



# 神経変性疾患研究用の 抗体ベースのツール

# 目次

<b>1</b>	イントロダクション	1-1 – 1-4
----------	-----------	-----------

---

<b>2</b>	神経変性疾患における共通のテーマ	2-1 – 2-13
----------	------------------	------------

---

<b>3</b>	アルツハイマー病への取り組み	3-1 – 3-21
----------	----------------	------------

---

<b>4</b>	他の主要な神経変性疾患	4-1 – 4-18
----------	-------------	------------

---

<b>5</b>	付録	5-1 – 5-5
----------	----	-----------

---

# 神経変性疾患 概論

# 1

## イントロダクション

神経変性とは、細胞の構造および機能の損失をきたしているニューロンを指す一般的用語です。<sup>1</sup> 神経変性疾患の最も一般的な例としては、アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD)、ハンチントン病、および筋委縮性側索硬化症 (ALS) が挙げられます。神経変性疾患 (ND) は消耗性疾患で、全世界の罹患者数は急増し続けています。<sup>2,3</sup> 最新の治療法は、疾患の初期段階に破壊される特定のニューロンおよびシグナル伝達系をターゲットとしています。

その例として、ADにおいてレベルが上昇するアセチルコリンに対するアセチルコリンエステラーゼ阻害剤や、PDに対するドーパミン作動薬があります。現在の治療法は、よくても症状を軽減するだけで、根本的な病状に対処したり、疾患経過を有意に緩和あるいは遅延させることはありません。そのため、神経の保護および再生につながる新しい治療法の開発が急務とされています。例えば、ヒト胚性幹細胞 (ESC) や人工多能性細胞 (iPSC) をベースとするような細胞置換療法が、様々なNDの治療を成功させる可能性があります。また、神経炎症は神経変性障害の生理病理学に基本的に関与しているため、神経炎症反応を調節する戦略が新しい治療の選択肢となる可能性があります。<sup>3,4</sup>

本ハンドブックは、神経変性疾患概論を提供し、新規および新興の技術ならびにさらなる神経科学研究を可能とする抗体ベースのツールに関する情報を紹介することを目的としています。



## 目次

神経変性疾患概論	1-1
抗体：神経変性疾患研究のための強力なツール	1-3
リファレンス	1-4

# 神経変性疾患 概論

# 1

## 一般統計学

全世界で数百万人が何らかのNDに罹患しています。<sup>5</sup> ADおよびPDの罹患率が最も高く、米国ではそれぞれ500万人以上および最大100万人が罹患しています(表1.1)。何らかの神経変性疾患を持つ患者の数は上昇し続けています。例えば、65歳以上のAD罹患率は、2050年までに3倍になることが予測されています。<sup>6-16</sup>

表1.1. 2015年の世界および米国内における神経変性疾患の罹患患者数

疾患	統計値
アルツハイマー病	全世界で 44 百万人 米国で 5.2 百万人
パーキンソン病	全世界で 7 ~ 10 百万人 米国で 最大百万人
ハンチントン病	欧州で 100,000 人中 10.6 ~ 13.7 万人 米国で 30,000 人
筋委縮性側索硬化症	全人口で 100,000 人中 6 人 米国で 20,000 人以上
多発性硬化症	全世界で 2.5 百万人 米国で 400,000 人

## リスクファクター

遺伝因子は、早期発症型、家族型および孤発型の神経系を侵す変性疾患に起因します。継承された単一遺伝子変異は優性または劣性形式で発現し、家族性NDの疾患発症の予測は可能であるのに対し、他の遺伝子変異では孤発性疾患が発現する傾向があります。例えば、 $\alpha$ -シヌクレインタンパク質をコードする遺伝子であるシヌクレイン $\alpha$  (アミロイド前駆体の非A4成分) (SNCA) における変異はPDに関与している一方、アミロイド $\beta$  (A $\beta$ ) 前駆体タンパク質 (APP) 遺伝子における多様な障害はADの様々な形態と関係しています。様々なNDに関連する遺伝子の代表例を表1.2に示します。複数の様々な遺伝的および環境的リスクファクターがNDの発症に関与しています(図1.1)。さらに、加齢も多くのNDの発症に関係する別のリスクファクターであり、恐らく環境因子への曝露の蓄積や細胞修復機構の機能低下によるものと考えられます。心血管疾患や頭部外傷による神経損傷などの症状も、AD発症リスクを上昇させます。一方、喫煙および特定の感染性病原体はMSのリスクを上昇させます。<sup>17-20</sup>

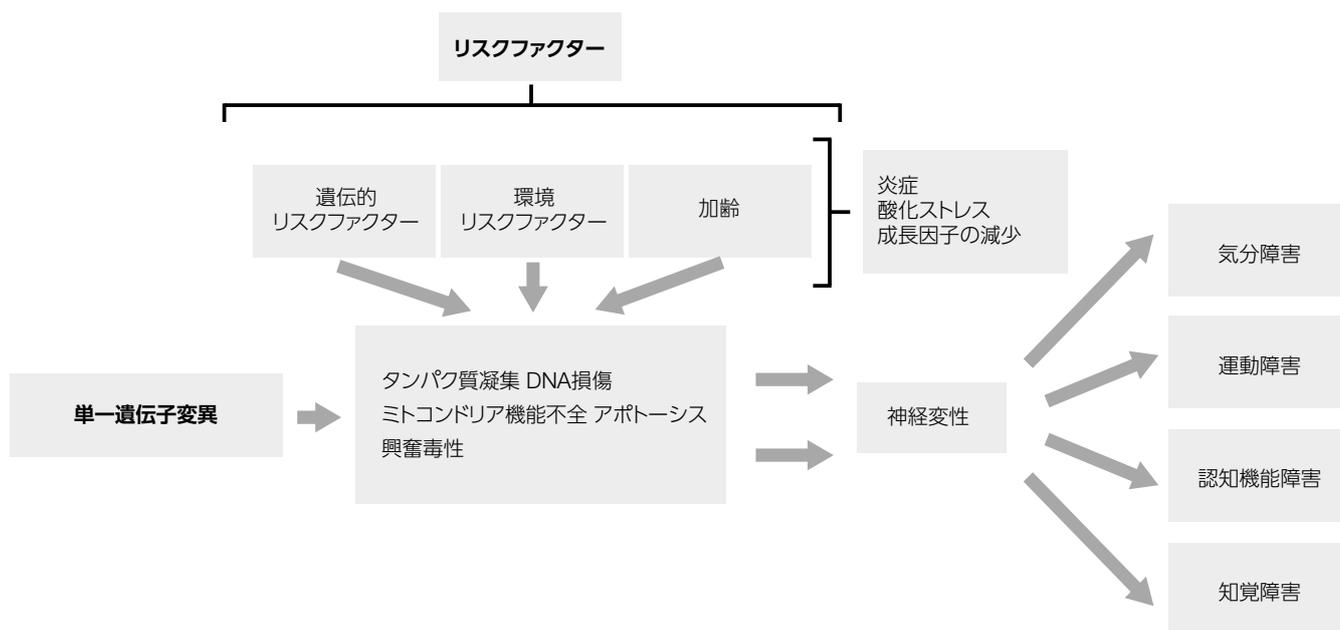
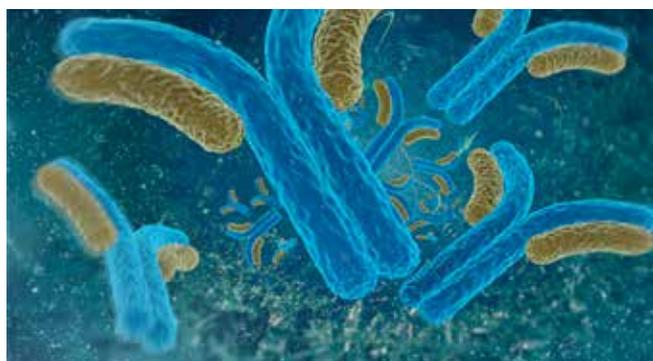


図1.1. 多くの神経変性疾患が共有するリスクファクターおよび疾患発症メカニズムの共通性

# 抗体：神経変性疾患研究のための強力なツール

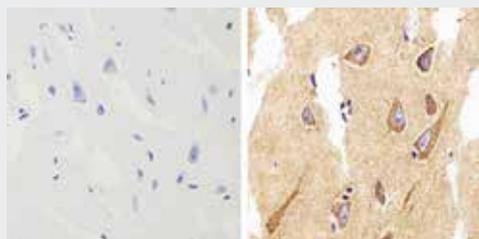
# 1



抗体は、免疫蛍光イメージング、免疫組織化学、ウェスタンブロットティング、ELISA、フローサイトメトリー、および他のアプリケーションを含む複数のアプリケーションで使用されています。当社の抗体が優れた実験結果の達成を可能とすることは世界中の多くの文献で実証されています。抗体検索ツールにアクセスし、目的の研究に適した抗体を見つけるためにはこちらをご覧ください。  
[www.thermofisher.com/neuroantibodies](http://www.thermofisher.com/neuroantibodies)

表1.2.ND関連の代表的な遺伝子および遺伝子製品

疾患	遺伝子シンボル	ターゲット	抗体製品番号	当社の抗体について言及している代表的な文献
AD	APP	アミロイド前駆体タンパク質	Amyloid Precursor Protein Monoclonal Antibody (mAb P2-1) <b>(OMA103132)</b>	Brodney MA, Barreiro G, Ogilvie K, et al. (2012) Spirocyclic sulfamides as $\beta$ -secretase 1 (BACE-1) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: utilization of structure based drug design, WaterMap, and CNS penetration studies to identify centrally efficacious inhibitors. <i>J Med Chem</i> 55(21):9224-9239.
	PS1	プレセニン1	Presenilin 1 Monoclonal Antibody (APS 18) <b>(MA1-752)</b>	Shimada IS, LeCompte MD, Granger JC, et al. (2012) Self-renewal and differentiation of reactive astrocyte-derived neural stem/progenitor cells isolated from the cortical peri-infarct area after stroke. <i>J Neurosci</i> 32(23):7926-7940.
	PS2	プレセニン2	Presenilin 2 Monoclonal Antibody (APS 26) <b>(MA1-754)</b>	Diehlmann A, Ida N, Weggen S, et al. (1999) Analysis of presenilin 1 and presenilin 2 expression and processing by newly developed monoclonal antibodies <i>J Neurosci Res</i> 56(4):405-419.
PD	SNCA	$\alpha$ -シヌクレイン	Alpha Synuclein Antibody (14H2L1), ABfinity™ Rabbit Monoclonal <b>(701085)</b>	Coelho-Cerqueira E, Carmo-Gonçalves P, Pinheiro AS, et al. (2013) $\alpha$ -Synuclein as an intrinsically disordered monomer--fact or artefact? <i>FEBS J</i> 280(19):4915-4927.
			SNCA Monoclonal Antibody (2B2D1, 2B2A11) <b>(MA5-15290)</b>	Sánchez-Danés A, Richaud-Patin Y, Carballo-Carbajal I, et al. (2012) Disease-specific phenotypes in dopamine neurons from human IPS-based models of genetic and sporadic Parkinson's disease. <i>EMBO Mol Med</i> 4(5):380-395.
ALS	SOD1	スーパーオキシドジスムターゼ1	Superoxide Dismutase 1 Polyclonal Antibody <b>(LF-PA0013)</b>	Chen X, Choi IY, Chang TS, et al. (2009) Pretreatment with interferon-gamma protects microglia from oxidative stress via up-regulation of Mn-SOD. <i>Free Radic Biol Med</i> 46(8):1204-1210.
HD	HD	ハンチンチン	Huntingtin/Htt Neoepitope 552 Polyclonal Antibody <b>(PA1-003)</b>	Leyva MJ, Degiacomo F, Kaltenbach LS, et al. (2010) Identification and evaluation of small molecule pan-caspase inhibitors in Huntington's disease models. <i>Chem Biol</i> 17(11):1189-1200.
			Huntingtin/Htt Neoepitope 513 Polyclonal Antibody <b>(PA1-002)</b>	Hermel E, Gafni J, Propp SS, et al. (2004) Specific caspase interactions and amplification are involved in selective neuronal vulnerability in Huntington's disease. <i>Cell Death Differ</i> 11(4):424-438.



シヌクレイン, $\alpha$  (アミロイド前駆体の非A4成分)、すなわちPD関連の特徴を持つオリゴマーを形成、凝集し、脳内で封入体を形成するタンパク質をコードするSNCA 遺伝子における複数の異なる変異。PDへの関与に加えて、 $\alpha$ -シヌクレインオリゴマーはレビー小体型認知症などのNDにも関与します。<sup>21</sup>

### Alpha-synuclein (14H2L1), Rabbit Monoclonal ABfinity™

Antibody.anti-alpha synuclein antibody (製品番号 701085) で処理したパラフィン包埋ヒト脳組織の免疫組織化学分析における細胞質の染色 (右) と一次抗体処理なしのネガティブコントロール (左) との比較

当社の全抗体製品、ELISA、およびLuminex™ assay kitsについてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

1. Przedborski S, Vila M, Jackson-Lewis V (2003) Neurodegeneration: what is it and where are we? *J Clin Invest* 111(1):3–10.
2. Davis M, Stroud C, eds (2013) *Neurodegeneration: Exploring Commonalities Across Diseases: Workshop Summary* USA: National Academy of Sciences. p4-15. [http://www.nap.edu/catalog.php?record\\_id=18341](http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=18341). Accessed September 2015.
3. Aoun S, McConigley R, Abernethy A Currow DC et al. (2010) Caregivers of people with neurodegenerative diseases: profile and unmet needs from a population-based survey in South Australia. *J Palliat Med* 13(6):653–661.
4. Amor S, Puentes F, Baker D et al. (2010) Inflammation in neurodegenerative diseases. *Immunology* 129(2):154–169.
5. Neurodegenerative Diseases. National Institute of Environmental Health Sciences. <https://www.niehs.nih.gov/research/supported/diseases/neurodegenerative/index.cfm>. Accessed July 2015.
6. Alzheimers.net 2015 Alzheimer's Statistics. <http://www.alzheimers.net/resources/alzheimers-statistics/>. Accessed July 2015.
7. Statistics on Parkinson's. Parkinson's Disease Foundation [http://www.pdf.org/en/parkinson\\_statistics](http://www.pdf.org/en/parkinson_statistics) Accessed July 2015.
8. Bates GP, Dorsey R, Gusella J, et al. (2015) Huntington Disease. *Nat Rev Dis Primers* 1:1–21.
9. Kinsley L, Siddique (2001) T Amyotrophic Lateral Sclerosis Overview. [Updated 2015 Feb 12]. In: *GeneReviews*<sup>TM</sup> [Internet]. Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH et al., editors. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2015.
10. Epidemiology of ALS and Suspected Clusters. ALS Association. <http://www.alsa.org/als-care/resources/publications-videos/factsheets/epidemiology.html>. Accessed July 2015.
11. Epidemiology of MS. MS International Federation. <http://www.msif.org/research/epidemiology-of-ms/>. Accessed July 2015.
12. Tullman MJ (2013) Overview of the epidemiology, diagnosis, and disease progression associated with multiple sclerosis. *Am J Manag Care* 2013;19(2 Suppl):S15–S20.
13. Facts You Should Know. ALS Association. <http://www.alsa.org/about-als/facts-you-should-know.html>. Accessed July 2015.
14. What is ALS/MND? International Alliance of ALS/MND Associations. <http://www.alsmndalliance.org/what-is-alsmnd/>. Accessed July 2015.
15. Huntington's Disease. Remedy's Health Communities.com. <http://www.healthcommunities.com/huntingtons-disease/overview-of-huntingtons.shtml>. Accessed July 2015.
16. 2015 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Alzheimer's Association. [https://www.alz.org/facts/downloads/facts\\_figures\\_2015.pdf](https://www.alz.org/facts/downloads/facts_figures_2015.pdf). Accessed July 2015.
17. Hindle JV (2010) Ageing, neurodegeneration and Parkinson's disease. *Age Ageing* 39(2):156–161.
18. Risk Factors. Alz.org [http://www.alz.org/alzheimers\\_disease\\_causes\\_risk\\_factors.asp](http://www.alz.org/alzheimers_disease_causes_risk_factors.asp). Accessed July 2015.
19. Simon KC, Schmidt H, Loud S (2015) Risk factors for multiple sclerosis, neuromyelitis optica and transverse myelitis. *Mult Scler* 21(6):703–709.
20. Van Deerlin VM (2012) The genetics and neuropathology of neurodegenerative disorders: perspectives and implications for research and clinical practice. *Acta Neuropathol* 124(3):297–303.
21. Klein C, Westenberger (2010) A Genetics of Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2(1):a008888.

詳細はこちら [www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

# 神経変性疾患における 共通のテーマ

# 2

## イントロダクション

これまで、それぞれの神経変性疾患 (ND) は、病因や病態の異なる個別のエンティティとして研究されてきました。しかしながら、近年、特定の分子、細胞、および遺伝的メカニズムが ND の多様性を広げている可能性があることが明らかとなってきました。これらの調査結果は、共通性に関する調査が基本的な病態プロセスに関する見識だけでなく、共通の診断バイオマーカーおよび治療ターゲットに関する見識も提供できる可能性があることを示唆しています。<sup>1</sup>

様々な脳領域にわたる類似した神経機能障害の特徴に加えて、ND は特定の病態生理学プロセスを共有していると考えられます。例えば、これらの疾患の多くは、不溶性プラークの出現を導くミスフォールドしたタンパク質の産生、蓄積、および排出の減少が関係しています。また、神経機能障害および破壊の一般的なメカニズムは、複数の神経変性疾患において生じており、炎症、酸化ストレス、ミトコンドリア機能不全、および興奮毒性増強として兆候が現れます (表2.1)。<sup>2-12</sup>

数十年の研究によって現在の治療法がもたらされていますが、多くのケースで、これらの疾患の経過において破壊される特定のニューロンおよびシグナル伝達系がターゲットとされています。これらの療法には、アルツハイマー病 (AD) においてレベルが上昇するアセチルコリンに対するアセチルコリンエステラーゼ阻害剤やパーキンソン病 (PD) に対するドーパミン作動薬が含まれます。既存の療法は、よくても症状を軽減あるいは遅延させるだけで、根本的な病状に対処したり、疾患経過を有意に緩和あるいは遅延させることはありません。また、既存の療法では神経機能を保存または修復することはできません。これに対し、開発中の新しい療法は神経破壊に関与する特定の病理過程をターゲットとしてデザインされており、神経を保護および修復することが可能です。例えば、間葉系幹細胞や人工多能性幹細胞 (iPSC) 由来細胞を用いる幹細胞ベースの療法は、様々な ND を治療するための次世代の治療法をリードするものと考えられます



## 目次

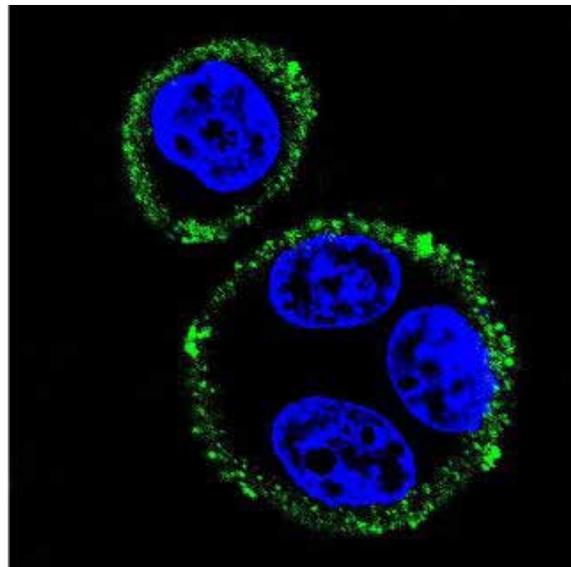
神経変性疾患概論	2-2	酸化ストレスおよび神経変性	2-9
神経変性疾患における共通のテーマ	2-3	神経変性疾患研究の新規分野	2-11
タンパク質のミスフォールディングおよび神経変性	2-4	リファレンス	2-13

# 神経変性疾患 概論

# 2

## 神経変性疾患概論

それぞれのNDIには、疾患を決定付ける様々な特徴があります。例えば、それぞれのNDの病態形成には異なる脳領域が関与し、特有の細胞タイプが関与していると考えられます。例えば、ADではコリン作動性ニューロンが関与し、PDにはドーパミン作動性ニューロンの分解が関係し、そしてMSではCNSのニューロンの周りに存在するミエリン鞘を形成するオリゴデンドロサイトが影響を受けます。NDIは、疾患特異的な特徴を持つにも関わらず、タンパク質のミスフォールディング、慢性炎症、および細胞死を誘導する高レベルな酸化ストレスなどの多くの共通する病状を共有しています。複数の神経変性疾患に関連する特徴の概要を表2.1に示します。<sup>13-20</sup>



PSD95マウスモノクローナル抗体 (6G6-1C9) anti-PSD95 antibody (製品番号 MA1-045) で処理したU251グリオーマ細胞の免疫蛍光分析。核はDAPI (青色) で染色。

表2.1.様々な神経変性疾患に関連する特徴

神経変性疾患	症状	罹患する脳領域	関与する細胞タイプ	病状	タンパク質成分 / バイオマーカー
アルツハイマー病	進行性認知症	海馬；大脳皮質	コリン作動性ニューロン；アストロサイト；ミクログリア細胞	老人斑、神経原線維変化、レビー小体、神経封入体	A $\beta$ アミロイド、タウ、ビメンチン、アクチン、 $\alpha$ -シヌクレイン、TDP-43、ユビキチン、およびMAP2
パーキンソン病	運動障害	黒質；視床下部	ドーパミン産生ニューロン	レビー小体	$\alpha$ -シヌクレインの細胞質凝集体 (恐らく他のタンパク質も含有)；Parkin (PARK2)、DJ-1 遺伝子産物 (PARK7)、LRRK2 (PARK8；Dardarin)
ハンチントン病	認知症、運動障害および精神障害	線条体；大脳皮質；視床	GABA 作動性ニューロン	神経封入体	ハンチンチン (HTT) の核凝集；ハンチンチン相互作用タンパク質 (HIP)
筋萎縮性側索硬化症	運動障害	皮質の運動ニューロン 脳幹、脊髄；非運動ニューロンは疾患後期に罹患する可能性有	ニューロン；グリア細胞	神経封入体	ユビキチン陽性、Tardbp- 陽性、細胞内封入体；FUS/TLS、SOD1
多発性硬化症	知覚障害、運動障害、および視覚障害	中枢神経系の感覚運動ニューロン	ニューロン、ミクログリア細胞、オリゴデンドロサイト；リンパ球；抗原提示細胞	軸索の脱髄損傷 / プラークへの免疫細胞浸潤	MBP、PLP、MOG、損傷 / 炎症誘発性サイトカイン (i.e., IL-17)

# 神経変性における 共通のテーマ

# 2

## バイオマーカーおよびタンパク質を評価するための方法の選択

バイオマーカーの発見は、NDの初期段階での検出やこれらの消耗性症状を治療するための新しい療法の開発につながる戦略を進展させるのに不可欠です。また、細胞内におけるタンパク質の局在性および分布パターンを決定することによって、病態形成を促進するメカニズムに関する見識がもたらされます。数多くのアプローチにおいて、特定のNDに関連するバイオマーカーやタンパク質の細胞内局在性を明らかにするためのバイオマーカーが使用されています。物理的バイオマーカーは、脳イメージング法に分類されると考えられます。血液および脳脊髄液 (CSF) に存在するタンパク質を同定および定量するための技術の例としては、ELISAやLuminexなどの様々なプロテオミクスプラットフォームが挙げられます。21ニューロン集団を同定するための方法の例としては、アミノ酸、ペプチド、およびタンパク質の検出を可能とする免疫電子顕微鏡法 (immuno-EM) の使用が増加してきています。この手法には、特別な組織調製プロトコルおよび金コロイド粒子のような高電子密度マーカーが必要とされます (表 2.2および図2.1)。

