の頁 1808-1811
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1756-185X.12610	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 辻 浩史
2. 発表標題 多発性硬化症と中枢神経腫瘍性疾患の鑑別における髄液中プログランニューリン の検討
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石井 亜紀子, 山本 詞子, 野原 誠太郎, 柳葉 久実, 森山 哲也, 遠坂 直希, 三宅 善嗣, 八ツ賀 秀一, 古賀 靖敬, 保坂 孝史, 寺田 真, 山口 哲人, 相澤 哲史, 儘田 直美, 辻 浩史, 富所 康志, 中馬越 清隆, 石井 一弘, 渡邊 雅彦, 玉岡 晃
2. 発表標題 辺縁系脳炎におけるGDF15およびFGF21の検討
3. 学会等名 WCN2017: XXIII World Congress of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野原 誠太郎, 石井 亜紀子, 山本 詞子, 遠坂 直希, 三宅 善嗣, 森山 哲也, 柳葉 久実, 保坂 孝史, 寺田 真, 山口 哲人, 儘田 直美, 辻 浩史, 富所 康志, 中馬越 清隆, 石井 一弘, 渡邊 雅彦, 八ツ賀 秀一, 古賀 靖敏, 玉岡 晃
2. 発表標題 多発性硬化症/視神経脊髄炎におけるGDF-15、FGF-21の検討
3. 学会等名 WCN2017: XXIII World Congress of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------