病変を直接可視化するためにヒト由来CNS組織サンプルを取得することには大きな制限があります。しかしながら、ADおよび他のND関連タンパク質の組織学的および免疫組織化学分析を用いる死後組織分析は診断補助に一般的に使用されており、初代神経細胞および細胞株を使用する*in vitro*細胞実験は抗体ベースのツールを用いる実験にもよく用いられています。<sup>22</sup> これらのツールは、多くの場合、CNSなどのサロゲートコンパートメント試験用、ならびに非ヒト霊長類およびげっ歯類を含む幅広い様々な生物種に発現させた神経変性モデルの特性決定を行うための実験エンドポイントとして頻繁に使用される神経組織解析用として使用されます。前臨床試験モデルを使用する際の大きな課題は、ヒトNDの複雑さを完全に再現できないことです。しかしながら、実験モデルを使用することは、バイオマーカーを同定したり、薬剤、および神経変性状態を治療するためにデザインされた細胞ベースの治療法についてテストする際の助けとなり、NDの発病および進行に関する細胞および分子メカニズムに関する見識を提供することにつながります。<sup>23</sup>

表2.2.神経変性タンパク質症を評価するための方法の選択

検出法
核磁気共鳴画像法 (MRI)
陽電子放出断層撮影 (PET) スキャン
ウェスタンブロット
組織学
免疫組織化学
免疫蛍光イメージング
免疫電子顕微鏡法 (immuno-EM)
酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)
マルチプレックスタンパク質アッセイ
質量分析

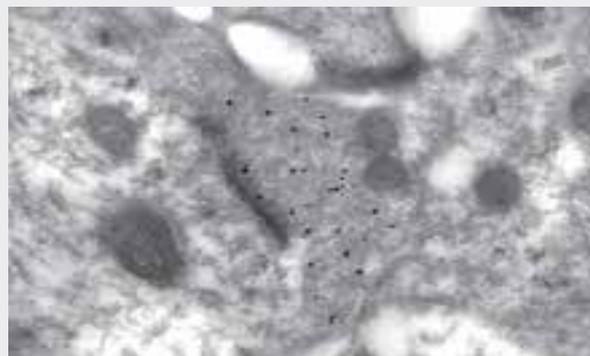


図2.1. Immuno-EMは組織における抗原の抗原特異的な局在化および分布を同定可能

ラットの脊髄部分における小胞グルタミン酸輸送体1(VGLUT1)の包埋後イムノゴールド検出。金粒子を吸着させたシナプス小胞、樹状突起に局在するミトコンドリアの存在、およびシナプスアクティブゾーン内のシナプスタンに注目してください。

# タンパク質のミスフォールディング および神経変性

# 2

## タンパク質ミスフォールディングのメカニズム

タンパク質のミスフォールディングは、AD、PD、HD、および筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を含む多くの神経変性疾患の顕著な特徴です。ミスフォールドしたタンパク質は、一連の小胞体 (ER) ストレス反応を開始するシグナルを発生しますが、これは非折り畳みタンパク質応答 (UPR) と総称され、有害なタンパク質の蓄積から細胞を保護するように働きます。<sup>12</sup> 多くの野生型タンパク質はミスフォールディングしたり、凝集体を形成する能力がありますが、遺伝子変異の結果、アミノ酸配列が変化し、折り畳まれて凝集する傾向の高いタンパク質が生成することがあります。

例えば、ADでは、複数の様々なAPP変異によってオリゴマーの形成および線維形成に寄与する異常Aβペプチドの生成が引き起こされます (図2.2)。凝集の増加は、タンパク質産物の過剰産生、あるいは代謝、酸化、および炎症性のストレスイベントの増加にもつながる可能性があります。

小胞体 (ER) 内には、タンパク質のプロセッシング、フォールディング、および輸送における品質コントロールのエレガントなメカニズムが存在し、ミスフォールドしたタンパク質の蓄積を回避しています。フォールダーゼおよび分子シャペロンは、このプロセスにおいて密接な役割を果たしています。ミスフォールドしたタンパク質は、ER内に保持されるか、あるいはオートファジー (自食作用) またはプロテアソーム依存性ER関連タンパク質経路によって分解されます。<sup>24,25</sup>

膜通過ストレスセンサーおよび下流の転写因子はUPRを有します。<sup>26</sup> 関連するストレスセンサーとして機能するER膜タンパク質の例としては、イノシトール要求性トランスメンブレンキナーゼ/エンドリボヌクレアーゼ 1 (IRE1)、プロテインキナーゼ様真核生物翻訳開始因子2αキナーゼ (PERK)、および活性化転写因子-6 (ATF6) が挙げられます。<sup>25</sup> 活性化されると、これらのタンパク質は、タンパク質の生成速度、タンパク質フォールディングを助けるタンパク質の発現、タンパク質凝集の防止、ならびにERで産生したタンパク質の逆輸送の促進および分解を含む複数のプロセスを調節します (表2.3)。<sup>12</sup>

表2.3. 代表的なER膜ストレスセンサー

ターゲット	機能	抗体製品番号
IRE1	X-ボックス結合タンパク質の転写；ER逆輸送を調節する遺伝子のプロモーター、およびミスフォールドしたタンパク質の分解	IRE1 alpha Polyclonal Antibody (PA1-16928)
PERK	eIF2αをリン酸化し、修飾前のタンパク質のER流入を防止	PERK Polyclonal Antibody (PA5-15305)
ATF6	転写因子がシャペロンタンパク質のアップレギュレーションを媒介	ATF6 Polyclonal Antibody (PA5-20215)
XPB1	ERストレス関連タンパク質のための転写因子がER逆輸送およびミスフォールドしたタンパク質の分解を調節	XPP-1 Monoclonal Antibody (9B7E5) (MA5-15768)

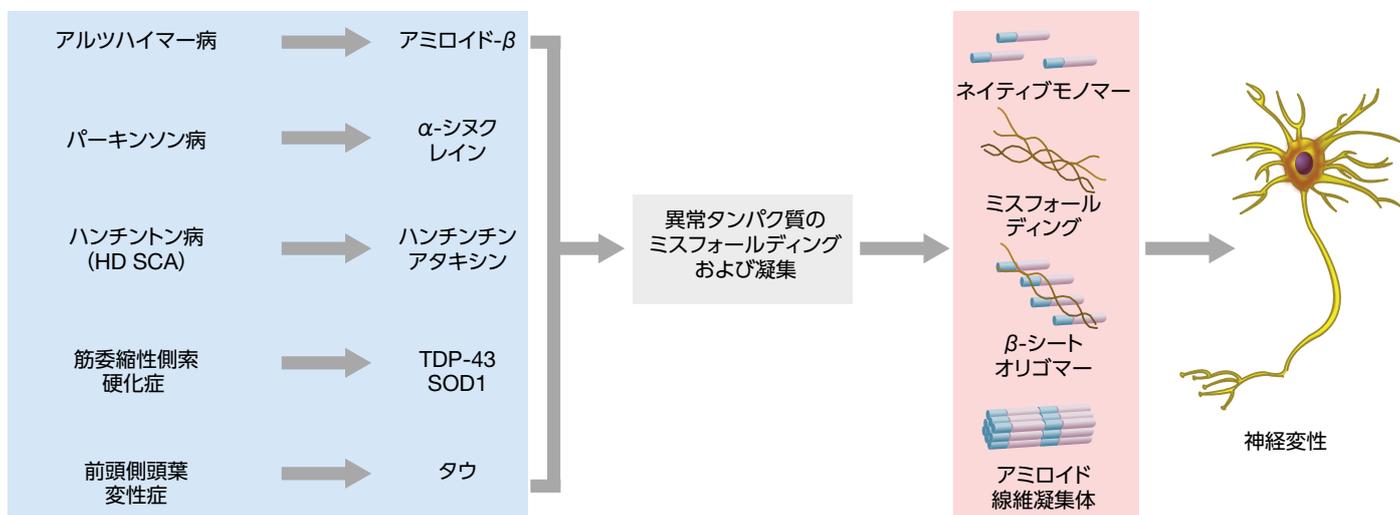


図2.2. タンパク質ミスフォールディングおよび神経変性

# タンパク質のミスフォールディング および神経変性

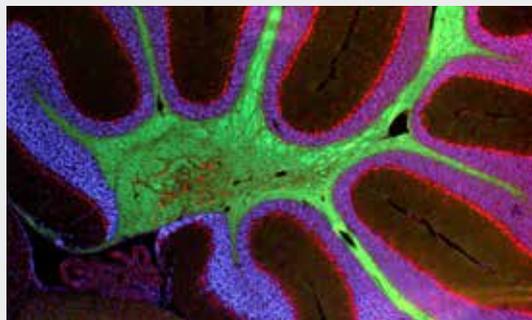
# 2

## プロテアソーム依存性の小胞体関連分解およびオートファジー

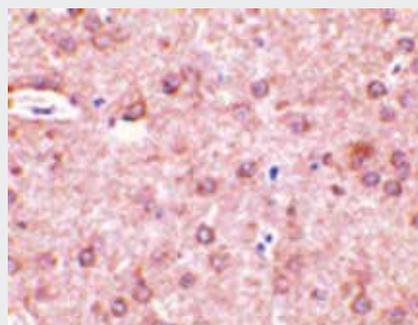
ミスフォールドしたタンパク質を除去するための主要なメカニズムは2種類存在します。1つの経路では、ERからサイトゾルへ逆輸送され、そこで異常タンパク質がユビキチン化され、プロテアソーム分解を受けます。これは小胞体関連分解 (ERAD) と呼ばれます。もう1つのUPRにより刺激されるミスフォールドしたタンパク質を除去するための経路はオートファジーで、大きなタンパク質凝集体およびリソソーム内部のプロテアーゼによって分解されたオルガネラを除去する機能を持ちます。<sup>26,27</sup> これらのプロセスにおいていくつかの変化が生じると神経変性疾患におけるミスフォールドしたタンパク質の蓄積につながります。これらのプロセスの概要を表2.4に示します。

表2.4.NDに関連するプロテアソームおよびオートファジーの機能不全

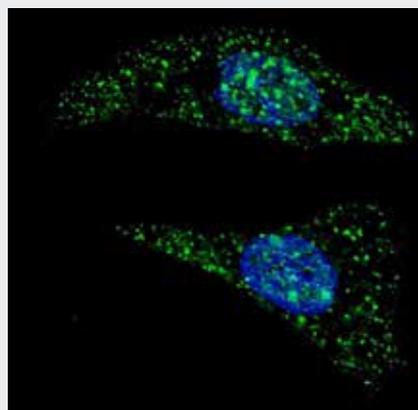
疾患	プロテアソームまたはオートファジーの機能不全
アルツハイマー病	多数のオートファゴソーム；損傷の可能性のあるオートファゴソーム-リソソーム融合；プレセリン-1変異によるリソソーム障害；Beclin-1の発現低下
パーキンソン病	$\alpha$ -シヌクレインのリン酸化または酸化によるリソソーム膜関連シャペロンに対する親和性の低下；オートファゴソーム様構造の細胞内蓄積；GBA 遺伝子変異によるリソソーム蓄積症の発現
ハンチントン病	オートファゴソームにおける分解不全；オートファジーレベルの低下、ユビキチン化されたハンチンチン凝集体の蓄積
筋萎縮性側索硬化症	プロテアソーム活性およびシャペロンタンパク質機能の低下；ゴルジ、ER、およびミトコンドリアの損傷；オートファジー障害によるALS 実験モデルの増悪化
多発性硬化症	オートファジーと自己免疫性脱髄の相関性；ATG5発現およびT細胞生存に関連して増加



Invitrogen™ BrainStain™ Imaging Kit由来の試薬で染色したマウス小脳凍結切片。神経細胞体をInvitrogen™ NeuroTrace™ 530/615 red-fluorescent Nissl stainで、白質をInvitrogen™ FluoroMyelin™ Green stainで、核をDAPIで染色。



Beclin-1 Rabbit Polyclonal Antibody 抗Beclin-1抗体 (製品番号 PA5-20172) を用いたラット脳組織の免疫組織化学染色。



ATG5 Rabbit Polyclonal Antibody 抗ATG5抗体 (製品番号 PA5-35201) および蛍光標識二次抗体 (緑色) で染色したATG5神経膠芽腫U-251細胞の免疫蛍光分析。核はHoechst™ 33342 dye (青色) で染色。

# タンパク質のミスフォールディング および神経変性

# 2

## オートファジーのステップ

マクロオートファジーはオートファジーの主要な経路の1つです。これは様々なシグナル分子アセンブリが関与する段階的なプロセスで、ATGと呼ばれる一連の中心タンパク質が動員されます(図2.3)。<sup>28,29</sup> ATGタンパク質はオートファジーの開始、小胞の核形成、およびオートファゴソームの延長に關与します。このプロセスに關与する他のタンパク質を表2.5にリスト表示します。

- **誘発**—オートファジーの開始を活性化するためには、mTORを不活性化してULK1のリン酸化を低下させる ことが必要とされます。
- **小胞の核形成**—オートファゴソームの構築は、PI3K液胞タンパク質選別タンパク質VPS34 およびVPS15を含むPI3K複合体の活性化に關与し、Beclin-1 (BECN1-調節オートファジータンパク質[AMBRA1]における活性化分子)、UV照射耐性関連遺伝子(UVRAG)、およびBax-相互作用因子1 (BIF1) とのコラボレーションにより生じます。
- **小胞の延長**—ユビキノン様抱合系が小胞の延長を調節します。
- **小胞の回復**—小胞複体内の大部分のタンパク質は小胞と結合した状態で留まらず、オートファジープロセスを介してリサイクルされます。
- **完了**—ATGタンパク質は放出され、リサイクルされます。
- **ドッキングおよび融合**—オートファゴソームはリソソームと融合し、オートリソソームを形成します。
- **小胞の崩壊および分解**—リソソーム酵素によりカーゴが分解されます。

表2.5. オートファジーに關与するタンパク質

ターゲット	抗体製品番号
<b>誘発</b>	
mTOR	mTOR Polyclonal Antibody ( <b>PA1-518</b> )
ULK1	ULK1 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-34542</b> )
ATG101	ATG101 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-21000</b> )
ATG13	ATG13 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-20999</b> )
LCB3	MAP1LC3B Antibody (2H30L32), ABfinity Rabbit Monoclonal ( <b>700712</b> )
<b>小胞の核形成</b>	
PI3 kinase	PI3 Kinase C2 Alpha Polyclonal Antibody ( <b>PA5-28071</b> )
VPS34	VPS34 Polyclonal Antibody ( <b>PA1-46456</b> )
VPS15	P150 (PIK3R4) Polyclonal Antibody ( <b>PA5-21848</b> )
Beclin-1	Beclin-1 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-20171</b> )
AMBRA1	Ambra1 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-20512</b> )
BIF-1	Bif1 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-28068</b> )
ATG9	ATG9 Monoclonal Antibody (14F2 8B1) ( <b>MA1-149</b> )
ATG14	ATG14 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-34453</b> )
<b>小胞の延長</b>	
ATG3	Atg3 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-17018</b> )
ATG4	ATG4B Antibody (1HC6LC10), ABfinity Rabbit Monoclonal ( <b>701882</b> )
ATG5	ATG5 Polyclonal Antibody ( <b>PA1-46178</b> )
ATG7	Atg7 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-17216</b> )
ATG12	ATG12 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-20463</b> )

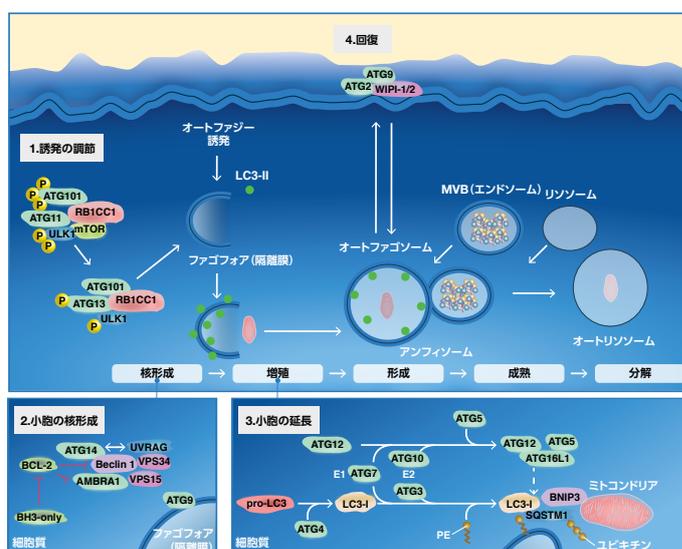


図2.3. オートファジーのステップ

# タンパク質のミスフォールディング および神経変性

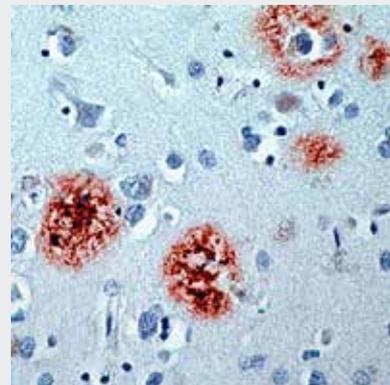
# 2

## アミロイドβタンパク質プラーク、タウタンパク質およびα-シヌクレイン封入体

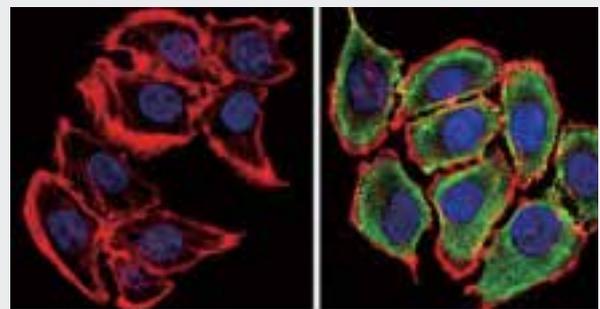
最も蔓延している神経変性疾患は、神経の構造および機能を損傷するオリゴマーおよびミスフォールドしたタンパク質の不溶性の大きな凝集体が蓄積するという共通の特徴を共有します。これらの凝集体は、アルツハイマー病では、細胞外でアミロイドβ (Aβ) タンパク質プラーク、細胞内では高リン酸化タウが蓄積した神経原線維として、そしてα-シヌクレインが含まれるレビー小体として (最も代表的なのはパーキンソン病への関与) 形成され存在します。これらの各タンパク質凝集体は、当初は際立ったNDの特徴として認識されましたが、現在では考慮すべきクロスオーバーがあると認識されています。例えば、Aβタンパク質プラークおよびα-シヌクレインはともに、PDと診断された患者の脳において高頻度で同定されます。リン酸化タウタンパク質の異常な凝集体は、ADに関連する神経毒性に寄与しますが、タウオパチーに分類される他の疾患例としてはこれらに限定されませんが、レビー小体型認知症および前頭側頭認知症が挙げられます。神経変性疾患に関連するタンパク質成分および他の特性に関する概要を表2.1に示します。<sup>30,31</sup>

病的封入体におけるα-シヌクレインの存在はPDの特徴を定義付けるものですが、蓄積するこのタンパク質は、総称してシヌクレイン病と呼ばれる幅広い神経変性疾患に特徴的な病変の主要な非アミロイド成分です。これらの神経変性疾患には、これらに限定されませんが、パーキンソン病、レビー小体型認知症、ならびに家族性および孤発性アルツハイマー病、ダウン症、進行性自律神経不全症が含まれます。<sup>22</sup>

Aβ、タウおよびα-シヌクレイン検出用の抗体、ELISAおよびLuminexキットに関する詳しい情報についてはこちらをご覧ください。[www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)



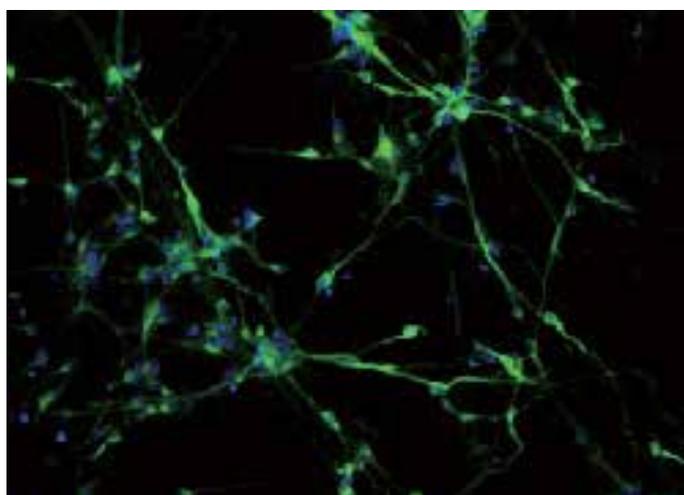
**Amyloid-beta/Amyloid A4 Polyclonal Antibody (PA5-32263)**  
抗アミロイドβ/アミロイドA4抗体を用いて可視化した、アルツハイマー病ドナー由来の脳組織における免疫組織化学分析。



**Synuclein Antibody** 抗シヌクレイン抗体 (製品番号 MA5-12272) で処理したU251細胞におけるシヌクレイン (緑色) の免疫蛍光分析。F-アクチン (赤色) は赤色蛍光ファロイジン、核 (青色) はDAPIで染色。

# タンパク質のミスフォールディング および神経変性

# 2



当社では、Thermo Fisher Scientificブランドの神経特異的ターゲット研究用の抗体、ELISA、およびLuminexアッセイの幅広い製品群に加えて、細胞生存率および増殖アッセイキット、神経解剖および機能分析用蛍光プローブ、ニューロントレーサー、神経変性生物学研究関連一次抗体およびキットの幅広いセクション、ならびに初代細胞および幹細胞研究用の神経細胞培養試薬を含む神経変性研究のための多様な試薬およびキットのコレクションを提供しています (表2.6)。全製品についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/neuroantibodies](http://www.thermofisher.com/neuroantibodies)

表2.6. 神経変性解析に一般的に用いられる代表的なツール

製品	製品番号
Thermo Fisher™ Pierce™ Primary Neuron Isolation Kit	(88280)
Thermo Fisher™ Neuronal Culture Medium for Pierce™ Primary Cell Isolation Kits	(88283)
Invitrogen™ BrainStain™ Imaging Kit	(B34650)
Invitrogen™ PrestoBlue™ Cell Viability Reagent	(A13261)
Invitrogen™ Neurite Outgrowth Staining Kit	(A15001)
Invitrogen™ FluoVolt™ Membrane Potential Kit	(F10488)
Invitrogen™ LIVE/DEAD™ Cell Viability Imaging Kit	(R37601)
Invitrogen™ CellROX™ Green Reagent, for oxidative stress detection	(C10444)
Invitrogen™ CellROX™ Orange Reagent, for oxidative stress detection	(C10443)
Invitrogen™ pHrodo™ Red Dextran, 10,000 MW, for endocytosis	(P10361)
Invitrogen™ Rhod-3 Calcium Imaging Kit	(R10145)
Invitrogen™ CellEvent™ Caspase-3/7 Green ReadyProbes™ Reagent	(R37111)
Invitrogen™ Image-iT™ Hypoxia Reagent	(H10498)
Invitrogen™ ProLong™ Live Antifade Reagent, for live cell imaging	(P36974)
Autophagy detection reagents and kits	<a href="http://www.thermofisher.com/autophagy">www.thermofisher.com/autophagy</a>
Dextran, hydrazides, neuronal tracers	<a href="http://www.thermofisher.com/tracing">www.thermofisher.com/tracing</a>

# 酸化ストレスおよび神経変性

# 2

## ミトコンドリア機能不全

ミトコンドリア機能不全および酸化ストレスは、神経変性および加齢と密接な関係があり、様々なNDにおいて疾患特異的なミトコンドリア関連の変化が観察されます(図2.4および表2.7)。<sup>32-41</sup> 例えば、ハンチンチンタンパク質およびポリQを含むフラグメントは、ミトコンドリア輸送障害および細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇を誘発します。<sup>42</sup> PDでは電子伝達が低下し、AD、PDおよびALSではミトコンドリアDNA(mtDNA)における変異が検出されています。<sup>43</sup> 活性酸素種(ROS)はミトコンドリア機能不全を促進し、アポトーシスを引き起こす可能性があります。ミトコンドリアの分裂と融合は、ミトコンドリアの健全性に必要とされる生理的プロセスですが、これらのプロセスの攪乱は、がん、心血管疾患、神経変性状態を含む数多くのヒト疾患において引き起こされます。<sup>44</sup> ミトコンドリアおよびER機能間のクロストークの複雑さについては完全には解明されていませんが、ミトコンドリアと小胞体の接触領域(MAM)が2つのオルガネラ間における脂質の移動およびCa<sup>2+</sup>のホメオスタシスを可能としており、オートファゴソーム形成の部位であることが研究において示されています。

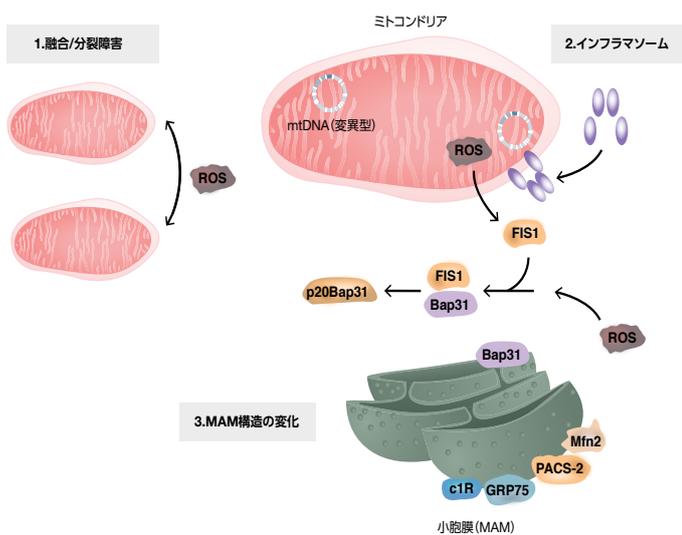


図2.4. 酸化ストレスに対するミトコンドリア反応

インフラマソーム複合体も、ミトコンドリア機能不全に関与し、ピロトーシスを誘発します。これらの多タンパク質オリゴマーは、インターロイキン(1βおよび18)の産生を誘導し、プログラム細胞死に関するカスパーゼを活性化する病原シグナルに反応して形成されます。NOD-様受容体ファミリータンパク質のメンバーであるNLRP1、3、および4は、ROSの生成を導くインフラマソームのキーコンポーネントです。これらのプロセスに関与するタンパク質の代表例を表2.8に示します。<sup>32-42</sup>

## 神経変性におけるCOX-2の役割

過剰なROSレベルは、サイトカイン、ペプチド、および病原構造などの複数の炎症メディエーターの産生を促進します。これらの要素は脳損傷に寄与し、シクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)のアップレギュレーションの一因となります。プロスタグランジンの生成に必要とされるCOX-2は、様々なNDに関連する炎症に関与します(図2.5)。COX-2や炎症を阻害する薬理作用のある薬剤(非ステロイド性抗炎症薬[NSAIDs]など)は、AD、PD、ALS、およびMSなどの疾患進行の抑制あるいは軽減の目的で使用するために研究されています。<sup>45</sup>

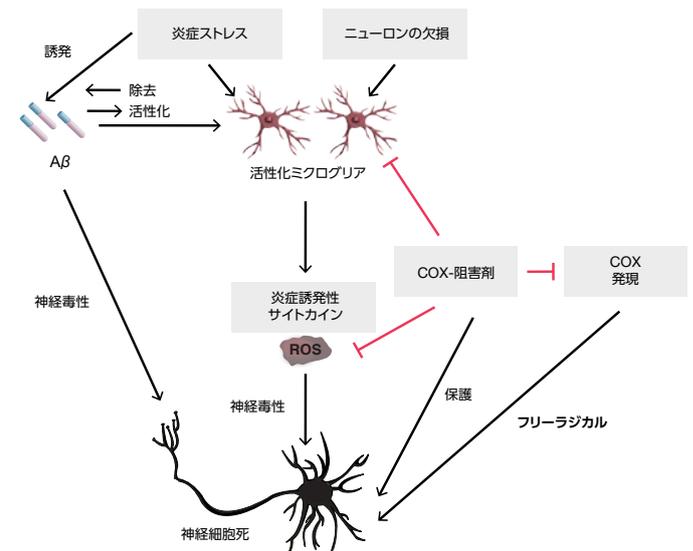


図2.5. NSAIDsによるCOX-2阻害によるプロスタグランジン生成の抑制

# 酸化ストレスおよび 神経変性

# 2

表2.7.NDに関連するミトコンドリア機能不全

疾患	機能障害
アルツハイマー病	チトクロム C 変異 電子伝達系タンパク質機能不全
パーキンソン病	電子伝達系タンパク質機能不全 PTEN 誘導推定キナーゼ 1 (PINK1) 欠損による酸化的リン酸化の抑制 PD 患者由来の黒質ニューロンにおける mtDNA 欠失
ハンチントン病	ハンチンチンおよびポリ Q を含むフラグメントによるミトコンドリア機能不全の発生；ミトコンドリア輸送障害 HD 細胞における Ca <sup>2+</sup> 濃度上昇
筋委縮性側索硬化症	SOD1 変異 ミトコンドリアにおけるエネルギー産生の低下 mtDNA の酸化的損傷レベルの増加

表2.8.ミトコンドリア機能不全に関与する代表的なタンパク質

ターゲット	機能	抗体製品番号
DRP1	ダイナミン関連タンパク質 (DRP1)；ミトコンドリア分裂に必要	Dynamain Related Protein 1 Polyclonal Antibody <b>(PA1-16986)</b>
BAX	多領域プロアポトーシスタンパク質；ミトコンドリア外膜透過性を亢進	Bax Monoclonal Antibody (6A7) <b>(MA5-14003)</b>
FIS1	ミトコンドリア分裂タンパク質；ミトコンドリアの分裂を促進	FIS1 Polyclonal Antibody <b>(PA5-22142)</b>
NLRP3	NOD 様受容体 (NLR) ファミリー、ピリジン領域を含むタンパク質 2 (NLRP3)；インフラマソーム成分；炎症性疾患における病原性活性化	NLRP3 (NOD Domain) Monoclonal Antibody (25N10E9) <b>(MA5-16274)</b>
Bap31	膜貫通 ER 関連タンパク質；タンパク質の核近傍コンパートメントへの輸送に関与	BAP31 Monoclonal Antibody (CC-1) <b>(MA3-002)</b>
GRP75	グルコース調節タンパク質 75 (GRP75)；熱ショックタンパク質シャペロン；低グルコースレベルにおける ROS 蓄積の抑制	HSPA9/GRP75 Monoclonal Antibody (30A5) <b>(MA1-91639)</b>
Mfn2	ミトフシン -2；ミトコンドリア膜貫通型 GTPase；ミトコンドリア構築調節因子；ミトコンドリアおよび ER のインスリンシグナル伝達に関与	MFN2 Polyclonal Antibody <b>(PA5-27606)</b>
σ 1R	シグマ -1 受容体 (σ 1R；オピオイド受容体)；ドーパミン作動性運動ニューロンおよびアストロサイトにおいて発現；MPTP (PD モデル) - 誘発性ドーパミン作動性細胞死に寄与する可能性あり	Sigma-1 Receptor Polyclonal Antibody <b>(42-3300)</b>

これらのおよび他のミトコンドリアタンパク質検出用抗体に関する詳しい情報についてはこちらをご覧ください。[www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

# 神経変性疾患研究の 新規分野

# 2

## 炎症

中枢神経系 (CNS) は、免疫学的に特有の“免疫特権” 部位です。インタクトな血液脳関門 (BBB) は、末梢免疫細胞からCNSへの流入を制限します。ミクログリア活性化およびそれに続く免疫応答性を軽減する可溶性因子、ならびに神経抗原のリンパ排液は、免疫反応を誘発するよりもむしろ免疫寛容（自己と非自己の区別の学習）を促進するように作用します。これらの防御機構にも関わらず、免疫系の自然免疫および適応免疫はともに様々なNDにおける神経損傷の開始および進行に影響を与えているとされます (表2.9)。脳における炎症誘発反応を抑制するための戦略の開発は、神経変性疾患治療の新しい選択肢につながります。<sup>46</sup>

表2.9. 神経変性疾患における免疫反応

疾患	自然免疫	獲得免疫
アルツハイマー病	活性化ミクログリア、炎症誘発性サイトカイン、補体および他の因子のレベル増加	Aβペプチドに対する抗体およびT細胞反応の存在
パーキンソン病およびレビー小体型認知症	ミクログリア活性化、ナチュラルキラー細胞、CFNにおける炎症誘発性サイトカイン、および他の因子のレベル増加	神経抗原に対する抗体；LBDにおけるAβおよびS100Bに対する自己抗体血清α-シヌクレイン；末梢神経系およびCNSにおけるT細胞の存在
ハンチントン病	ミクログリア増殖、補体因子、および炎症メディエーターのレベル増加	未検出
筋萎縮性側索硬化症	補体、CD14、および他の因子のレベル増加	神経特異的タンパク質に対する抗体およびT細胞反応の存在
多発性硬化症	ミクログリア活性化、ナチュラルキラー細胞、食細胞、CFNにおける炎症誘発性サイトカイン、補体および他の因子のレベル増加	ミエリンおよびミエリン関連抗原に対する抗体およびT細胞反応；活性化T細胞により分泌されるニューロトロフィンの存在

当社では、抗体に加えて、神経免疫学に関連するターゲットについて研究するための高度に検証された幅広いELISAおよびLuminexキットを提供しています。

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。[www.thermofisher.com/immunoassays](http://www.thermofisher.com/immunoassays)

# 神経変性疾患研究の新規分野

# 2

## 細胞ベースの療法の開発

幹細胞生物学、神経科学、およびリプログラミング技術の進歩は、研究の新しい道を切り拓きました。幹細胞は自己複製し分化細胞を産生するため、中枢および末梢神経系の障害および損傷のための幹細胞置換療法は現在不治のNDおよびニューロン損傷のための新しい治療法につながる可能性があります。正常な神経系の発達プロセスを再現するための戦略としては、内在性神経幹細胞の再生能力の活性化、あるいは胎児神経細胞または人工多能性幹細胞 (iPSCs) 由来細胞の移植が挙げられます。神経系における様々な最終分化細胞集団を生じさせる多能性幹細胞 (PSCs) の分化経路を表2.6に示します。特定の神経生物学研究の目的をサポートするために、当社では複数のアプリケーションで検証済みの高特異的抗体の幅広いポートフォリオを提供しています。これらのツールは、グリア、タンパク質輸送、ニューロン新生、神経変性疾患、神経幹細胞研究、および他の神経生物学研究分野における研究を容易にします (表2.10)。

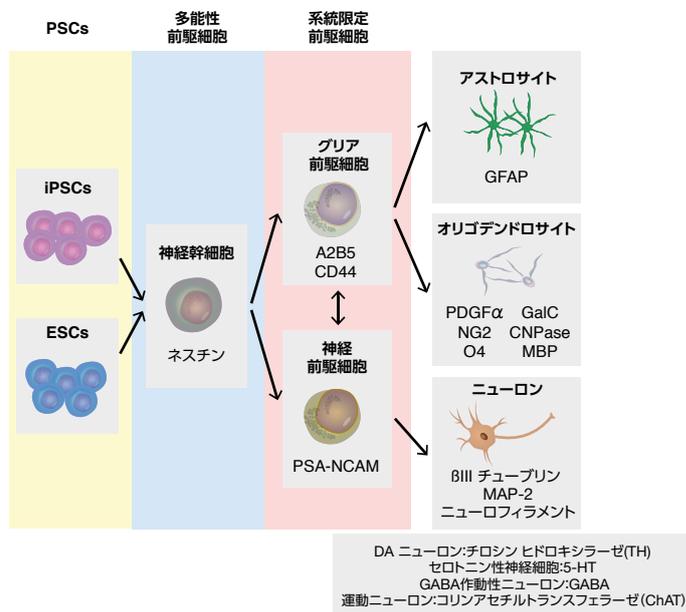


図2.6. PSCの神経系統への分化経路

**Beta-3 Tubulin Monoclonal Antibody**

抗β3チューブリン抗体 (クローン 2G10) (製品番号 MA1-118) を用いたβ-チューブリンのウェスタンブロット解析を、ヒト脳組織およびSH-SY5Y (ヒト神経芽細胞) およびHeLa (不死化したヒト子宮頸癌細胞) 由来の細胞株からのライセート、ならびにマウス、ラット、ウサギ、ブタ、ウシ、ハムスター、およびモルモットから分離した脳組織から調製したライセートについて実施した (上図)。

脱パラフィン処理したヒト脳組織の免疫組織化学分析を実施し、抗β3-チューブリン抗体 (右下) と非染色抗体コントロール (左下) を比較した。

表2.10. 神経系統のための代表的マーカー

抗体製品番号	アプリケーション
SOX1 Polyclonal Antibody (PA5-23351)	WB, IHC (P)
A2B5 Monoclonal Antibody (105) (43-3110)	IF, IHC, Flow
CD44/H-CAM Monoclonal Antibody (Hermes-1) (MA4400)	IF, ICC, IHC, Flow, IP
GFAP Polyclonal Antibody (PA1-10004)	WB, IF, ICC, IHC
PDGFA Polyclonal Antibody (PA5-11722)	WB, IHC
Beta-3 Tubulin Monoclonal Antibody (TU-20) (MA1-19187)	WB, IF, ICC, IHC (P), Flow
MAP2 A, B, C Monoclonal Antibody (AP18) (MA5-12826)	WB, IF, ICC, IHC (P)

略語: ICC, 免疫細胞化学; IF, 免疫蛍光; IHC, 免疫組織化学; WB, ウェスタンブロットニング; Flow, フローサイトメトリー

神経幹細胞研究は急速に拡大してきている注目の分野です。当社は、神経幹細胞系統の特性決定のための多様なアレイリソースを提供しています。詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/stemcellantibody-hb](http://www.thermofisher.com/stemcellantibody-hb)

- Davis M, Stroud C, eds (2013) *Neurodegeneration: Exploring Commonalities Across Diseases: Workshop Summary* USA: National Academy of Sciences. p4-15. [http://www.nap.edu/catalog.php?record\\_id=18341](http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=18341). Accessed September 2015.
- Prentice H, Pravinchandra JM, Wu JY (2015) Mechanisms of neuronal protection against excitotoxicity, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction. *Oxid Med Cell Longev* Article ID 964518, in press.
- Moussaud S, Jones DR, Moussaud-Lamodière, EL et al. (2014) et al. Alpha-synuclein and tau: teammates in neurodegeneration? *Mol Neurodegen*. 9:43.
- Trippier PC, Jansen Labby K, Hawker DD et al. (2013) Target- and mechanism-based therapeutics for neurodegenerative diseases: strength in numbers. *J Med Chem* 56(8):3121–3147.
- Jin H, Kanthasamy A, Ghosh A et al. (2014) Mitochondria-targeted antioxidants for treatment of Parkinson's disease: preclinical and clinical outcomes. *Biochim Biophys Acta* 1842(8):1282–1294.
- Rao VK, Carlson EA, Yan SS et al. (2014) Mitochondrial permeability transition pore is a potential drug target for neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta* 1842(8):1267–1272.
- Swomley AM, Förster S, Keeney JT et al. (2014) Aβeta, oxidative stress in Alzheimer disease: evidence based on proteomics studies. *Biochim et Biophys Acta*. 2014; 1842(8):1248–1257.
- Ciechanover A, Kwon YT (2015) Degradation of misfolded proteins in neurodegenerative diseases: therapeutic targets and strategies. *Exp Mol Med* 47:e147.
- Peggion C, Sorgato MC, Bertoli A (2014) Prions and prion-like pathogens in neurodegenerative disorders. *Pathogens* 3(1):149–163.
- Nah J, Yuan J, Jung YK et al. (2015) Autophagy in neurodegenerative diseases: from mechanism to therapeutic approach. *Mol Cells* 38(5):381–389.
- Kesidou E, Lagoudaki R, Touloumi O et al. (2013) Autophagy and neurodegenerative disorders. *Neural Regen Res* 8(24):2275–2283.
- Rao RV, Bredesen DE (2004) Misfolded proteins, endoplasmic reticulum stress and neurodegeneration. *Curr Opin Cell Biol* 16(6):653–662.
- Soto C (2003) Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 4(1):49–60.
- Tullman MJ (2013) Overview of the epidemiology, diagnosis, and disease progression associated with multiple sclerosis. *Am J Manag Care* 19(2 Suppl):S15–20.
- Van der Walt A, Butzkeuven H, Kolbe S et al. (2010) Neuroprotection in multiple sclerosis: a therapeutic challenge for the next decade. *Pharmacol Ther* 126(1):82–93.
- Wilkins A, Scolding N (2008) Protecting axons in multiple sclerosis. *Mult Scler* 14(8):1013–1025.
- Querfurth HW, LaFerla FM (2010) Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 362(4):329–344.
- Kumar A, Singh A, Ekavi AS (2015) A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Rep* 67(2):195–203.
- Wu GF, Alvarez E (2011) The Immunopathophysiology of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 29(2):257–278.
- Miller BR, Bezprozvanny I (2010) Corticostriatal circuit dysfunction in Huntington's disease: intersection of glutamate, dopamine and calcium. *Future Neurol* 5(5):735–756.
- Persson S, Havton LA (2009) Retrogradely transported fluorogold accumulates in lysosomes of neurons and is detectable ultrastructurally using post-embedding immuno-gold methods. *J Neurosci Methods* 184(1):42–47.
- Tarawneh R, Galvin JE (2009) Dementia With Lewy Bodies and Other Synucleinopathies. In: Weiner MF, Lipton AM, eds. *Textbook of Alzheimer Disease and Other Dementias* Washington DC: American Psychiatric Publishing, Inc. pp 195–217.
- [http://www.neurodegenerationresearch.eu/uploads/media/JPND\\_Exp\\_Models\\_Final\\_report\\_Jan\\_2014\\_-\\_DM.pdf](http://www.neurodegenerationresearch.eu/uploads/media/JPND_Exp_Models_Final_report_Jan_2014_-_DM.pdf)
- Irwin DJ, Lee VM, Trojanowski JQ (2013) Parkinson's disease dementia: convergence of α-synuclein, tau and amyloid-β pathologies. *Nat Rev Neurosci* 14(9):626–636.
- Wang S, Kaufman RJ (2012) The impact of the unfolded protein response on human disease. *J Cell Biol*. 2012 Jun 25;197(7):857–867.
- Hetz C, Mollereau B (2014) Disturbance of endoplasmic reticulum proteostasis in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 15(4):233–249.
- Glick D, Barth S, Macleod KF (2010) Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J Pathol* 221(1):3–12.
- Füllgrabe J, Klionsky DJ, Joseph B (2014) The return of the nucleus: transcriptional and epigenetic control of autophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15(1):65–74.
- Chen Y, Klionsky DJ (2011) The regulation of autophagy - unanswered questions. *J Cell Sci* 124(Pt 2):161–70.
- Bachhuber T, Katzmarski N, McCarter JF et al (2015) Inhibition of amyloid-β plaque formation by α-synuclein. *Nat Med* 21(7):802–807.
- Lee G, Leugers CJ (2012) Tau and tauopathies. *Prog Mol Biol Transl Sci* 107:263–293.
- Smirnova E, Griparic L, Shurland DL et al. (2001) Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol Biol Cell* 12(8):2245–2256.
- Lalier L, Cartron PF, Juin P et al. (2007) Bax activation and mitochondrial insertion during apoptosis. *Apoptosis* 12(5):887–896.
- NCBI. FIS1 fission, mitochondrial 1 [ *Homo sapiens* (human) ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/51024>. Accessed August, September 2015.
- Coll RC, Robertson AA, Chae JJ et al. (2015) A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases. *Nat Med*. 2015 Mar;21(3):248–255.
- Wakana Y, Takai S, Nakajima K et al. (2008) Bap31 Is an Itinerant protein that moves between the peripheral endoplasmic reticulum (ER) and a juxtanuclear compartment related to ER-associated degradation. *Mol Biol Cell* 19(5):1825–1836.
- Phosphofurin Acidic Cluster Sorting Protein 2. GeneCards.org. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PACS2>. Accessed August, September 2015.
- Liu Y, Liu W, Song XD et al. (2005) Effect of GRP75/mthsp70/PBP74/mortalin overexpression on intracellular ATP level, mitochondrial membrane potential and ROS accumulation following glucose deprivation in PC12 cells. *Mol Cell Biochem* 268(1–2):45–51.
- MFN2 Gene. GeneCards.org. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MFN2>. Accessed August, September 2015.
- Sebastián D, Hernández-Alvarez MI, Segalés J et al. (2012) Mitofusin 2 (Mfn2) links mitochondrial and endoplasmic reticulum function with insulin signaling and is essential for normal glucose homeostasis. *PNAS* 109(14):5523–5528.
- Hong J, Sha S, Zhou L et al. (2015) Sigma-1 receptor deficiency reduces MPTP-induced parkinsonism and death of dopaminergic neurons. *Cell Death Dis* 23;6:e1832.
- Li XJ, Orr AL, Li S (2010) Impaired mitochondrial trafficking in Huntington's disease. *Biochim Biophys Acta* 1802(1):62–65.
- Cha MY, Kim DK, Mook-Jung I et al. (2015) The role of mitochondrial DNA mutation on neurodegenerative diseases. *Exp Mol Med* 47:e150.
- Youle RJ, van der Bliek AM (2012) Mitochondrial fission, fusion, and stress. *Science* 337(6098):1062–1065.
- Figueiredo-Pereira ME, Rockwell P, Schmidt-Glenewinkel T et al. (2015) Neuroinflammation and J2 prostaglandins: linking impairment of the ubiquitin-proteasome pathway and mitochondria to neurodegeneration. *Front Mol Neurosci* 13;7:104.
- Amor S, Peferoen LA, Vogel DY et al. (2014) Inflammation in neurodegenerative diseases—an update. *Immunology* 142(2):151–66

詳細はこちら [www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. Hoechst is a trademark of Hoechst GmbH.

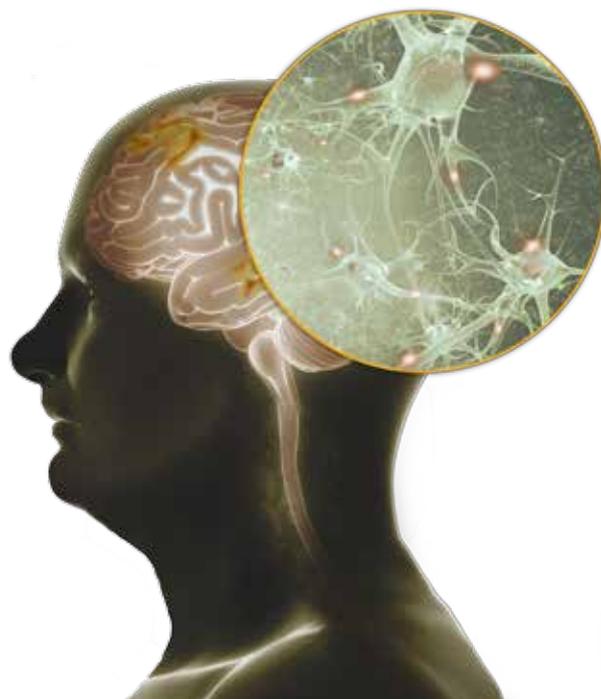
# アルツハイマー病への取り組み

# 3

## イントロダクション

### アルツハイマー病概論

アルツハイマー病 (AD) は、記憶および行動における進行性認知機能障害を特徴とします。<sup>1,2</sup> これは認知症の中で最も多くみられる形態で、発病は一般的に孤発性で、非常に多くの環境的および遺伝的リスクファクターが関与しています。<sup>3,4</sup> コリン作動性ニューロンの障害および大脳皮質における神経伝達の低下が認知機能の低下を引き起こします。本疾患はタンパク質プラーク (アミロイドの細胞外神経組織への沈着)、およびリン酸化したタウタンパク質から構成される細胞内神経原線維変化の存在によって特徴付けられます。<sup>5</sup> 臨床的および神経病理学的症状のエビデンスに先立って、嗅内皮質、海馬、後帯状回皮質、および中側頭回などの脳領域における遺伝子発現プロファイルおよび細胞機能に攪乱が観察され得ます。<sup>6</sup> 特にADは、アミロイド $\beta$ によって誘発されるミトコンドリア機能不全、重度の酸化ストレス、DNA損傷、アポトーシス、および脳内ホメオスタシスを破壊し、シナプス機能障害を引き起こす他の壊滅的なプロセスを特徴とします。<sup>7</sup>



現在承認済みのAD治療薬は、一部のAD罹患者の症状を一時的に軽減することはありますが、根本的に疾患プロセスを変化させることはありません。<sup>8</sup> ADの早期発見および根本的な性質を変化させる治療の必要性は、バイオマーカーの発見、脳の生体イメージング、神経炎症、ならびに幹細胞ベースの研究ツールおよび有望な治療法などの基礎的および橋渡しとなるようなADの新規な研究分野に対する究明に拍車を掛けます。<sup>9,10</sup>

## 目次

アルツハイマー病への取り組み	3-2	実験的治療薬のためのターゲット	3-17
アルツハイマー病の病理学および病態生理学	3-4	神経変性疾患のための抗体ベースのツール	3-20
アルツハイマー病における神経炎症	3-15	リファレンス	3-21

# アルツハイマー病への取り組み

# 3

## 一般統計学

アルツハイマー病は神経変性疾患 (ND) の最も一般的な形態で、65歳以上の人口の10%以上が罹患しているとされます。<sup>4</sup> アメリカでは約5.3百万人、世界ではほぼ44百万人がADを発症しています。<sup>4,11</sup> ADの発症およびAD発症のリスクは年齢の上昇とともに増加し、大部分のAD患者 (>96%) は65歳を超えています (図3.1)。<sup>4</sup> 疫学的評価において、アルツハイマー病は認知症の全症例の約60%~80%を占めています。<sup>12</sup>

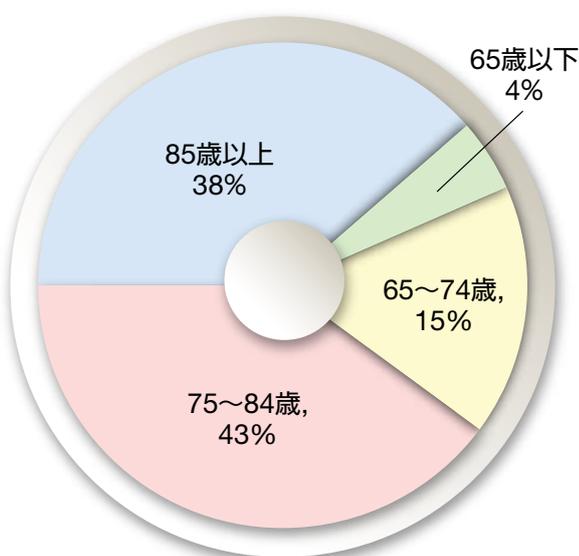


図3.1. アメリカにおける年齢別のアルツハイマー病罹患率 (2015)

## 一般的な原因およびリスクファクター

ADの家族歴は、個人のAD発症に影響する傾向があり、家族に1人以上罹患者がいる場合、発症リスクが上昇します。常染色体優性AD (ADAD) は、典型的には60歳以前に発症する早期発症型ADですが、AD症例の5%以下とされます。ADADに関与する遺伝子としては、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) およびプレセニン-1および-2 (PS-1およびPS-2) をコードする遺伝子が挙げられます。アポリポタンパク質E4 (Apo E4)、および多くの他の遺伝子変異は、遅発性AD、あるいは孤発性AD (SAD) の発症リスクの上昇に関与するとされ、AD症例の大部分を占めています。<sup>13,14</sup> SADは遺伝的要因および環境要因の双方が関与して発症に至ると考えられています。ADに関与する遺伝子および遺伝子産物を図3.2および表3.1にリストアップします。<sup>15</sup>

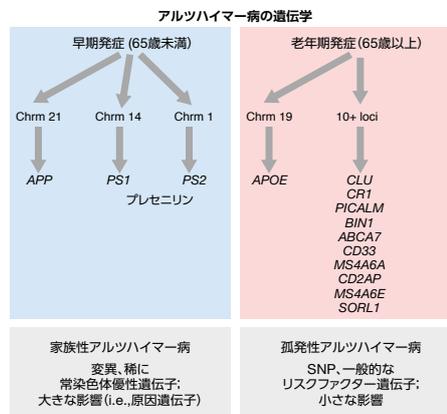


図3.2. ADの主要な2形態である早期発症 (家族性) および晩期発症の変異型

ADを発症させる一番のリスクファクターは加齢で、図3.2に示すような脳萎縮、炎症、フリーラジカルの生成、およびミトコンドリア機能不全などの変化を脳内に生じさせます。加齢は、ADの発症に関わる最大のリスクファクターですが、複数の環境要因および医学的状態によってリスクは増加します。高血圧、心疾患、脳卒中、糖尿病、および高コレステロール血症などの心血管障害は、ADの発症に関わる全身性炎症に寄与します。他の要因としては、座りがちな生活様式、肥満、口腔内の不衛生、および頭部外傷が挙げられ、特にそれが重度、反復的であったり、意識喪失を伴う場合はADの発症に寄与すると考えられます。<sup>13,16</sup>

## 病状

ADと診断された患者の約半数には、レビー小体型認知症 (LBD) や血管性認知症などの他の認知症の形態に関連する病理学的特徴の痕跡がみられます。<sup>4</sup> ADの兆候は、老人斑や神経原線維変化などの神経病理学的変化が出現してから数年後に現れます。加齢に伴い、軽度の認知機能障害は現れる可能性がありますが、この中でADを発症するに至る患者は一部です。<sup>3</sup> 疾患の進行は様々ですが、一般的には8~10年で死に至ります。治療法は存在しませんが、剖検前の診断は80~90%の確率で正確です。<sup>3</sup> この状況の厳しさから、早期の診断および疾患の進行速度を抑えるための治療オプションにつながる可能性のある新しい研究結果の発掘が重要であることは明らかです。

# アルツハイマー病への取り組み

# 3

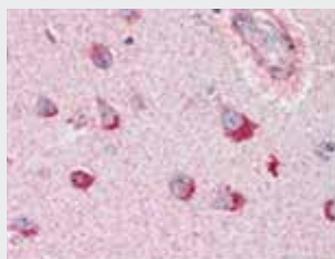


当社は、神経変性疾患研究における目的タンパク質を検出に用いられる様々な研究アプリケーションでの使用についてバリデーション済みの抗体の広範なポートフォリオを提供しています。詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/neuroantibodies](http://www.thermofisher.com/neuroantibodies)

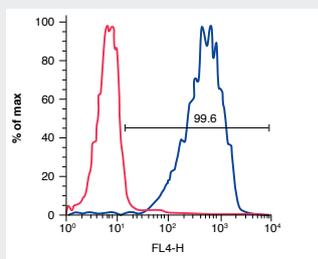
表3.1.ADに関連する代表的な遺伝子産物

遺伝子シンボル	タンパク質	抗体製品番号
APP	アミロイド前駆体タンパク質	APP Polyclonal Antibody ( <b>PA5-17829</b> )
PS1	プレセニリン 1	Presenilin1 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-20376</b> )
PS2	プレセニリン 2	Presenilin 2 Monoclonal Antibody (APS 26) ( <b>MA1-754</b> )
APOE	アポリポタンパク質 E	ApoE/Apolipoprotein E Antibody (16H22L18), ABfinity Rabbit Monoclonal ( <b>701241</b> )
CLU	クラスタリン	Clusterin Polyclonal Antibody ( <b>PA5-20212</b> )
CR1	補体成分 (3b/4b) 受容体 1	CD35/CR1 Monoclonal Antibody (E11) ( <b>MA5-13122</b> )
PICALM	ホスファチジルイノシトール結合クラスリン集合タンパク質	PICALM Polyclonal Antibody ( <b>PA5-20871</b> )
BIN1	ブリッジングインテグレーター 1	BIN1 Polyclonal Antibody ( <b>PA5-34687</b> )
ABCA7	ATP 結合カセット (ABC) トランスポーター	ABCA7 Monoclonal Antibody (7A1-144) ( <b>MA1-16935</b> )
CD33	表面抗原分類 33 (CD33) タンパク質	CD33 Monoclonal Antibody (6C5/2) ( <b>MA1-20217</b> )
CD2AP	CD2- 結合タンパク質	CD2AP Polyclonal Antibody ( <b>PA5-28391</b> )
SORL1	ソーティリン関連受容体	SORL1 Monoclonal Antibody (3B6B11) ( <b>MA5-15355</b> )



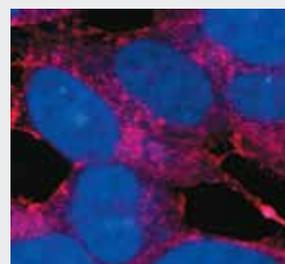
**SORL1**マウスモノクローナル抗体 (**3B6B11**)

抗SORL抗体 (製品番号 **MA5-15355**) を用いたパラフィン包埋ヒト脳、皮質組織の免疫組織化学分析



**ABCA7**ラットモノクローナル抗体

(**7A1-144**) 未染色のHeLa細胞 (ネガティブコントロール)HeLa細胞 (赤色) およびanti-ABCA7 antibody (製品番号 **MA1-16935**) で染色したABCA7発現HeLa (青色) 細胞のフローサイトメトリー解析



**APP**ウサギポリクローナル抗体

anti-APP antibody (製品番号 **PA5-17829**) (赤色) を用いた、SH-SY5Y細胞におけるAPPの免疫蛍光分析。DNAは青色蛍光色素で染色。

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

# 3

## アルツハイマー病の特徴

細胞外アミロイドプラークの存在、細胞内神経原線維変化、およびニューロン間のシナプス結合の喪失は、ADの顕微鏡レベルの主要な特徴です (図3.3)。<sup>17</sup> アミロイドプラークの存在は、臨床的に重要な記憶障害が発症する10~15年前に確認されます。AD患者の数は、 $\alpha$ -シヌクレイン (レビー小体) および広範なエビデンスとして他のタンパク質の細胞内凝集の存在も示されます。実際、特に高齢患者において、ADとレビー小体型認知症、前頭側頭認知症、および脳血管疾患などの他のCNS疾患の間にはオーバーラップする症状があります。<sup>5</sup> 肉眼によるADの解剖学的特徴としては、同年齢の健常者との比較における海馬の委縮および脳室の拡大が挙げられます。ADが進行するのに伴い、疾患後期に一時的で部分的な後頭葉および前頭部の委縮が生じます。<sup>18-20</sup>

ADの神経病理学的特徴としては、 $A\beta$ 凝集物からなる細胞外プラークおよび高リン酸化タウの細胞内神経原線維変化が挙げられます。この壊滅的な疾患は、シナプスの損失および脳萎縮につながる神経細胞死によって特徴付けられます。Wntシグナル伝達経路は、神経機能およびシナプス維持の恒常性制御において極めて重要な役割を果たしています。しかしながら、このシグナル経路の攪乱はADの発症に関与しています。複数の研究において、Wnt3aリガンドを介するシグナル伝達はミトコンドリアの膜透過性を阻害することが示されています。同様に、Wnt5aリガンドシグナル伝達は、ADにおける核分裂核融合の変化を制限することによりミトコンドリアの完全性を保護します (図3.4)。

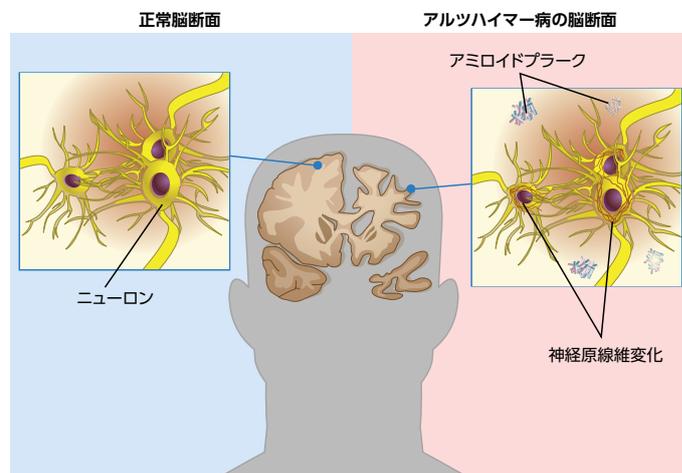


図3.3. アルツハイマー病の解剖学的特徴

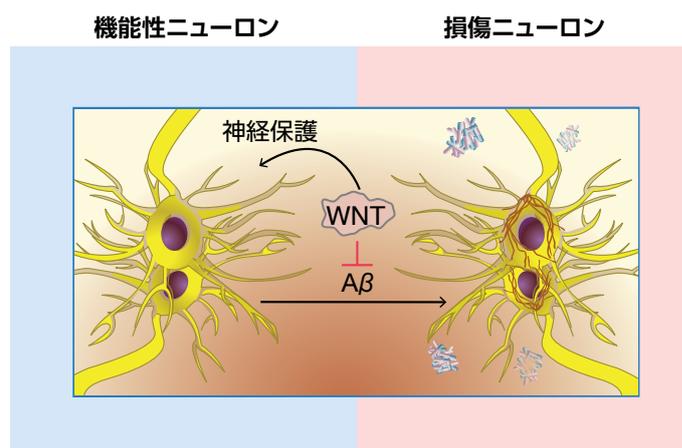
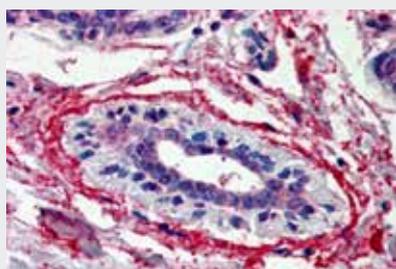
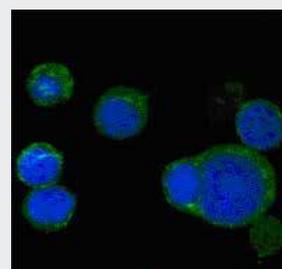


図3.4. アルツハイマー病の細胞特性 ミスfoldしたタンパク質の蓄積、神経炎症、およびミトコンドリア機能不全は全て、ADに関連する神経損傷に関与しています。また、Wntシグナル伝達は、ADにおいてミトコンドリア機能不全およびニューロン損傷に対する保護作用があることがエビデンスから示唆されています。



免疫組織化学におけるWNT 3 ヤギポリクローナル抗体 (製品番号 PA5-18516)



免疫組織蛍光におけるWNT5A マウスモノクローナル抗体 (製品番号 MA5-15502)

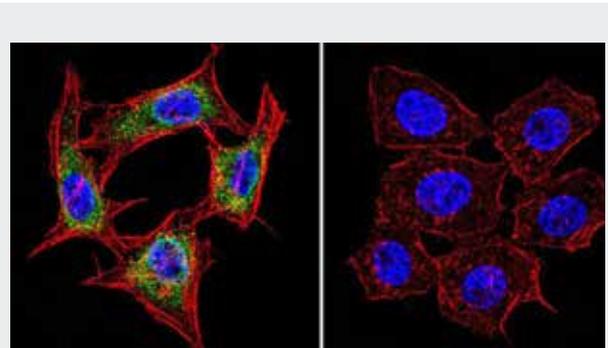
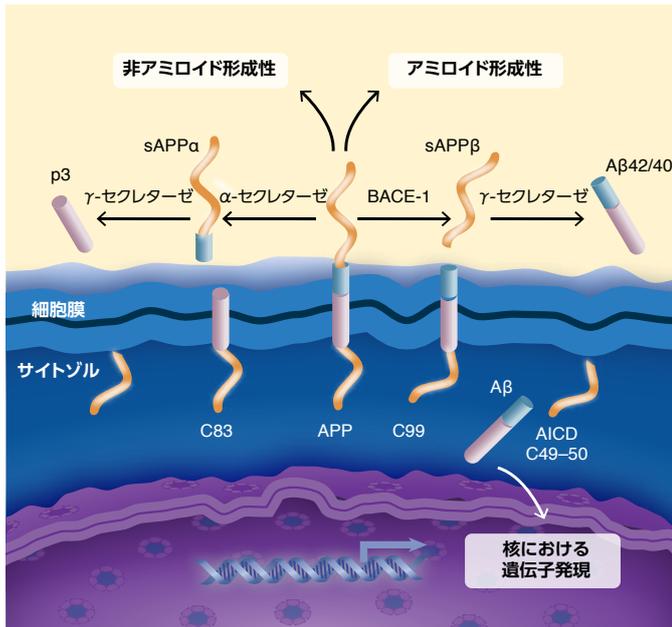
# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

## アミロイド前駆体タンパク質 (APP) プロセシングの役割

アミロイド前駆体タンパク質 (APP)は内在性膜タンパク質で、異なるプロセシングを受けて、様々なタンパク質断片を生成します。正常な状態では、APPは最初に $\alpha$ -セクレターゼによって切断され、sAPP $\alpha$ とC83というC末端断片を生じます。sAPP $\alpha$ の存在は、正常なシナプスシグナル伝達に関わっており、シナプス可塑性、学習と記憶、情動行動、およびニューロンの生存をもたらします。その後、C83が $\gamma$ -セクレターゼによって分解され、アミロイド細胞内ドメインおよびp3を産生します。病的状態では、 $\beta$ 部位アミロイド前駆体タンパク質-切断酵素 (BACE-1) がAPPに作用し、可溶性APP $\beta$  (sAPP $\beta$ )を遊離します。これは細胞外空間に放出され、C99は細胞膜に保持されます (図3.5)。その後、C99は $\gamma$ -セクレターゼで分解され、アミロイド細胞内ドメイン (AICD) を生じ、A $\beta$ が細胞外空間に放出されます。 $\gamma$ -セクレターゼは、プレセニン1および2 (PS-1およびPS-2) を含む複数のタンパク質から構成されます (表3.2)。PS-1およびPS-2をコードする遺伝子 (PSEN1およびPSEN2) には、150を超える様々な変異が確認されていますが、大部分はPSEN1における変異です。PS変異はAPPプロセシングに影響を及ぼし、A $\beta$ 40よりもA $\beta$ 42の凝集を増加させます。<sup>21,22</sup>

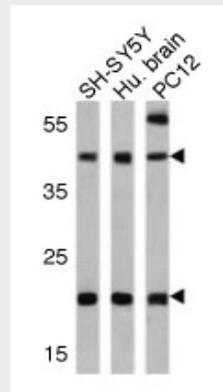
非アミロイド形成性アミロイド前駆体タンパク質 (APP) のプロセシング中、 $\alpha$ -セクレターゼはAPPに作用し、C83とsAPP $\alpha$ を産生します。sAPP $\alpha$ は正常なシナプスシグナル伝達に関わっています。その後、C83は $\gamma$ -セクレターゼによって分解され、アミロイド細胞内ドメインおよびp3を産生します。アミロイド形成性APPのプロセシング中、 $\beta$ 部位アミロイド前駆体タンパク質-切断酵素 (BACE-1) はAPPに作用し、可溶性APP $\beta$  (sAPP $\beta$ )を遊離します。これは細胞外空間に放出され、C99は細胞膜に保持されます。 $\gamma$ -セクレターゼは、C99を切断してアミロイド細胞内ドメイン (AICD) を生じ、細胞外空間にA $\beta$ を放出させる酵素複合体です。

図3.5. アミロイド前駆体タンパク質 (APP) のプロセシング



プレセニン1マウスモノクローナル抗体 (APS 18)

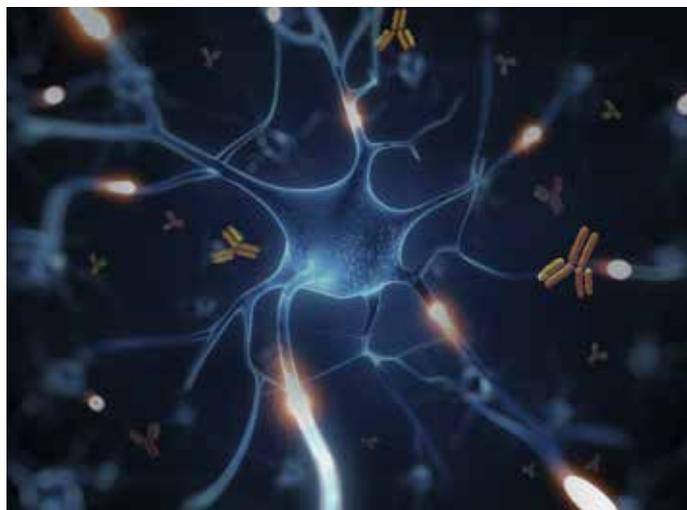
免疫蛍光分析によるanti-presenilin 1 antibody (製品番号MA1-752) を用いた、Hela細胞 (緑色) におけるプレセニン1タンパク質の検出を実施。F-アクチンは蛍光標識ファロイジン (赤色) で、核はDAPI (青色) で染色。



プレセニン2マウスモノクローナル抗体 (APS 21) ウェスタンプロット解析によるanti-presenilin 2 antibody (製品番号32132) を用いた細胞ライゼート中のプレセニン2タンパク質の検出。SH-SY5Y (レーン1)、ヒト脳 (レーン2) およびPC12 (レーン3)。

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

# 3



## 抗体：研究のための強力なツール

当社では、神経生物学関連の一次抗体およびイムノアッセイキットの幅広い製品群に加えて、神経解剖および機能分析用蛍光プローブ、ニューロントレーサー、ならびに初代細胞および幹細胞研究用の神経細胞培養試薬を含む神経科学研究を促進するための試薬を提供しています。

表3.2.APPプロセッシングに関与するタンパク質

ターゲット	抗体製品番号	当社の抗体に関する代表的な文献
Aβ42	<b>(PA3-16761)</b>	Lagadec S, Rotureau L, Hémar A et al. (2012) Early temporal short-term memory deficits in double transgenic APP/PS1 mice. <i>Neurobiol Aging</i> 33(1):203. e1–11.
APP	<b>(OMA103132)</b>	Brodney MA, Barreriro G, Ogilvie K et al. (2012) Spirocyclic sulfamides as α-secretase 1 (BACE-1) inhibitors for the treatment of Alzheimer’s disease: utilization of structure based drug design, WaterMap, and CNS penetration studies to identify centrally efficacious inhibitors. <i>J Med Chem</i> 55(21):9224–9239.
APH-1	<b>(PA1-2010)</b>	Watanabe H, Xia D, Kanekiyo T et al. (2012) Familial frontotemporal dementia-associated presenilin-1 c.548G>T mutation causes decreased mRNA expression and reduced presenilin function in knock-in mice. <i>J Neurosci</i> 32(15):5085–5096.
Nicastrin	<b>(PA1-758)</b>	He P, Li P, Hua Q et al. (2013) Chronic administration of anti-stroke herbal medicine TongLuoJiuNao reduces amyloidogenic processing of amyloid precursor protein in a mouse model of Alzheimer’s disease. <i>PLoS One</i> 8(3):e58181.
α-Secretase (ADAM10)	<b>(PA1-12500)</b>	Ratia M, Giménez-Llort L, Camps P et al. (2010) Behavioural effects and regulation of PKCα and MAPK by huprine X in middle aged mice. <i>Pharmacol Biochem Behav</i> 95(4):485–93.
β-Secretase (BACE-1)	<b>(PA1-757)</b>	Walker KR, Kang EL, Whalen MJ et al. (2012) Depletion of GGA1 and GGA3 mediates postinjury elevation of BACE1. <i>J Neurosci</i> 32(30):10423–37.
Presenilin 1	<b>(MA1-752)</b>	Shimada IS, LeComte MD, Granger JC et al. (2012) Self-renewal and differentiation of reactive astrocyte-derived neural stem/progenitor cells isolated from the cortical peri-infarct area after stroke. <i>J Neurosci</i> 32(23):7926–7940.
Presenilin 2	<b>(MA1-753)</b>	Diehlmann A, Ida N, Weggen S et al. (1999) Analysis of presenilin 1 and presenilin 2 expression and processing by newly developed monoclonal antibodies. <i>J Neurosci Res</i> 56(4):405–19.

当社の抗体ポートフォリオに関する詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

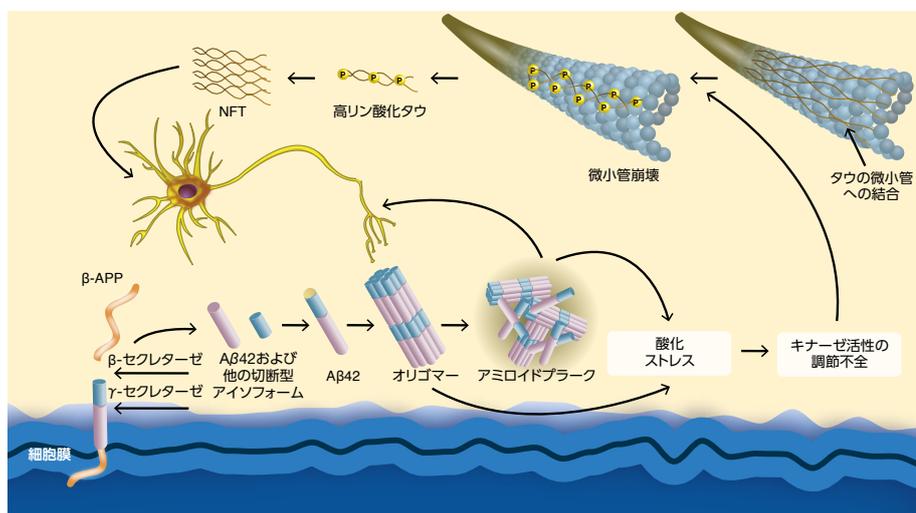
[www.thermofisher.com/neuroantibodies](http://www.thermofisher.com/neuroantibodies)

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

# 3

## アミロイドβおよびプラークの形成

Aβペプチドは、正常な代謝において産生する、36~43アミノ酸からなる産物です。Aβ40モノマーは、自己凝集性が高い傾向のあるAβ42よりも高レベルで存在します。Aβ40とAβ42は高頻度で重合して、神経毒性を示すオリゴマーおよびより大きい凝集体を形成し、イオンチャンネルの遮断、カルシウム恒常性の崩壊、ミトコンドリア酸化ストレス、エネルギー代謝の障害、および最終的に神経細胞死につながる血糖調節異常を引き起こします。初期の研究ではアミロイドβの不溶性凝集体が有毒であることが示唆され、より最近のエビデンスでは可溶性オリゴマー前駆体も有毒であることが示唆されています。<sup>23,24</sup> また、認知機能障害は、全AβレベルよりもむしろAβオリゴマーのレベルに対応して発現します。<sup>22</sup> Aβの蓄積は、タウの過剰リン酸化および神経原線維変化の形成に先立って生じます(図3.6)。<sup>25</sup>



**図3.6. アルツハイマー病におけるアミロイドβプラークおよび神経原線維変化の形成** β-セクレターゼおよびγ-セクレターゼによるアミロイド形成性の連続するAPPプロセッシングを経て、Aβが産生します。有毒なAβオリゴマー(特にAβ42)は凝集して、オリゴマーおよびアミロイド線維を形成し、老人斑として沈着します。Aβオリゴマーは、タウの病態生理学的な過剰リン酸化における酸化ストレスおよびキナーゼ活性の調節不全に寄与します。高リン酸化タウ/過剰にリン酸化されたタウは、微小管から解離し、その結果、微小管の不安定化、神経原線維変化の形成、および神経細胞死が生じます。

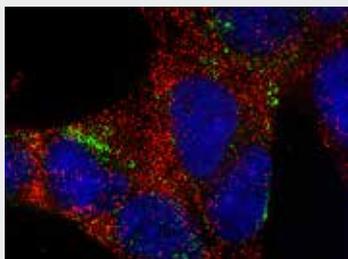
## タウタンパク質

微小管結合タンパク質(MAP)は、チューブリンに結合して、微小管の重合および安定性を促進し、リン酸化されたMAPを微小管から解離します。<sup>26</sup> タウは、ニューロンにおける主要なMAPで、正常な状態では、可溶性タンパク質として細胞体およびニューロンの軸索に位置します。ADにおいて、高リン酸化タウは、神経原線維変化(NFT)および神経絨毛糸(NT)の形成を導きます。<sup>27,28</sup>

Aβの蓄積はADと関連しますが、正常な加齢(臨床的な認知症を除く)における脳内にも蓄積します。Aβは、ADの重症度との相関性よりも、軽度認知機能障害を有する患者のADに進行する可能性についての予測において重要であると考えられます。AD解析における新しいコンセプトでは、リン酸化タンパク質タウの病態生理学とADにおける臨床的認知症との高い相関関係に着目します。<sup>27,29</sup> このため、AD研究において、タウの役割にはより高い注目が集められています。

## タウの特性

- 染色体17番上のMAPT遺伝子
- 別々のスプライシングによって産生する6種類の異なるタンパク質アイソフォーム
- 最大80のセリン/スレオニンリン酸化部位を含有
- 5つのチロシンリン酸化部位を含有
- AD脳から単離したタウは3倍のリン酸を含有(vs. 健常脳から単離したタウ)



**Thermo Scientific™ Superclonal™ 二次抗体**  
 一次抗体のマウス抗Aβ40抗体およびrabbit anti-DISC antibody (製品番号 710203) (赤色)で標識したSH-SY5Yヒト神経芽細胞腫細胞の免疫蛍光分析。細胞はSuperclonal二次抗体のPierce™ Goat anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody, Alexa Fluor™ 488 conjugate (製品番号 A28175) およびGoat anti-Rabbit IgG (H+L) Secondary Antibody, Alexa Fluor 555 conjugate (製品番号 A27039)で標識。核(青色)は、Invitrogen™ SlowFade™ Gold褪色防止用封入剤を使用し、DAPIで染色。

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

# 3

## ミクログリアおよびアストロサイトの役割

アストロサイト (BBBの血管を覆う) およびミクログリア (食細胞として機能する) を含むグリア細胞は、ADにおける神経変性プロセスに関与します。ニューロンおよびアストロサイトは連携して機能し、 $A\beta$ 42オリゴマーを産生します。 $A\beta$ ダイマーおよびトリマーは、シナプス伝達の障害、酸化ストレスの誘導、タウの過剰リン酸化の促進に寄与します。また、ミトコンドリアに対し毒性を示し、ミクログリア細胞を活性化します。活性化ミクログリアは、神経細胞およびアストロサイトにおけるさらなる $A\beta$ 42の産生を誘導するサイトカインおよび他の因子を分泌します。ミクログリア、神経炎症、およびADの関係はよく確立されています。その概略を図3.7に示します。<sup>30</sup> また、 $A\beta$ 42オリゴマーは、ミエリンを含む、コレステロールの豊富な膜を損傷するというエビデンスがあります。 $A\beta$ オリゴマーは、いくつかの異なるメカニズムによって除去されます。ネプリライシン (別名: 膜メタロ-エンドペプチダーゼ (MME) およびインスリン分解酵素の2種類のプロテアーゼは、 $A\beta$ を分解し、定常状態の $A\beta$ レベルを低下させます。ネプリライシンレベルの低下は脳における $A\beta$ 蓄積を導き、インスリン分解酵素の欠失は $A\beta$ 分解を50%低下させ、いずれかの酵素の過剰発現はプラーク形成を減少させます。 $A\beta$ オリゴマーは、アストロサイトおよびミクログリアによっても取り込まれ、受動的な流れを介して脳脊髄液に移行し、リポタンパク質受容体関連タンパク質は循環に取り込まれます。<sup>22,31</sup>

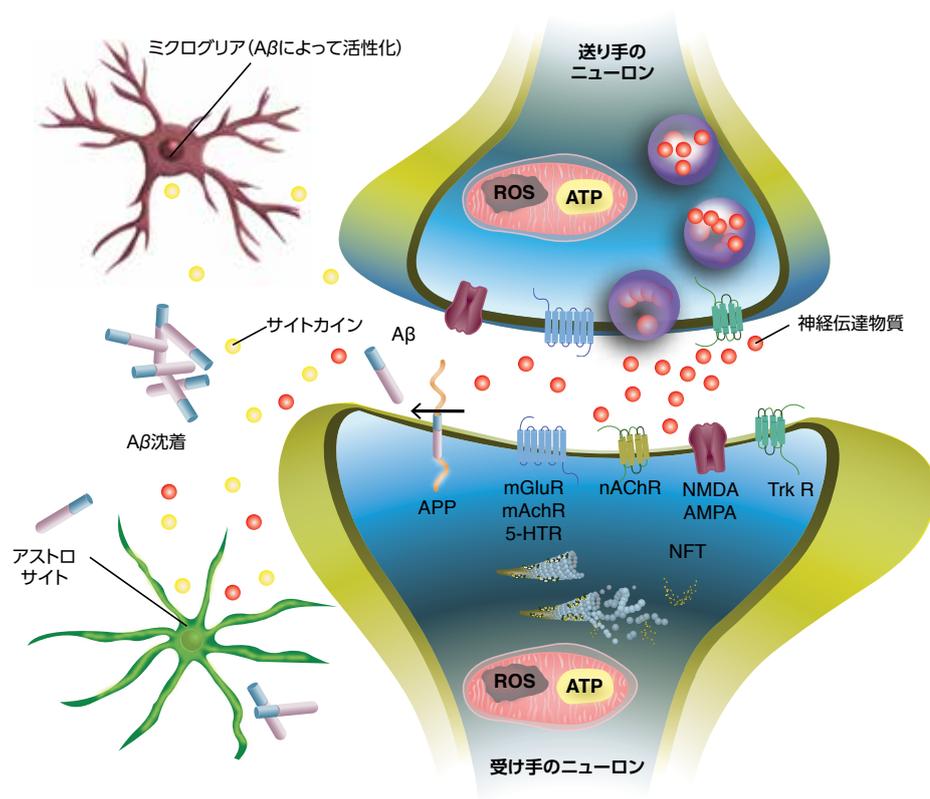
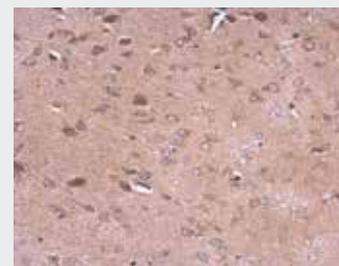
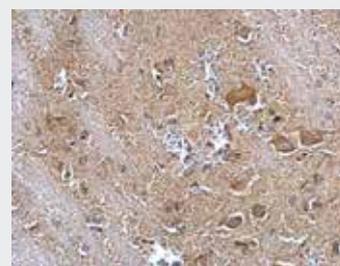


図3.7. アルツハイマー病 (AD) の病理過程  $A\beta$  およびタウの異常凝集および蓄積、炎症、ならびに酸化ストレスは、ADにおける神経変性およびシナプス機能障害に寄与します。ADのための新しい治療アプローチには、これらのプロセスの阻害が含まれます。他の開発中の治療法は、神経栄養因子の形態におけるニューロンの保護および膜の保護をターゲットとしています。



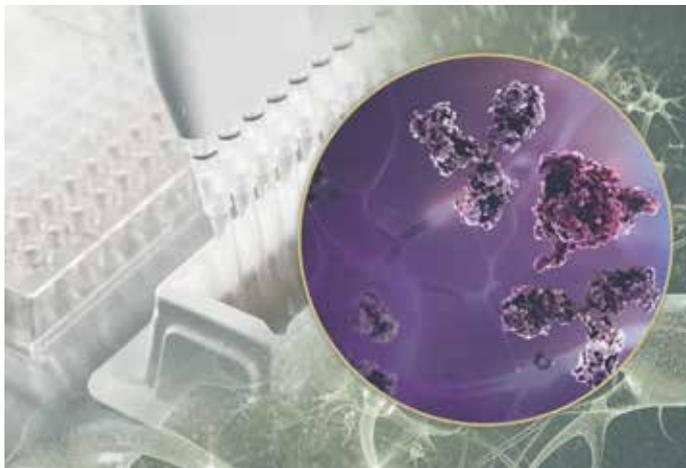
**CD10/MME Rabbit Polyclonal Antibody** 抗CD10/MME 抗体 (製品番号 PA5-29354) で染色したマウス前脳組織の免疫組織化学分析



**Insulin Degrading Enzyme Rabbit Polyclonal Antibody** 抗インスリン分解酵素抗体 (製品番号 PA5-29350) で染色したラット脳幹組織の免疫組織化学分析

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

# 3



アルツハイマー病の正確な原因は不明ですが、アミロイドβプラークの形成がAD発症に関わっているという膨大なエビデンスが存在しています。

ADなどの神経変性状態について研究する研究者を支援するために、当社ではサンプル（例：細胞培養上清、組織ホモジネート、脳脊髄液（CSF）等）に含まれるヒトAβ42を定量するための、96ウェルプレートおよびマイクロプレートリーダーを用いる、研究使用限定の酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）キットを提供しています。本キットは、ヒトAβ42の天然型および合成型を認識し、β40/Aβ43を検出せずに、Aβ42を選択的に検出することが可能です。（製品番号 KHB3544）

## Amyloid beta 42 Ultrasensitive ELISA Kit, Human

### 性能特徴

- 感度: <1 pg/mL
- 標準曲線範囲: 1.56-100 pg/mL
- サンプルタイプ: 細胞培養上清、組織ホモジネート、CSF
- 種反応性: ヒト
- サンプル量: 50 μL (希釈済み)

### バリデーション

#### アッセイ内精度

アッセイ内の精度を決定するために、既知濃度のHu Aβ42サンプルについて16回反復でアッセイを行った。

パラメータ	サンプル 1	サンプル 2	サンプル 3
平均値 (pg/mL)	71.76	40.45	21.37
SD	5.76	3.75	1.78
%CV	8.04	9.37	8.33

SD = 標準偏差; CV = 変動係数

#### アッセイ間精度

アッセイ間の精度を決定するために、サンプルについて複数のアッセイを36回行った。

パラメータ	サンプル 1	サンプル 2	サンプル 3
平均値 (pg/mL)	71.30	40.16	21.29
SD	5.24	3.96	1.13
%CV	7.36	9.85	5.32

SD = 標準偏差; CV = 変動係数

ELISAの完全なポートフォリオについてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/findelisa](http://www.thermofisher.com/findelisa)

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

# 3

## 神経原線維変化の形成

過剰にリン酸化されたタウは微小管から解離し、正常なタウのミスフォールディングを引き起こし、正常なタウ、MAP1およびMAP2を捕捉します。その結果、微小管の不安定化および細胞内におけるタウタンパク質のオリゴマー形成が生じます。神経原線維変化はタウのオリゴマー化の結果として起こり、軸索輸送障害および神経細胞のアポトーシスを誘導します(図3.8)。<sup>22,28</sup> GSK-3 およびCDK5はタウをリン酸化する主要なキナーゼです。タウは、表3.3および図3.8に示すような多くの他のキナーゼおよびホスファターゼによって、それぞれリン酸化および脱リン酸化されます。<sup>28</sup>

**図3.8. 高リン酸化タウ** タウは多くのキナーゼによりリン酸化されます。高リン酸化タウは、微小管から解離し、微小管の不安定化および神経細胞死を引き起こします。また、高リン酸化タウは凝集して、一対のらせん状フィラメントとなり、それは神経原線維変化の主要成分となります。

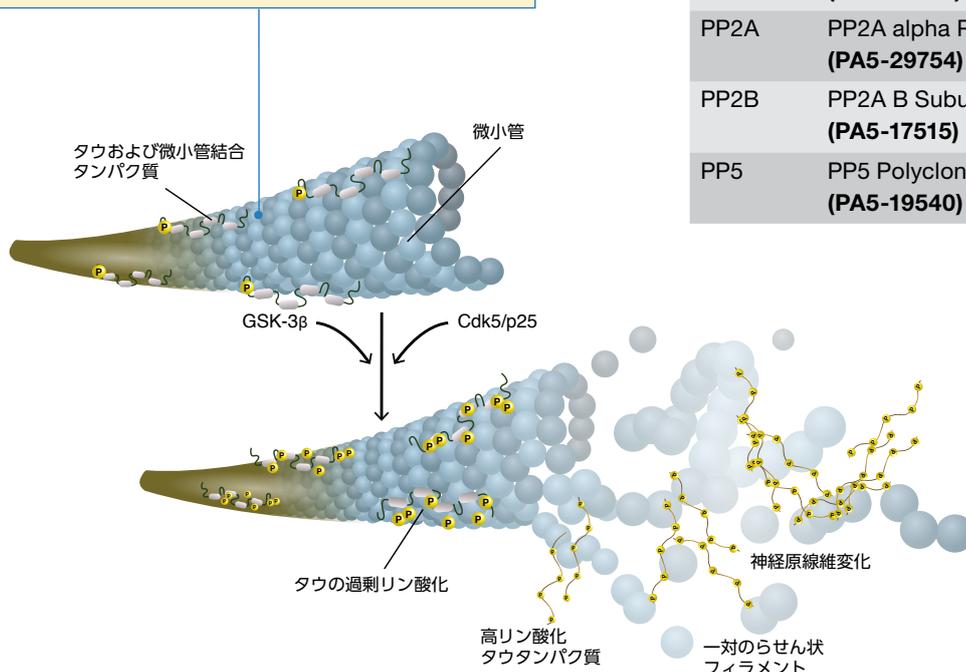
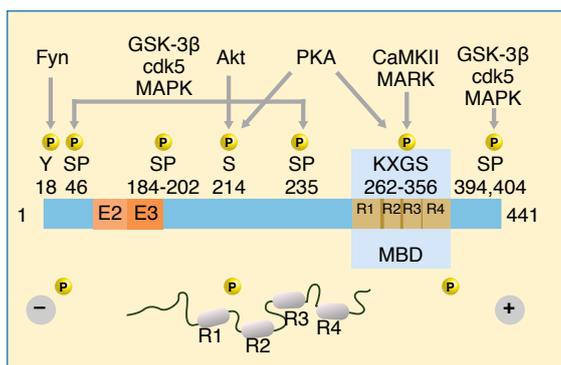


表3.3.タウキナーゼおよびホスファターゼ

ターゲット	抗体製品番号
<b>キナーゼ</b>	
GSK-3	GSK-3 Polyclonal Antibody (PA5-32440)
CDK5	Cdk5 Monoclonal Antibody (DC17+DC34) (MA5-11291)
PKC	PKC alpha Monoclonal Antibody (MC5) (MA1-157)
PKA	Phospho-PKA 2 Beta pSer114 Polyclonal Antibody (PA1-26735)
Erk2	p42 MAP Kinase/ERK2/MAPK1 Monoclonal Antibody (6F8) (MA1-099)
Akt	AKT1+AKT2+AKT3 Monoclonal Antibody (J.314.4) (MA5-14916)
Fyn	Fyn Monoclonal Antibody (1S) (AHO0482)
JNK	JNK1/MAPK8 Monoclonal Antibody (1E5) (MA5-17117)
CaMKII	Phospho-CaMKII pThr286 Polyclonal Antibody (PA5-35520)
MARK	MARK1 Polyclonal Antibody (PA5-17058)
<b>ホスファターゼ</b>	
PP1	PP1-alpha Polyclonal Antibody (PA5-17825)
PP2A	PP2A alpha Polyclonal Antibody (PA5-29754)
PP2B	PP2A B Subunit Polyclonal Antibody (PA5-17515)
PP5	PP5 Polyclonal Antibody (PA5-19540)

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

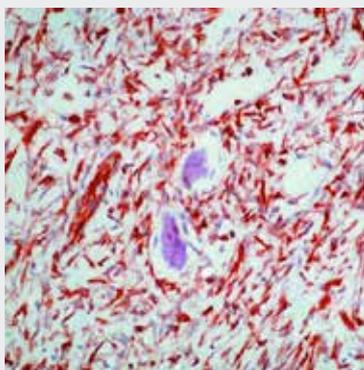
# 3

## 神経原線維変化の成分

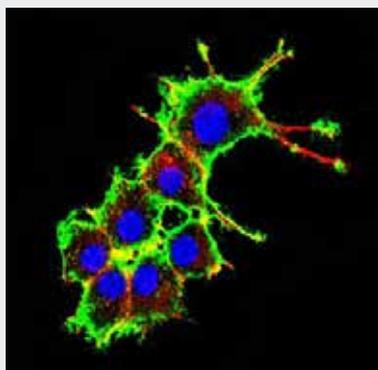
神経原線維変化はほぼ全体的に高リン酸化タウから構成されていると一般的に誤認識されていますが、その構造はビメンチン、アクチン、ユビキチン、MAP2、アミロイドβ、およびタウなどの神経タンパク質に対する抗体で標識可能です。<sup>29</sup> 神経原線維変化と共存することで知られているタンパク質を表3.4にリストアップします。

表3.4.微小管結合タンパク質および神経原線維タンパク質

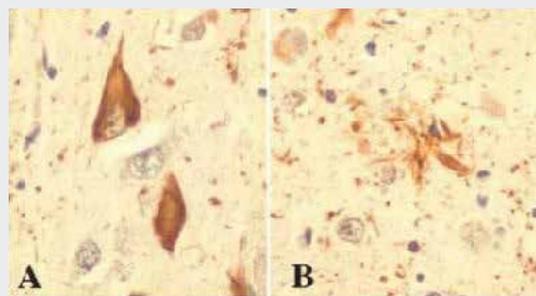
ターゲット	抗体製品番号
MAPT (Tau)	Phospho-Tau pThr Polyclonal Antibody (44-738G)
MAP1	MAP1 Polyclonal Antibody (PA5-19995)
MAP2	MAP2 Polyclonal Antibody (PA5-17646)
Vimentin	Vimentin Monoclonal Antibody (Vimentin-SP20, gp100-HMB45) (MA5-14435)
Actin	Actin Monoclonal Antibody (mAbGEa) (MA1-744)
Ubiquitin	Ubiquitin Antibody (10HCLC), ABfinity™ Rabbit Oligoclonal (710362)



**Vimentin Mouse Monoclonal Antibody (V9)** 抗ビメンチン抗体で染色したヒト骨肉腫の免疫組織化学分析 (製品番号 MA5-11883)



**Pan Actin Antibody, Biotin Conjugate (ACTN05 (C4))** 抗アクチンモノクローナル抗体 (製品番号 MA5-11869) および Thermo Scientific™ DyLight標識二次抗体とインキュベーションしたNIH-3T3細胞の細胞質内の染色されたアクチン (緑色) の免疫蛍光分析。F-アクチン (赤色) は赤色蛍光ファロイジン、核 (青色) はHoechst色素またはDAPIで染色。



**Ubiquitin Mouse Monoclonal Antibody (Ubi-1)** 抗ユビキチン抗体 (製品番号 MA1-10035) で染色したアルツハイマー病患者由来海馬組織の免疫組織化学分析。

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

# 3

当社では、定量ソリューションとして、高品質の一次および二次抗体の幅広いポートフォリオに加えて、ELISA用試薬およびアクセサリ、単一ターゲット解析用の抗体ペア、ならびに神経生物学および他の研究分野用の簡便ですぐに使える完全なELISAキットを提供しています。

## 神経生物学用ELISA

神経生物学用ELISAキットは、神経疾患の研究や神経科学関連の研究を支援するためにデザインされた高品質ELISAキットです。これらの“neuroELISA”キットは、脳脊髄液 (CSF)、細胞培養上清、初代ニューロンライセート、および脳組織サンプルなどのサンプルタイプにおけるAβ、タウ、およびα-シヌクレインタンパク質の正確、高感度、かつ迅速な定量を可能とするようにデザインされています。

神経生物学用ELISAに加えて、当社には下記の代表的ELISA製品カテゴリーがあります。

- リン酸ELISA
- サイトカインおよびケモカインELISA

## 当社の神経生物学用ELISAキットの利点

- 数百件の神経科学分野の査読論文に引用
- ELISA市場で25年の実績
- 厳格なバリデーション—感度、ダイナミックレンジ、精度、特異性、回収率、およびロット間の一貫性などの業界基準の規格に適合し、信頼性のある結果を実現
- 簡便—あらかじめコーティングされたプレート、捕捉抗体および検出抗体、スタンダード、バッファー、ならびにアクセサリ—試薬を含む、ready-to-useのキット

アッセイキット	製品番号	当社の ELISA キットに関する代表的な文献
TAU [pT231] Phospho-ELISA Kit, Human	(KHB8051)	Yu SY, Zuo LJ, Wang F et al. (2014) Potential biomarkers relating pathological proteins, neuroinflammatory factors and free radicals in PD patients with cognitive impairment: a cross-sectional study. <i>BMC Neurol</i> 22;14:113.
TAU (total) ELISA Kit, Human	(KHB0041)	Sivaprakasam P, Han X, Civiello RL et al. (2015) Discovery of new acylaminopyridines as GSK-3 inhibitors by a structure guided in-depth exploration of chemical space around a pyrrolopyridinone core. <i>Bioorg Med Chem Lett</i> 1;25(9):1856–1863.
TAU [pS199] Phospho-ELISA Kit, Human	(KHB7041)	Petroni D, Tsai J, Agrawal K (2012) Low-dose methylmercury-induced oxidative stress, cytotoxicity, and tau-hyperphosphorylation in human neuroblastoma (SH-SY5Y) cells. <i>Environ Toxicol</i> 27(9):549–555.
TAU [pS396] Phospho-ELISA Kit, Human	(KHB7031)	Mohamed NE, Zhao Y, Lee JH et al (2011) Upregulation of AMPA receptor GluR2 (GluA2) subunits in subcortical ischemic vascular dementia is repressed in the presence of Alzheimer's disease. <i>Neurochem Int</i> 58(7):820–825.
TAU [pT181] Phospho-ELISA Kit, Human	(KHO0631)	Saman S, Kim W, Raya M et al. (2012) Exosome-associated tau is secreted in tauopathy models and is selectively phosphorylated in cerebrospinal fluid in early Alzheimer disease. <i>J Biol Chem</i> 3;287(6):3842–3849.
TAU (total) ELISA Kit, Mouse	(KMB7011)	Hunter CL, Bimonte-Nelson HA, Nelson M et al. (2004) Behavioral and neurobiological markers of Alzheimer's disease in Ts65Dn mice: effects of estrogen. <i>Neurobiol Aging</i> 25(7):873–884.
alpha-Synuclein ELISA Kit, Human	(KHB0061)	Rong H, Jin L, Wei W et al. (2015) Alpha-synuclein is a potential biomarker in the serum and CSF of patients with intractable epilepsy. <i>Seizure</i> 27:6–9.
Amyloid beta (APP) ELISA Kit, Human	(KHB0051)	Li YC, Chen Q, Wan XZ et al. (2011) Effects of conjugated linoleic acid on cleavage of amyloid precursor protein via PPARγ. <i>Neurol Sci</i> 32(6):1095–1101.
Amyloid beta 40 ELISA Kit, Human	(KHB3481)	Cheng XJ, Gao Y, Zhao YW et al. (2015) Sodium chloride increases Aβ levels by suppressing Aβ clearance in cultured cells. <i>PLoS One</i> 10(6):e0130432.
Amyloid beta 40 ELISA Kit, Rat	(KMB3481)	Stygelbout V, Leroy K, Pouillon V et al. (2014) Inositol trisphosphate 3-kinase B is increased in human Alzheimer brain and exacerbated mouse Alzheimer pathology. <i>Brain</i> 137(Pt 2):537–552.
Amyloid beta 42 ELISA Kit, Human	(KHB3441)	Devi L, Tang J, Ohno M (2015) Beneficial effects of the β-secretase inhibitor GRL-8234 in 5XFAD Alzheimer's transgenic mice lessen during disease progression. <i>Curr Alzheimer Res</i> 12(1):13–21.
Amyloid beta 42 Ultrasensitive ELISA Kit, Human	(KHB3544)	Cho SM, Kim HV, Lee S et al. (2014) Correlations of amyloid-beta concentrations between CSF and plasma in acute Alzheimer mouse model. <i>Sci Rep</i> 27;4:6777.

ELISAの完全なポートフォリオについてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/findelisa](http://www.thermofisher.com/findelisa)

# アルツハイマー病の病理学および病態生理学

# 3

## バイオマーカー

ADの組織学的および解剖学的特徴に関する基礎的な科学情報は、疾患検出や疾患進行のモニタリングのための臨床的方法を開発するために使用されてきました。現在では、数多くのイメージング法およびタンパク質バイオマーカーを検出するための技術がADの新しい治療法を開発するための臨床試験ならびに被験者の選択に日常的に使用されています。ADの臨床および実験室でのスクリーニングに使用される様々なバイオマーカーの概要を表3.5に示します。<sup>25</sup>

バイオマーカーは、客観的に測定および評価できる指標あるいは実体であり、正常な生物学的過程、発病過程、または治療に対する反応を示します。バイオマーカーが疾患に特異的であるためには、その存在、濃度、および/または活性が疾患と関連付けられている必要があります。<sup>25,32</sup> 結果的に、バイオマーカーは、疾患検出だけでなく、疾患進行のモニタリング、疾患発症の検出、治療に対する反応のモニタリング、さらに疾患の誤診を回避するためにも用いられます。<sup>25</sup>

理想的なバイオマーカーの特徴を以下に示します。

- 高選択的 (ほぼ全ての疾患サンプルで陽性を示す)
- 高特異的 (大部分の非疾患サンプルで陰性を示す)
- 疾患経過を正確に予測
- 治療に対する反応の程度を反映

ADと診断された患者の圧倒的多数は、既に認知機能が損なわれています。現在のAD研究では、バイオマーカーを使用して、症状の発症前に疾患を検出するための研究が行われています。これは、疾患の初期段階に迅速かつ効果的な治療を行い、初期に疾患進行を抑制または遅延させる新しい治療法を開発することを最終目標とするために必要不可欠です。<sup>25</sup> 生化学マーカーおよび構造マーカーならびに臨床症状の一時的な発現および蓄積を図3.9に示します。

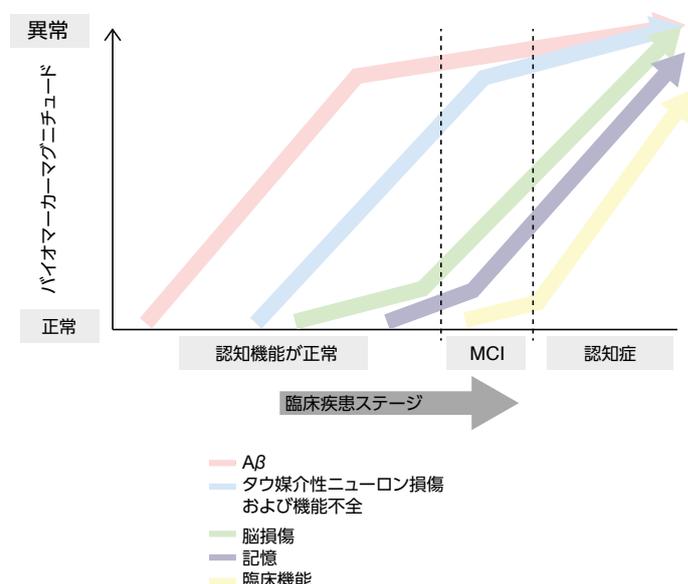


図3.9. バイオマーカーとアルツハイマー病 (AD) ステージの関係 β-アミロイド (Aβ) およびタウは脳脊髄液 (CSF) または陽電子放出断層撮影 (PET) イメージングを介して検出し、脳の構造は核磁気共鳴画像法 (MRI) を用いて評価します。ADの臨床的進行において、認知機能が正常な患者は、通常、認知症を発症する前段階の軽度認知機能障害 (MCI) に進行します。

表3.5.アルツハイマー病バイオマーカー検出のための一般的な方法

マーカー検出法	特徴
イメージング解析 CT、PET、MRI	イメージングは比較的非侵襲的。脳の構造および機能の情報の迅速な取得、AD 進行の追跡が可能。比較的高額であることによる使用制限。AD に対する感度および特異性が比較的低い。
血漿分析 Ab42、α 2- マクログロブリン、および他のタンパク質	血漿採取は最小限の侵襲 (採血) で容易に行うことが可能。AD に対する感度および特異性が比較的低いことによる使用制限。
CSF 分析 A β 42、t- タウ、p- タウ / A β 42	AD と直接相関。AD に対する感度および特異性が高い。AD 進行の追跡が可能。サンプル回収プロセスが比較的侵襲的であることによる使用制限。サンプルの不安定さが結果に影響。

# アルツハイマー病の病理学および 病態生理学

# 3



## Luminexマルチプレックス技術を用いたデータ出力の最大化

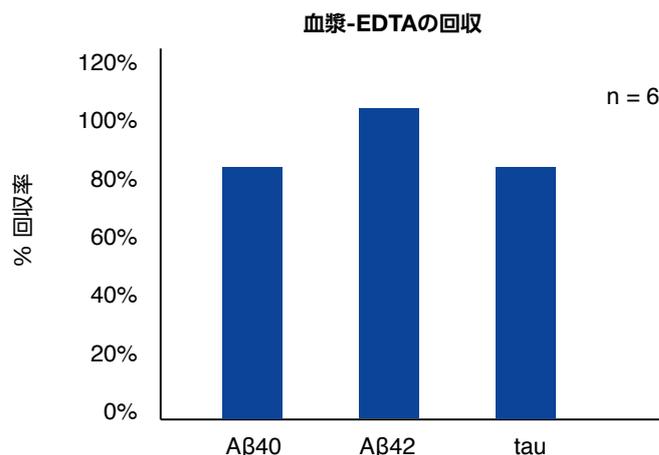
アルツハイマー病研究の成功を促進するために、当社の新しいキットは、正確で一貫した、ヒト脳脊髄液中のA $\beta$ 40、A $\beta$ 42および総タウの定量結果を提供するよう独自にデザインされています。組織ホモジネート、血漿、または組織培養上清などのサンプルタイプにも使用可能とされます。(製品番号 LHN0001M)。

## Luminex™ Platformのための Invitrogen™ Amyloid beta (A $\beta$ )/Tau Neurodegenerative Human Magnetic 3-plex Panelの導入

### 当社のキットの利点

- 3種類のターゲットの同時解析に必要なサンプルはわずか15  $\mu$ L/well
- 感度、特異性、およびロット間の一貫性などの基準について厳格な試験を行い、再現性および正確な結果を実現
- マルチプレックス解析の効率、スピード、および広いダイナミックレンジと、ELISAと同等の結果を同時に実現

当社のキットは、Luminex™ 100™、200™、FLEXMAP 3D、またはMAGPIX装置において使用するように開発されています。



回収率は、アルツハイマー病患者由来EDTA血漿サンプルに添加した組換えタンパク質を測定することにより求めました。血漿サンプルを使用した回収率は、業界基準の許容範囲内にあることが示されています。

完全なLuminexポートフォリオに関する情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/luminex](http://www.thermofisher.com/luminex)

# アルツハイマー病における 神経炎症

# 3

## 神経炎症

近年まで、神経炎症はAD進行の後期にAβが蓄積するまで発生しないと考えられていました。近年、遺伝学およびパイオインフォマティクス研究により、免疫系の活性化はAD発症前の軽度認知機能障害の段階で生じ得ることが明らかにされました。免疫系タンパク質をコードする遺伝子に変異がある患者では、組織および体液における免疫メディエーターレベルの増加とADの初期症状との間に関係がみられることが観察されています。さらに、乾癬、肥満症などの症状でみられる高レベルの炎症を有する患者においては、ADを発症するリスクが増加します。累積証拠では、神経炎症がAD発症の原因となる影響を与えていることが示されています。<sup>33,34</sup>

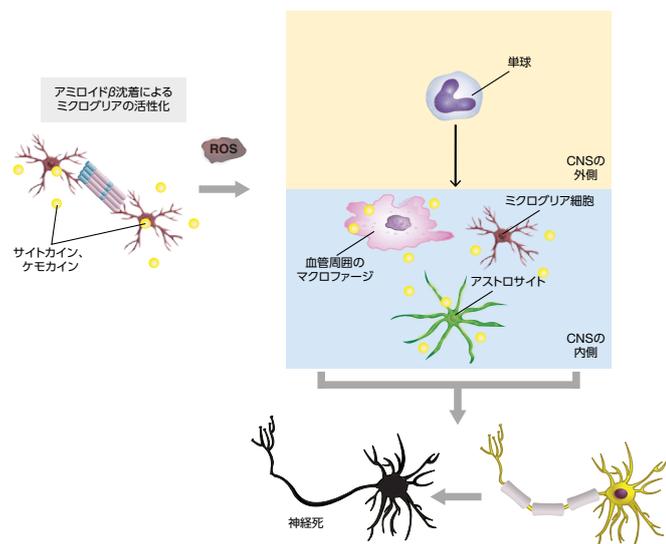


図3.10. 炎症および神経細胞死におけるミクログリア細胞およびアストロサイトの役割 アストロサイトおよびミクログリア細胞は、これらの相互活性化を導く炎症誘発因子を分泌します。サイトカイン、ケモカイン、および活性酸素種などの炎症細胞により産生したメディエーターは神経細胞死を導きます。血液脳関門の破壊は、CNSへのマクロファージ遊走を引き起こし、さらに炎症を悪化させます。

## ミクログリア細胞

ミクログリア細胞—自然免疫系の食細胞—は、ADにおける神経炎症反応を導く主要な誘因です。この特殊化した細胞は、免疫監視の役割を担い、病原体や細胞デブリを除去し、記憶形成に關与する栄養因子を分泌します。<sup>33,34</sup> AD発病中の損傷、外傷、あるいはAβ沈着の蓄積はミクログリアの活性化を導く可能性があります。アストロサイトおよびミクログリア細胞は、これらの相互活性化を導く炎症誘発因子を分泌します。サイトカイン、ケモカイン、および活性酸素種などの炎症細胞により産生したメディエーターは神経細胞死を導きます (図3.10および表3.6)。<sup>34,35</sup>

加齢およびADにおける血管炎症の証拠が数多くあるように、炎症は脳内だけでなく、BBBのレベルでも生じます。BBBの破壊は、血管腔からCNSに単球を移行させ、炎症環境をさらに悪化させます。また、AD患者の血管には、同年齢のコントロール患者と比較して、高レベルのIL-1β、IL-6、IL-8、TNF-α、TGF-β、およびMCP-1が含まれることが示されました。<sup>36</sup>

表3.6. 選択的神経炎症メディエーター

炎症誘発メディエーター	AD発症における役割
サイトカイン IL-1β IL-6 IL-12 IFN-γ TNF-α	CNSにおいて、活性化されたアストロサイトおよびミクログリアにより分泌されたサイトカインは、微小環境におけるニューロンおよび他の細胞のアポトーシスおよび壊死を誘導します。
ケモカイン SDF-1	アストロサイト、ミクログリア、およびニューロンによるケモカインの過剰発現は、AD発病と関係します。
活性酸素種 NO, ROS, O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	酸化ストレスは、微小環境における、ミクログリア誘導性のニューロンおよび他の細胞のミクログリア誘導性のアポトーシスおよび壊死を導きます。

# アルツハイマー病における 神経炎症

# 3

## 免疫療法

ミクログリア細胞は、サイトカインを分泌するだけでなく、抗原を貪食およびプロセッシングして、T細胞に提示するための小さい断片とします。抗原提示はT細胞活性化の重要な要素で、細胞系譜に依存し、活性化T細胞は細胞を死滅させるか、免疫応答を改変するためのさらなるサイトカインを産生します。

ADでは、Aβおよびタウが蓄積し、ミクログリア、B細胞、樹状細胞およびマクロファージなどの抗原提示細胞によってプロセッシングされます。<sup>37</sup> Aβおよびタウを除去するための免疫系を利用する戦略が現在進行しています。研究者たちは、能動免疫療法あるいは受動免疫療法によってAβおよびタウのレベルを低下させ、それによりADの病状の進行を遅延または停止できることを期待しています(図3.11)。

Aβまたはタウをターゲットとするワクチンやヒト化モノクローナル抗体を用いる前臨床試験では、ADの病状の軽減と神経毒性の軽減に成功しています。しかしながら、臨床試験—ADに対する能動免疫療法および受動免疫療法の両方のアプローチでは、有害反応(髄膜脳炎)、アミロイドイメージングの異常、および有効性エンドポイントに対する悪影響などの問題に遭遇しています。<sup>38,39</sup> 現在は、ADの症状発現前の投与やADに対する新しい免疫療法アプローチの開発における能動免疫療法および受動免疫療法の安全性および有効性の改善に焦点を当てて研究を進めています。<sup>38</sup>

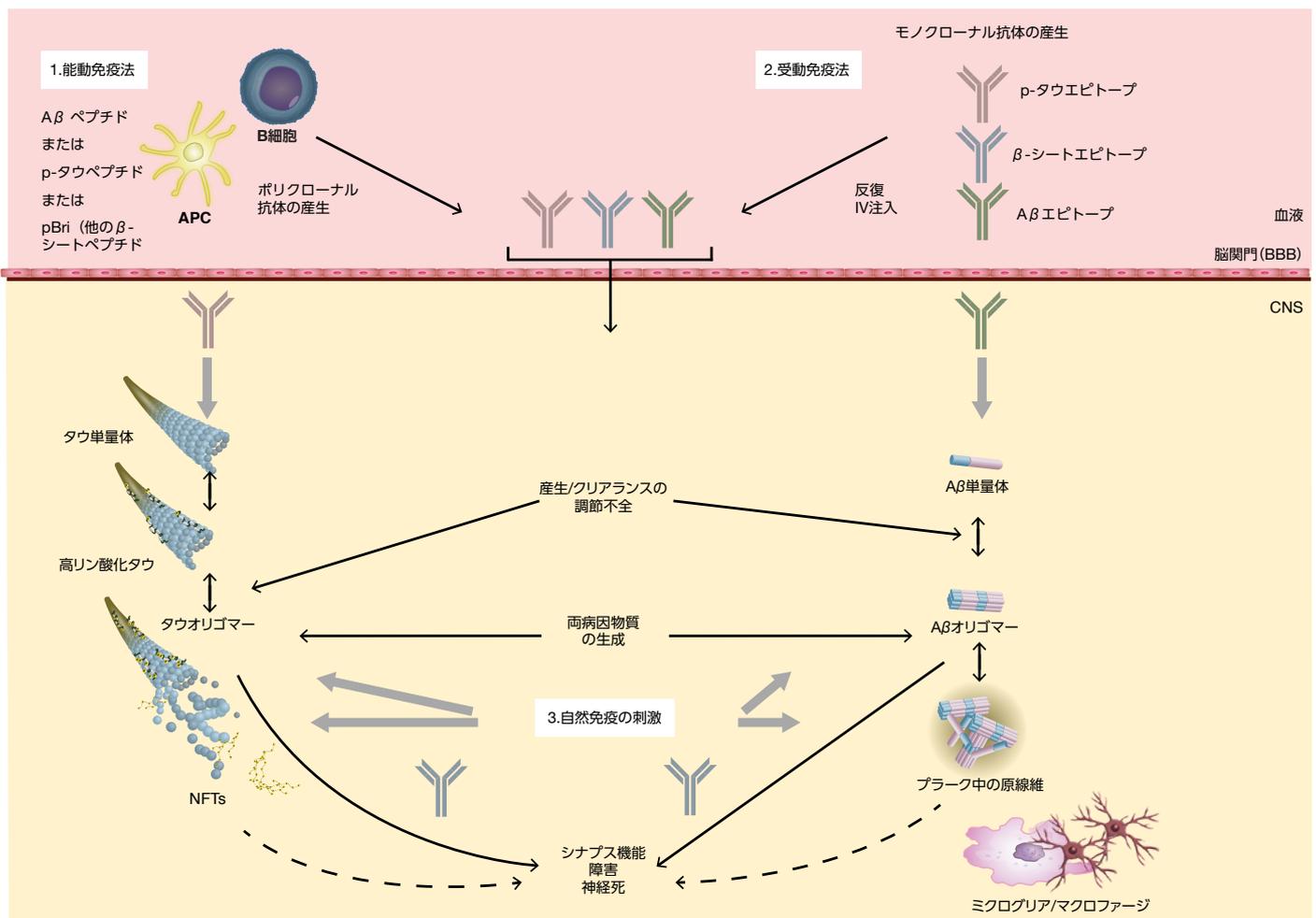


図3.11. アルツハイマー病治療のための開発中の免疫学的アプローチ Aβペプチドまたはタウペプチドを用いる能動免疫法では、患者の体内でこれらのペプチドに対する抗体産生を増加させることによって免疫反応が得られます。あるいは、外来性モノクローナル抗体を注入する受動免疫法も、Aβおよびタウの除去に使用することができます。

# 実験的治療薬のための ターゲット

# 3

神経炎症と疾患の関係の理解に対する関心は高まってきています。神経免疫系の食細胞であるミクログリア細胞は、アルツハイマー病や他の神経変性疾患における脳の炎症反応に関わる鍵となる要素であると考えられます。活性酸素種に加えて、アストロサイトおよびミクログリア細胞は、神経細胞死を導く可能性のある炎症誘発性サイトカインおよび他の因子を分泌します。

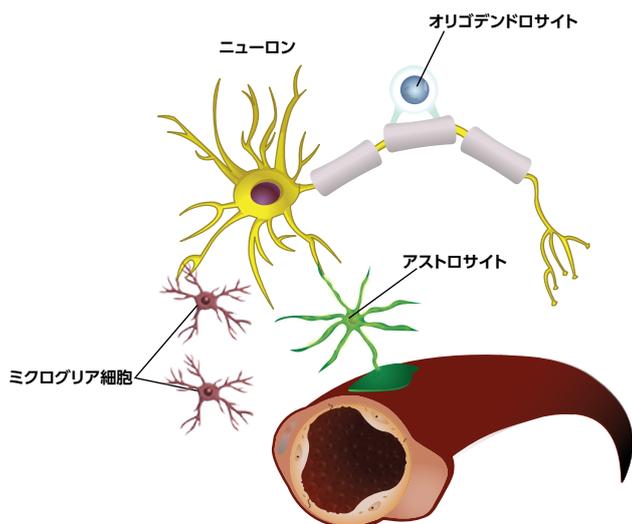


図3.7. 神経膠細胞

表 3.8. 神経膠から分泌される代表的なサイトカイン

ターゲット	抗体製品番号	アプリケーション
IL-1 beta	IL-1 beta Monoclonal Antibody, PE Conjugate (CRM56) <b>(A18489)</b>	FACS
IL-6	IL-6 Monoclonal Antibody, unconjugated (MP520F3) <b>(AMC0862)</b>	ELISA, FACS, IHC, Neu, WB
IL-12	Interleukin-12 Monoclonal Antibody (CC301) <b>(MA5-16618)</b>	ELISA, FACS, FN, WB
IFN-gamma	Interferon-gamma Monoclonal Antibody, unconjugated (B-B11) <b>(AHC4032)</b>	ELISA, FACS, Neu
TNF-alpha	TNF-alpha Monoclonal Antibody (MAb11), FITC Conjugate <b>(A18469)</b>	FACS

略語：ELISA, 酵素結合免疫吸着測定法；FACS, 蛍光標示式細胞分取器；FITC, フルオレセインイソチオシアネート；FN, 機能アッセイ；IHC, 免疫組織化学；IL, インターロイキン；Neu, 中和；WB, ウェスタンブロットニング

当社では、神経炎症について研究するための抗体アレイを幅広く取り揃えています。当社の抗体は、免疫蛍光、免疫組織化学、ELISA、ウェスタンブロットニング、フローサイトメトリーおよび他のアプリケーションを含む幅広いアプリケーションでの使用についてバリデーション済みです。

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/neuroantibodies](http://www.thermofisher.com/neuroantibodies)

**Invitrogen™ Attune™ NxT Flow Cytometer: パワフルでフレキシブル**



- モジュール式デザイン—フィールドアップグレード対応の多様な機器構成をラインナップ対応
- 所要時間を短縮—データ品質を維持したまま10倍に高速化
- 簡潔なサンプル調製—洗浄不要・溶血不要オプションによる目詰まり防止型の流体工学を採用
- ユーザー独自の用途に対応—あらゆる細胞型とサンプルを扱う複雑なプロトコルに対応

表現型解析におすすめのサイトメーターに関する詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/attune](http://www.thermofisher.com/attune)

# 実験的治療薬のための ターゲット

# 3

## アルツハイマー病の新しい治療法

アルツハイマー病の進行を回復または遅延させるための疾患修飾治療は現在存在しません。既存の治療は、認知機能低下を遅延させることにより一時的に症状を改善するもので、神経終末の神経伝達を改善することに焦点が当てられています。1つの薬剤クラスでは、アセチルコリン分解酵素であるアセチルコリンエステラーゼ (AChE) の阻害を介して神経終末のアセチルコリン (ACh) レベルを増加させます (シナプスからAChを放出させるための主要なメカニズム) (図3.11)。AD治療薬としてFDAに承認されているAChE阻害薬は、リバスタグミン、ドネペジル、およびガランタミンの3つです。さらに近年、NMDA受容体拮抗薬であるメマンチンがAD治療薬として承認されました (図3.11)。メマンチンは、グルタミン酸興奮毒性を抑制すると考えられます。<sup>8</sup>

ADの認知症状の治療に対して承認されている治療薬の作用機序は2種類だけですが、数多くの有望な実験的アプローチが行われています。ADに対する実験的アプローチの例としては、以下の戦略—アミロイドβおよびタウをターゲットとする薬剤の開発、CNSにおけるROS、アポトーシス、および炎症を阻害する薬剤の開発、ならびに神経保護および再生を促進する細胞ベースの治療の実現可能性の評価—が挙げられます。現在臨床試験中の代表的な薬剤を表3.8に示します。<sup>8,27,31,40-42</sup>

表3.8.アルツハイマー病治療薬として開発されている代表的な薬剤の例

薬剤	メカニズム	開発段階
<b>タンパク質フォールディング</b>		
NPT088	タンパク質凝集を抑制する GAIM モチーフを含有	前臨床
<b>アミロイド</b>		
ACC-001	A β に対する抗体反応を誘導するための A β フラグメント - キャリアタンパク質	第 II 相
JNJ-54861911	β - セクレターゼ阻害剤	第 II 相
EVP-0962	γ - セクレターゼ阻害剤	第 II 相
PF-04360365 (ポネズマブ)	A β 40 に対するアゴニスト / アンタゴニスト mAb	第 I 相
MABT5102A	A β (モノマーおよびオリゴマー) に対する mAb	第 II 相
LY2062430	A β に対する mAb	第 III 相
<b>タウ</b>		
AADvac1	タウに対するワクチン	第 I 相
BMS-241027 エポチロン D	低分子の微小管安定化剤	第 I 相
<b>炎症</b>		
リラプラディブ	リポタンパク質関連ホスホリパーゼ A2 (Lp-PLA2) の阻害剤	第 II 相
シンバスタチン	HMG CoA 還元酵素阻害剤	第 IV 相
<b>幹細胞</b>		
ヒト臍帯由来 MSC	幹細胞のソースおよび栄養因子	第 I/II 相

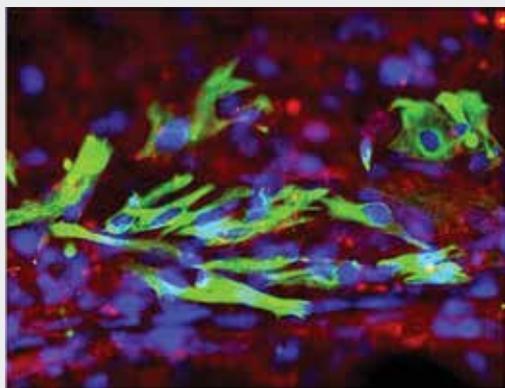
# 実験的治療薬のための ターゲット

# 3

## アルツハイマー病に対する新しい幹細胞ベースの治療

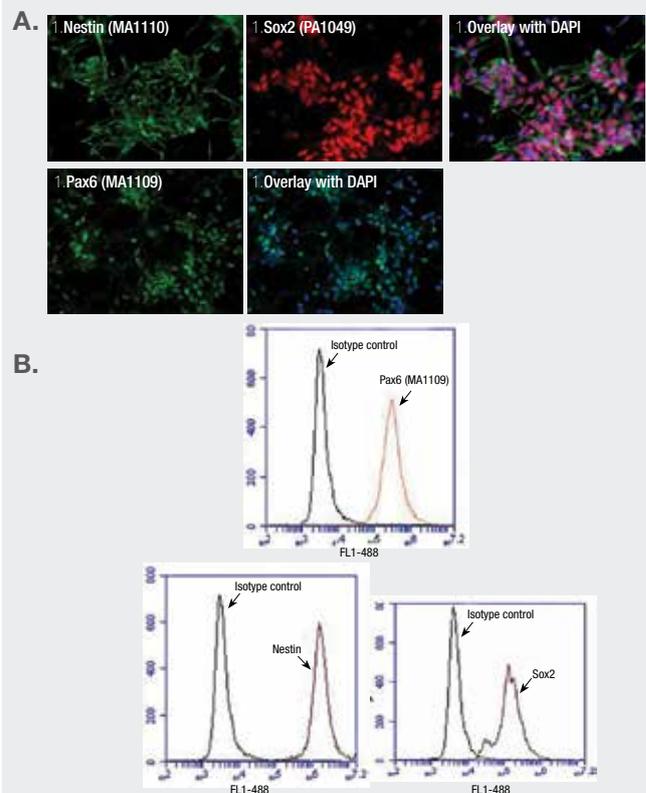
ADに対する新しい薬剤および実験的免疫療法戦略に加えて、幹細胞研究分野はこの壊滅的な疾患に対し切望されている治療法を提供するものとして非常に有望視されています。現在では、技術の進歩により、高純度かつ高濃度の神経幹細胞およびグリア幹細胞の生産が可能で、神経幹細胞 (NSC) は、胎児脳組織、新生児および成人の死後脳組織、胚性幹細胞 (ESC)、あるいは人工多能性幹細胞 (iPSC) などの数多くのソースから獲得することができます。

げっ歯類の試験では、NSC移植後にコリン作動性ニューロンの増加および記憶の改善が示されましたが、この改善は、移植されたNSCが既存の組織に組み込まれた結果か、NSCの栄養因子分泌によるものか明らかではありません。ADラットモデルを用いた一連の試験では、ヒト神経成長因子遺伝子を発現しているラットNSCは生存し、大脳皮質に組み込まれ、認知行動が増加しましたが、ヒトNGF遺伝子を含まないiNSCは生存せず、大脳皮質に組み込まれず、認知機能が改善しませんでした。<sup>2</sup>



**図3.13. CD44抗体およびGFAP抗体を用いたグリア前駆細胞およびアストロサイトの免疫蛍光分析** PD-3ドナー由来NSCをグリア分化培地で25日間誘導した。細胞は固定および透過処理した後、anti-GFAP (製品No. 18-0063) 一次抗体とAlexa Fluor 488 goat anti-Rabbit (製品番号 A-11034) (緑色) 二次抗体およびanti-CD 44一次抗体とInvitrogen Alexa Fluor 594 goat anti-mouse (製品No. A-11005) (赤色) 二次抗体で共染色した。核DNAはDAPI (青色) で染色した。

前臨床試験用の幹細胞を作製および分離する能力は、新しい臨床治療として幹細胞を研究するための道を切り開きます。ADに対する最初の幹細胞臨床試験は最近開始され (図3.13)、注入された幹細胞のMRIによる追跡に成功した例もあります。AD患者由来の幹細胞は、有望なAD治療法として開発されているだけでなく、新しい薬理療法をスクリーニングするための実験モデルとしても使用されています。<sup>43</sup>



**図3.14. iPSCからin vitroで誘導した神経幹細胞のキャラクタリゼーション** 神経幹細胞は、Gibco™ PSC Neural Induction Medium (製品番号 A1647801) を用いて、PD-3ドナー由来iPSCから誘導した。(A) anti-Nestin antibody (製品番号 MA1-110) の一次抗体に続いてDyLight 488-conjugated goat anti-mouse (製品番号 35502) (緑色) 二次抗体、anti-SOX2 (製品番号 PA1-049) 一次抗体に続いてDyLight 594-conjugated goat anti-rabbit (製品番号 35560) (赤色) 二次抗体、およびanti-Pax6 (製品番号 MA1-109) 一次抗体に続いてDyLight 488-conjugated goat anti-mouse (製品番号 35502) (緑色) 二次抗体を使用して免疫組織化学分析を行った。(B) 同じ一次抗体に続いてDyLight 488-conjugated goat anti-rabbit (製品番号 35552) で染色してフローサイトメトリー解析を行った。

神経幹細胞研究は急速に拡大してきている注目分野です。当社は、神経系統のキャラクタリゼーションのための多様なアレイリソースを提供しています。詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/stemcellantibody-hb](http://www.thermofisher.com/stemcellantibody-hb)

# 神経変性疾患のための 抗体ベースのツール

# 3



ELISA and multiplex assays

Thermo SCIENTIFIC invitrogen

**タンパク質定量ガイド**  
LuminexプラットフォームとELISAキットのための  
マルチプレックスアッセイ

Thermo Fisher  
SCIENTIFIC

生物医学研究のためのイムノアッセイ用の高品質神経生物学および他の研究領域の分野における新しい発見に貢献します。当社では、ELISAキット、Luminex装置プラットフォーム用のマルチプレックスアッセイ、および抗体ペアキットの幅広いセレクションを、簡便ですぐに使えるフォーマットで提供しています。当社の提供するタンパク質定量のためのイムノアッセイの質に関する詳しい情報、およびタンパク質定量ガイドの無料ダウンロードについてはこちらのサイトをご利用ください。

[www.thermofisher.com/jp-catalog](http://www.thermofisher.com/jp-catalog)

本ガイドは下記の情報を提供しています。

- 神経生物学用ELISAキット
- リン酸化特異的ELISAキット
- 抗体ペアキット
- Luminex装置プラットフォーム用のシングルプレックスおよびマルチプレックスアッセイ

当社のELISAキットは3,000件以上の論文で参照されており、マルチプレックスアッセイは1,000件を超える論文に引用されています。当社では、高感度で特異的な、細胞内または細胞外タンパク質の検出のために、広範囲な免疫ベースの製品を、簡便ですぐに使えるフォーマットで提供しています。当社では、単一分析物の解析用の抗体ペアキットおよびELISAキット、さらに複数ターゲット同時解析用のマルチプレックスアッセイを開発しました。当社のキットは、感度、特異性、精度、およびロット間の一貫性などの基準に関して厳格なバリデーションプロセスを通過しており、信頼性のある正確な結果を提供します。神経変性疾患研究および他の領域の生物医学研究には、Invitrogen™およびThermo Scientific™のイムノアッセイをご利用ください。

新しいガイドに必要とする製品が記載されていなくても心配ご無用です。—当社は、幅広いカスタム製品開発サービスも提供しています。こちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/buildyourownimmunoassay](http://www.thermofisher.com/buildyourownimmunoassay)

1. Stages of Alzheimer's. alz.org. [http://www.alz.org/alzheimers\\_disease\\_stages\\_of\\_alzheimers.asp](http://www.alz.org/alzheimers_disease_stages_of_alzheimers.asp). Accessed August 2015.
2. Tong LM, Fong H, Huang Y (2015) Stem cell therapy for Alzheimer's disease and related disorders: current status and future perspectives. *Exp Mol Med* 13;47:e151.
3. Bird TD. Alzheimer Disease Overview. 1998 [Updated 2014 Apr 3]. In: *GeneReviews* [Internet]. Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1161/>. Accessed August 2015.
4. 2015 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Alzheimer's association. [https://www.alz.org/facts/downloads/facts\\_figures\\_2015.pdf](https://www.alz.org/facts/downloads/facts_figures_2015.pdf). Accessed August 2015.
5. Sheng M, Sabatini BL, Südhof TC (2012) Synapses and Alzheimer's disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 1;4(5).
6. Ray M, Zhang W (2010) Analysis of Alzheimer's disease severity across brain regions by topological analysis of gene co-expression networks. *BMC Syst Biol* 4:136.
7. Moreira PI, Carvalho C, Zhu X et al. (2010) Mitochondrial dysfunction is a trigger of Alzheimer's disease pathophysiology. *Biochim Biophys Acta* 1802(1):2-10.
8. Guzior N, Wieckowska A, Panek D et al. (2015) Recent development of multifunctional agents as potential drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Curr Med Chem* 22(3):373-404.
9. Collingwood J Brain Fluid Changes Predict Alzheimer's 10 Years in Advance. Psych Central. <http://psychocentral.com/lib/brain-fluid-changes-predict-alzheimers-10-years-in-advance/>. Accessed August 2015.
10. Gendelman HE, Anantharam V, Bronich T et al. (2015) Nanoneuromedicines for degenerative, inflammatory, and infectious nervous system diseases. *Nanomedicine* 11(3):751-767.
11. 2015 Alzheimer's Statistics. Alzheimers.net. <http://www.alzheimers.net/resources/alzheimers-statistics/>. Accessed September 2015.
12. 2015 Alzheimer's Statistics. Alzheimers.net. <http://www.alz.org/dementia/types-of-dementia.asp>. Accessed August 2015.
13. Alzheimer's Disease Fact Sheet. National Institute on Aging. <https://www.nia.nih.gov/alzheimers/publication/alzheimers-disease-fact-sheet>. Accessed August 2015.
14. Lott IT, Head E (2005) Alzheimer disease and Down syndrome: factors in pathogenesis. *Neurobiol Aging*. 2005 Mar;26(3):383-389.
15. Barber RC (2012) The genetics of Alzheimer's disease. *Scientifica (Cairo)* 2012:246210.
16. Risk Factors. Alz.org. [http://www.alz.org/alzheimers\\_disease\\_causes\\_risk\\_factors.asp](http://www.alz.org/alzheimers_disease_causes_risk_factors.asp). Accessed August 2015.
17. Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E (2011) Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 1(1):a006189.
18. Apostolova LG, Green AE, Babakchanian S et al. (2012) Hippocampal atrophy and ventricular enlargement in normal aging, mild cognitive impairment (MCI), and Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 26(1):17-27.
19. Rosso AB, Inestrosa NC (2013) WNT signaling in neuronal maturation and synaptogenesis. *Front Cell Neurosci* 7:103.
20. Pescosolido N, Pascarella A, Buomprisco G et al. (2014) Critical review on the relationship between glaucoma and Alzheimer's disease. *Adv Ophthalmol Vis Syst* 1(4):00024.
21. Zhang X, Li Y, Xu H et al. (2014) The  $\gamma$ -secretase complex: from structure to function. *Front Cell Neurosci* 8:427.
22. Querfurth HW, LaFerla FM (2010) Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 362(4):329-344.
23. Sakono M, Zako T (2010) Amyloid oligomers: formation and toxicity of Abeta oligomers. *FEBS J* 277(6):1348-1358.
24. Goure WF, Krafft GA, Jerecic J (2014) Targeting the proper amyloid-beta neuronal toxins: a path forward for Alzheimer's disease immunotherapeutics. *Alzheimers Res Ther* 6(4):42.
25. Anoop A, Singh PK, Jacob RS et al. (2010) CSF biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis. *Int J Alzheimers Dis* 23;2010:606802.
26. Mandelkow E, Mandelkow EM (1995) Microtubules and microtubule-associated proteins. *Curr Opin Cell Biol* 7(1):72-81.
27. Boutajangout A, Wisniewski T (2014) Tau-based therapeutic approaches for Alzheimer's disease - a mini-review. *Gerontology*. 2014;60(5):381-385.
28. Wang JZ, Xia YY, Grundke-Iqbal I et al. (2013) Abnormal hyperphosphorylation of tau: sites, regulation, and molecular mechanism of neurofibrillary degeneration. *J Alzheimers Dis* 33 Suppl 1:S123-S139.
29. Wischik CM, Harrington CR, Storey JM (2014) Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol* 88(4):529-539.
30. Aso E, Ferrer I (2013) Potential Therapeutic Strategies to Prevent Progression of Alzheimer to Disease States. Chapter 11 in: *Understanding Alzheimer's Disease*. Intech <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/43125.pdf>. Accessed August 2015.
31. Kumar A, Singh A, Ekavi AS (2015) A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Rep* 67(2):195-203.
32. Puntmann VO (2009) How-to guide on biomarkers: biomarker definitions, validation and applications with examples from cardiovascular disease. *Postgrad Med J* 85(1008):538-545.
33. Heppner FL, Ransohoff RM, Becher B. (2015) Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci* 16(6):358-372.
34. Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J et al. (2015) Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 14(4):388-405.
35. Morales I, Guzmán-Martínez L, Cerda-Troncoso C et al. (2014) Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches. *Front Cell Neurosci* 22;8:112.
36. Marques F, Sousa JC, Sousa N et al. (2013) Blood-brain-barriers in aging and in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 22;8:38.
37. Li Y, Tan MS, Jiang T et al. (2014) Microglia in Alzheimer's disease. *Biomed Res Int* 2014:437483.
38. Yang C, Xiao S (2015) New developments of clinical trial in immunotherapy for Alzheimer's disease. *Curr Pharm Biotech* 16(6):484-491. <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpb/2015/00000016/00000006/art00002?toKen=00431021437a63736a6f35475f4c7a763c24452a5b6f644a467b4d616d3f4e4b342>. Accessed August 2015.
39. Wisniewski T, Goñi F (2015) Immunotherapeutic approaches for Alzheimer's disease. *Neuron* 18;85(6):1162-1176.
40. Han SH, Mook-Jung I (2014) Diverse molecular targets for therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *J Korean Med Sci* 29:893-902.
41. Kang JH, Ryoo NY, Shin DW et al. (2014) Role of cerebrospinal fluid biomarkers in clinical trials for Alzheimer's disease modifying therapies. *Korean J Physiol Pharmacol* 18(6):447-456.
42. Jia Q, Deng Y, Qing H et al. (2014) Potential therapeutic strategies for Alzheimer's disease targeting or beyond  $\beta$ -amyloid: insights from clinical trials. *BioMed Res Int* 837157
43. ALZFORUM/Networking for a Cure. Ready or Not: Stem Cell Therapies Poised to Enter Trials for Alzheimer's. <http://www.alzforum.org/news/conference-coverage/ready-or-not-stem-cell-therapies-poised-enter-trials-alzheimers>. Accessed August 2015.

詳細はこちら [www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. Hoechst is a trademark of Hoechst GmbH. Luminex is a trademark of Luminex Corporation.

# 他の主要な 神経変性疾患

## イントロダクション

1つの神経変性症状を他の明確に異なる症状と識別し分類するための境界線はよく認識されています。認知機能障害および運動機能障害の患者は、高頻度で1つ以上の明確な神経変性疾患の神経学的病状が疑われ、また複数の病態マーカーの存在は神経学的障害の増加と関係します。しかしながら、ケースによっては、病態マーカーで検出された症例に明白な障害の兆候が見られないこともあります。このような状況において、決定的な疾患分類を確立することは、神経変性疾患の診断、治療、および研究における課題です。

アルツハイマー病、レビー小体型認知症、パーキンソン病、および他の症状などの様々な症候群の間には、高頻度にオーバーラップが存在するにも関わらず、この疾患グループを定義するために伝統的に使用されている明確な病態マーカーを評価することは、研究者が神経毒性および神経変性に寄与する発症機序の解明を始めることを可能とするフレームワークを提供することになります。



## 目次

パーキンソン病	4-2	多発性硬化症	4-12
ハンチントン病	4-6	リファレンス	4-17
筋委縮性側索硬化症	4-9		

# パーキンソン病

# 4

## パーキンソン病の特徴

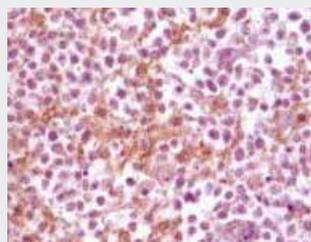
パーキンソン病 (PD) は、運動機能不全を特徴とする進行性の神経変性疾患です。<sup>1</sup> PDは、パーキンソニズムの最も一般的な形態で、筋振戦および筋固縮、動作緩慢、姿勢の不安定、ならびに歩行障害によって特徴付けられる全ての臨床障害を包含します。PDを発症した患者の5人に1人は認知症も発症します。孤発性PDの症状は一般的に60歳前後で発症しますが、若年発症者はこの疾患の遺伝型を持っていることが考えられます。PDは、非対称性四肢硬直やレボドパ (L-3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン; L-DOPA) による治療に対する反応などの臨床所見に基づいて診断されます。<sup>2,3</sup> L-DOPAまたはドーパミンアゴニストによる治療により 運動症状は改善されますが、疾患進行を変化させることはできません (図4.1)。疾患の経過において、大部分の患者は、乾癬、抑うつ症状、認知症、自律神経障害、睡眠障害、および疼痛などの非運動性の症状を経験します。<sup>1</sup>

## PDの遺伝子変異体

大部分のPD患者は孤発性疾患ですが、わずかに10%の患者には家族歴が存在します。これにも関わらず、約20年間の研究によって、優性または劣性の遺伝形式を持つ数種のPDの単一遺伝子形態が発見されました。PDは、PDとの関連性を示すPARKと呼ばれる特定の遺伝子座に基づいて分類することができます。単一遺伝子性のPDでは、6種類の遺伝子が確認されています。このうち、SNCA (PARK1) およびLRRK2 (PARK8) は、いずれも常染色体優性の遺伝形式を示し、parkin (PARK2)、PINK1 (PARK6)、DJ-1 (PARK7)、およびATP13A2 (PARK9) は、劣性の遺伝形式を示します (表4.1)。<sup>4-6</sup> 他の遺伝子は、PD発症の単独の要因とはなりませんが、PDを発症させるリスクを増加させる可能性があります。例えば、GBA1遺伝子はリソソームグルコセレブロシダーゼをコードしますが、GBA1遺伝子における変異は孤発性PDの発症リスクの増加に関連するタンパク質機能を低下させます。<sup>4,7,8</sup>

表4.1.PDへの関与が確認されている単一遺伝子PARK

遺伝子	ターゲット	疾患	Inheritance	抗体製品
SNCA	PARK1	早期発症 PD	常染色体優性	SNCA Antibody (2B2D1, 2B2A11) (MA5-15290)
Parkin	PARK2	早期発症 PD	常染色体劣性	Park 2 Antibody (PA5-13399)
PINK1	PARK6	早期発症 PD	常染色体劣性	PINK 1 Antibody (PA5-23072)
DJ-1	PARK7	早期発症 PD	常染色体劣性	PARK7 / DJ-1 Antibody (E2.1) (37-8800)
LRRK2	PARK8	古典的 PD	常染色体優性	LRRK2 Antibody (PA1-16770)
ATP13A2	PARK9	Kufor-Rakeb 症候群; 認知症を伴う非定型 PD	常染色体劣性	ATP13A2 Antibody (PA1-16975)



SNCA Mouse Monoclonal Antibody (2B2D1, 2B2A11)  
抗SNCA抗体 (製品番号 MA5-15290) を用いたパラフィン包埋ヒトグリオーマ組織の免疫組織化学分析

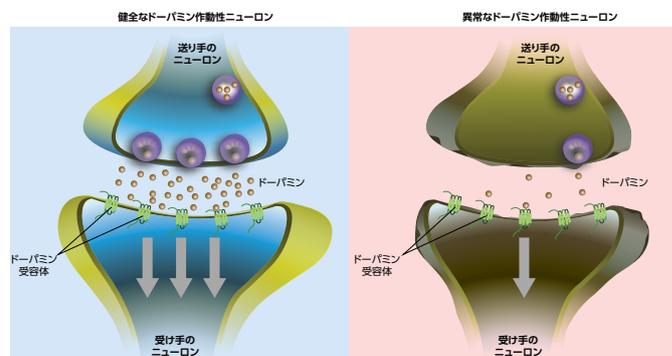


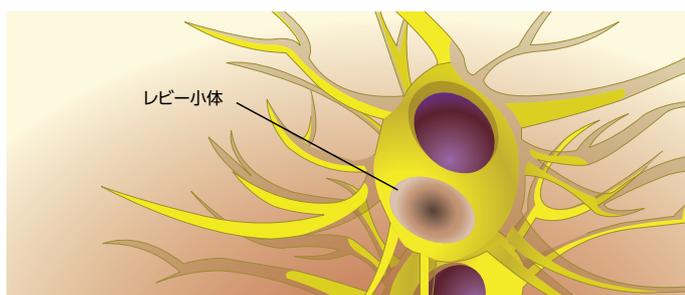
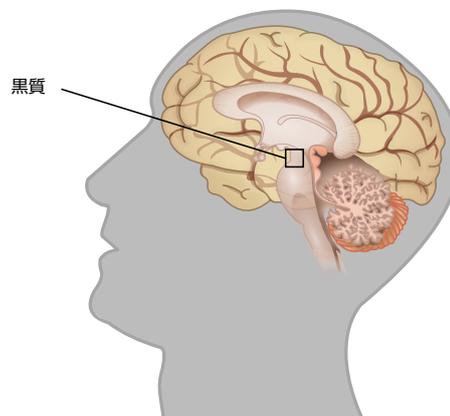
図4.1. PDの症状は、体内で代謝されドーパミンを産生するレボドパの投与により改善可能

# パーキンソン病

# 4

## PDの顕著な特徴

数多くの様々な疾患がPDと共通する特徴を持ちますが、孤発性PDに関連する重要な特徴は黒質におけるドーパミン作動性ニューロンの喪失とレビー小体の存在、主に $\alpha$ -シヌクレインからなる細胞質内凝集体です。<sup>2</sup> PD患者由来の死後脳の研究において、 $\alpha$ -シヌクレインの免疫反応性が細胞体および不溶性線維としての神経突起を通して確認され、それぞれレビー小体およびレビー神経突起として可視化されました。 $\alpha$ -シヌクレインの凝集は、PD患者の広範囲の脳領域で検出され、アルツハイマー病およびレビー小体型認知症などの他のシヌクレイン病にも存在します。<sup>9,10</sup>



レヴィー小体



**Synuclein alpha Rabbit Polyclonal Antibody**  $\alpha$ -シヌクレイン抗体 (製品番号 PA5-16738) を用いたホルマリン固定パラフィン包埋ヒト脳組織の免疫組織化学分析。ニューロンにおけるレヴィー小体の染色に注目してください。

## $\alpha$ -シヌクレイン

$\alpha$ -シヌクレインは、ホスホリパーゼD2を阻害する神経シナプス前タンパク質で、SNCA遺伝子 (PARK1遺伝子座) にコードされています。 $\alpha$ -シヌクレインに対する抗体は、 $\alpha$ -シヌクレインがレヴィー小体の主要成分であることを決定するために使用されてきました。<sup>9,11</sup> 野生型 $\alpha$ -シヌクレインは線維凝集体を形成し、多くの様々な $\alpha$ -シヌクレイン変異体は、増強されたレヴィー小体形成能を示します。<sup>12</sup>  $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子の過剰なコピーや特定のミスセンス変異 (A53TおよびA30P) は家族性PDの早期発症に関係します。<sup>12</sup>  $\alpha$ -シヌクレインのタンパク質ミスフォールディングは、野生型タンパク質の過剰発現、野生型 $\alpha$ -シヌクレインの発現に対する反応、ならびに酸化的ストレスおよび炎症に対する反応として生じる可能性があります。近年の研究では、チロシンキナーゼc-Ablのレベルおよび活性の増加が $\alpha$ -シヌクレイン蓄積の増加を導いていることが示唆されています。c-Abl阻害薬であるニロチニブ (FDA承認済みの慢性骨髄性白血病治療薬) は、PDマウスモデルにおいて神経保護作用およびドーパミンレベルの回復作用を示しました。<sup>13,14</sup>

## $\alpha$ -シヌクレイン抗体

抗体製品番号	当社の抗体に関する代表的な文献
Alpha Synuclein Antibody (14H2L1), ABfinity Rabbit Monoclonal (701085)	Coelho-Cerqueira E, Carmo-Gonçalves P, Pinheiro AS et al. (2013) $\alpha$ -Synuclein as an intrinsically disordered monomer—fact or artifact? <i>FEBS J</i> 280(19):4915–4927.
SNCA Monoclonal Antibody (2B2D1, 2B2A11) (MA5-15290)	Sánchez-Danés A, Richaud-Patin Y, Carballo-Carbaja I et al. (2012) Disease-specific phenotypes in dopamine neurons from human iPS-based models of genetic and sporadic Parkinson's disease. <i>EMBO Mol Med</i> 4(5):380–395.
Pan Synuclein Polyclonal Antibody (PA1-38705)	Seidel K, Schöls K, Nuber S et al. (2010) First appraisal of brain pathology owing to A30P mutant alpha-synuclein. <i>Ann Neurol</i> 67(5):684–689.
Phospho-alpha Synuclein pSer129 Polyclonal Antibody (PA1-4686)	Khandelwal PJ, Dumanis SB, Herman AM et al. (2012) Wild type and P301L mutant Tau promote neuro-inflammation and $\alpha$ -Synuclein accumulation in lentiviral gene delivery models. <i>Mol Cell Neurosci</i> 49(1):44–53.

# パーキンソン病

# 4

## 病態生理学

野生型 $\alpha$ -シヌクレインは、シナプス伝達の調節および神経終末からの神経伝達物質の放出に関与している可能性が示唆されています。<sup>15</sup> また、 $\alpha$ -シヌクレインは神経保護の役割も担っていると考えられます。例えば、 $\alpha$ -シヌクレインを発現させ、シャペロンタンパク質であるシステイン-ストリング-タンパク質- $\alpha$  (CSP $\alpha$ ) を欠損させたトランスジェニックマウスでは、神経変性の早期発症および神経細胞死からレスキューされました。反対に、 $\alpha$ -シヌクレインノックアウトモデルでは、CSP $\alpha$ 媒介神経変性が悪化しました。<sup>16</sup> 野生型 $\alpha$ -シヌクレインは神経保護作用を有するとされるだけでなく、 $\alpha$ -シヌクレインの凝集はドーパミン作動性ニューロンの変性に関係し、最終的に無数の運動神経の後遺症を引き起こすという数多くのエビデンスが存在します。<sup>17</sup>

変異および環境因子は、オリゴマーを形成するミスフォールドした $\alpha$ -シヌクレインタンパク質の産生を導きます。これらの異常タンパク質は蓄積し、正常なリソソームおよびプロテアソームの除去機構を回避します。 $\alpha$ -シヌクレインの凝集は、酸化ストレスを誘導し、軸索輸送を障害し、シナプス機能障害を起こし、ミトコンドリア機能不全を促進することが示されています。疾患の進行は、部分的に、ミスフォールドしたタンパク質がニューロンからニューロンへと広がることによって生じると考えられます (図4.2)。<sup>10</sup>

表4.2.パーキンソン病に関するタンパク質の選択

ターゲット	神経変性における役割	抗体製品番号
CSP Alpha	CSP $\alpha$ (神経伝達物質の放出に関与するSNARE複合体の構築に必要とされるシャペロンタンパク質) の調節不全が異常なドーパミン放出に関係	Cysteine String Protein $\alpha$ Antibody (PA1-776)
DJ-1	シャペロンタンパク質 DJ-1 の機能喪失が酸化ストレスの増加、ミスフォールドしたタンパク質の蓄積、およびドーパミン産生細胞の喪失に関係	DJ-1 Antibody (PA1-32440)
LRRK2	ロイシンリッチリピートセリン/スレオニン-タンパク質キナーゼの突然変異体が異常な炎症反応、過剰な酸化ストレス、ミトコンドリア機能不全、シナプス機能障害および異常なオートファジー機能に関係し、PD発症を促進	LRRK2 Antibody (PA5-29629)
Parkin	パーキン E4 ユビキチンリガーゼの喪失がドーパミン作動性ニューロンに対し毒性を示す細胞内タンパク質の蓄積に寄与	Parkin Antibody (PRK109) (39-0900)

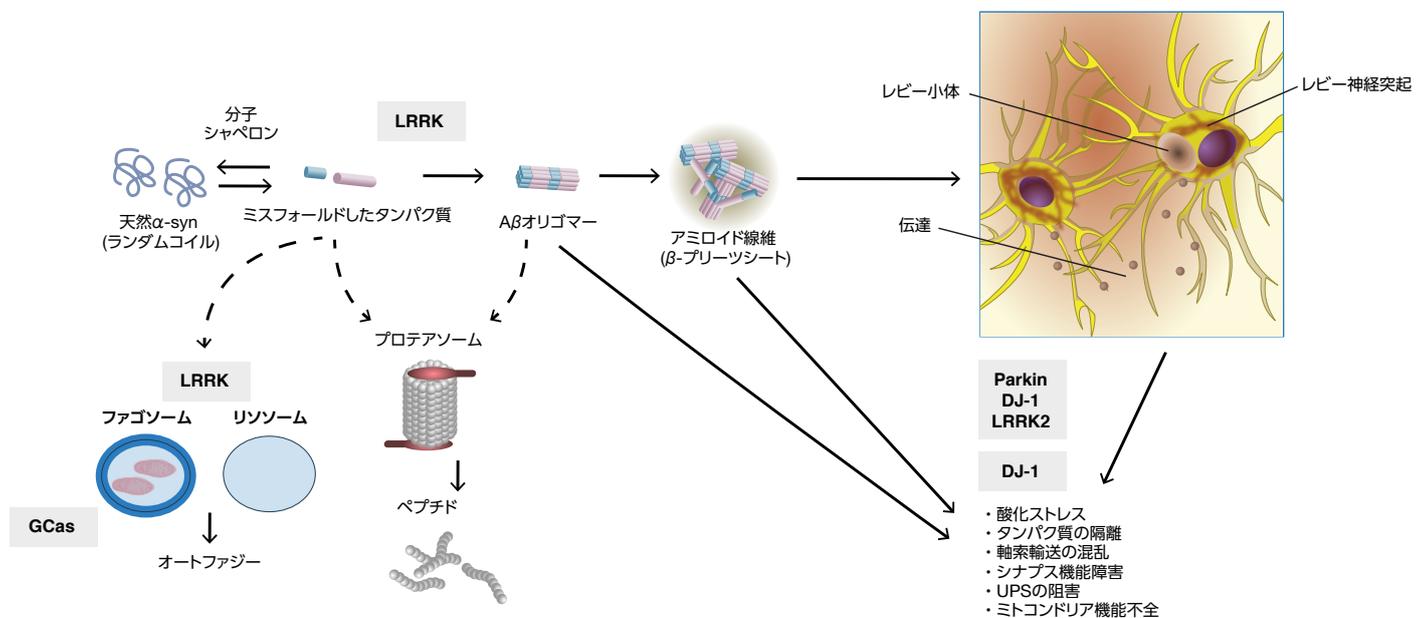


図4.2. パーキンソン病の進行に関するメカニズム

# パーキンソン病

# 4

## 既存の治療法

PDに関連する運動症状は、黒質におけるドーパミン作動性ニューロンの喪失が原因です。既存の治療アプローチの多くは、ドーパミン神経伝達の増強を目標としています（表.3）。<sup>18</sup> このような戦略は非常に効果的ですが（特に疾患発症時）、時間の経過とともに、これらの治療法は一連の運動性の副作用を伴います。また、PDの進行に伴い、非ドーパミン作動性の運動症状および非運動症状が顕著になってきます。このため、将来のPD治療法の探索は、神経保護および疾患修飾を戦略とします。<sup>19</sup>

## 実験的治療

パーキンソン病の新しい治療戦略としては、炎症、酸化、アポトーシス、およびタンパク質のミスフォールディング/凝集などの疾患プロセスの阻害が挙げられます。これらの治療アプローチについては、PDの疾患修飾療法として探索されてきているか、現在探索中ですが、幹細胞を使用した新しい技術を用いる治療法の一部では臨床試験が開始されています。また、リプログラミング因子の異所性発現を介して患者の成熟細胞由来の人工多能性幹細胞 (iPSC) を作製する能力は、幹細胞研究に変革をもたらしています。<sup>20</sup> 将来的には、患者由来IPSCを神経変性疾患モデルや治療薬の開発に使用するだけでなく、PD患者に対する細胞ベースの療法としての開発の可能性も秘めています。<sup>19,21-22</sup>

表4.3.パーキンソン病の既存の治療法

薬剤クラス	薬剤
カルビドパ / レボドパ療法	カルビドパ / レボドパ カルビドパ / レボドパ / エンタカポン
ドーパミン作動薬	アポモルフィン ブロモクリプチン ロチゴチン プラミペキソール ロピニロール
抗コリン作用薬	ベンズトロピン トリヘキシフェニジル
MAO-B 阻害薬	セレギリン ラサギリン
COMT 阻害薬	エンタカポン トルカポン
その他	アマンタジン ドロキシドパ リバスチグミン

当社の抗体ベースツールの幅広いポートフォリオについてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

# ハンチントン病

# 4

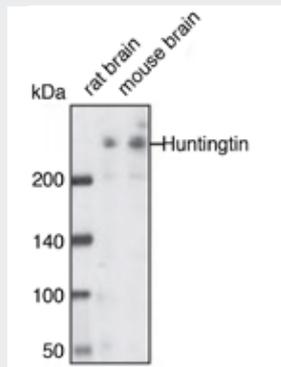
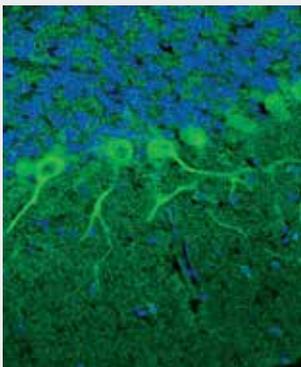
## ハンチントン病の特徴

ハンチントン病 (HD)は、進行性で、通常遺伝性の、典型的な三大症状を特徴とする神経変性疾患です (表4.4)。<sup>23</sup> 症状の平均発症年齢は約35~44歳ですが、10%の症例では幼児期に発症します。<sup>24,25</sup> ハンチントン病の生存期間の中央値は一般的には発症年から15~18年です。<sup>27</sup> 現在、HDの進行を遅延または停止させる治療は存在しません。<sup>28</sup> 本疾患の自然経過には、明らかな疾患に先行して微妙な変化を来す“前駆”段階も存在します。(図4.3)。<sup>25</sup>

研究の重要な新領域の1つは、前駆段階における微妙な変化を検出するバイオマーカーの同定です。早期の医療介入につながり、創薬努力を前進させる早期発見を可能とし、さらに疾患進行の追跡も可能とするバイオマーカーの開発は急務とされています。これらのバイオマーカーは、早期医療介入のための治療法の提案を可能とします。<sup>26</sup>

表4.4.ハンチントン病の三大症状/特性/特徴

運動障害	例：舞踏病 (不規則な不随意運動)
精神障害	行動および人格の変化、抑うつ症状
認知障害	短期間の記憶喪失および認知症につながる他の機能障害



**Huntingtin Rabbit Polyclonal Antibody (左)** 抗ハンチンチン抗体 (製品番号 A16554) (緑色)。を用いた成体ラット脳の共焦点免疫蛍光分析。青色の擬似カラーを産生させるために蛍光DNA色素を使用。  
**(右)** 抗ハンチンチン抗体を用いたラット脳およびマウス脳からの抽出物のウェスタンブロット解析。

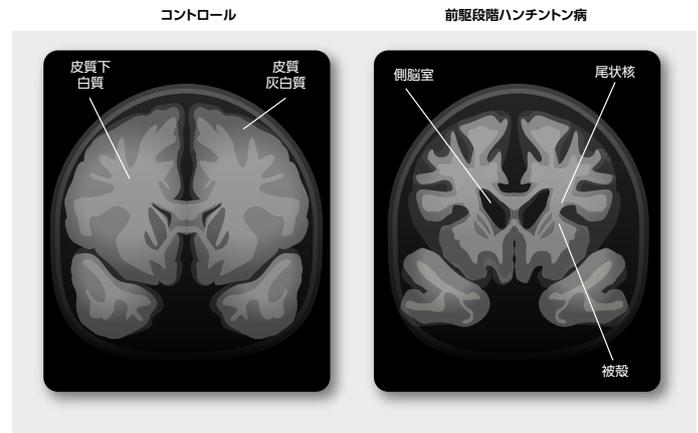


図4.3. イメージング用バイオマーカー 核磁気共鳴画像法は、HDや他の神経変性状態が生じている脳内の変化を可視化するために汎用されています。この画像は、健全な脳とHD前駆段階 (診断前段階) の患者の脳の比較です。

## HDの原因

HDの遺伝型は常染色体優性遺伝形式を示すため、1つの異常なハンチンチン遺伝子 (*HTT*) アレルが受け継がれた子孫にこの疾患が発現します。孤発性 (非遺伝性) のHD症例は稀で、5~8%のHD症例にみられます。<sup>25</sup> HDは、*HTT* 遺伝子領域をコードするN末端に存在するCAGリピートの異常伸長を原因とするCAGリピート病に分類されます。CAGリピートは、ポリQ伸長と呼ばれる連続するグルタミン (Q) 残基をコードします。その長さは疾患の浸透率と病原性を決定します (図4.4)。<sup>23,25</sup> 発病に至る伸長をしたCAGアレルは、神経細胞死を引き起こす神経毒性を持つ断片化された凝集体を形成するハンチンチンタンパク質を産生する機能獲得型変異として作用します。<sup>25</sup>

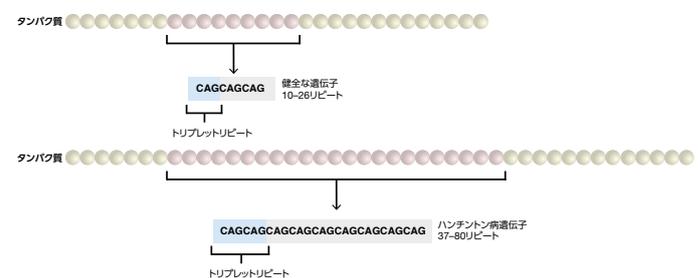


図4.4. *HTT* 遺伝子中のCAGリピート 発症年齢とハンチンチン断片の凝集はCAGリピートの長さに相関しますが、HDの進行速度もCAGリピートの長さの影響を受けているかについては明らかにされていません。

# ハンチントン病

# 4

## 病態生理学

広範囲にわたる神経損傷および皮質変性は、認知障害および人格変化の主な原因です。大脳基底核—特に、淡蒼球 (GPeおよびGPIニューロン) ならびに線条体—のニューロンの喪失は、舞踏病の主な原因です。<sup>29,30</sup> 線条体におけるニューロンの喪失は、運動機能を制御する2つの皮質-線条体-視床回路 (皮質→線条体→視床) を障害します。これらの回路 (直接路および間接路) は、運動皮質に信号を送る視床で合流します。パーキンソン病とは対照的に、黒質のドーパミン作動性ニューロンは影響を受けないため、実際、HD患者の線条体におけるドーパミンレベルは正常値より高いです。<sup>31</sup> ドーパミンレベルの上昇は舞踏病にも寄与します。

細胞内で、ハンチンチンは、完全長タンパク質としても、タンパク質分解や選択的スプライシング由来のタンパク質断片としても存在します。これらの断片の形成—特にハンチンチンの最初の100アミノ酸を含むN末端断片 (例: HTTエクソン1モノマー)—は、ハンチントン病の病態形成に必要とされます。変異ハンチンチン (mHtt) 凝集体は、ニューロン遺伝子の転写、軸索輸送、およびミトコンドリア機能に悪影響を与えます (図4.5)。ポリQ拡張は、自己凝集を毒性形態に促進させるこれらの断片に代わるコンフォメーションをもたらすと考えられます。<sup>25</sup> ポリQ拡張はN末端断片と、神経細胞における小胞輸送の役割を担うハンチンチン相互作用タンパク質1 (HIP-1) のような結合パートナーやmHttによって調節不全される他のタンパク質との相互作用の仕方も変化させる可能性があります。(表4.5)。<sup>25</sup>

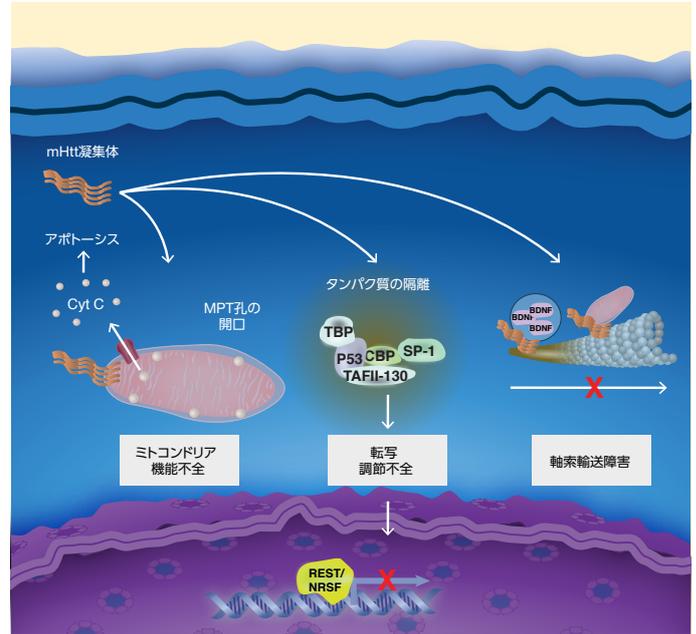


図4.5. HDの進行における変異HTTの役割

表4.5.ハンチントン病に関する選択タンパク質

ターゲット	神経変性における役割	抗体製品番
HIP-1	ハンチンチン mHtt/HIP-1 相互作用の解離は中型有棘ニューロンにおけるアポトーシスを誘導する。	Huntingtin Interacting Protein 1 Antibody (4B10) <b>(MA1-16747)</b>
Rest/NRSF	mHtt は、神経分化および細胞機能に関する複数の神経特異的遺伝子の転写抑制に必要とされる核因子である RE1- サイレンシング転写因子 / ニューロン制限的サイレンサー因子の調節不全を引き起こす。	REST/NRSF Antibody <b>(PA5-19554)</b>
BDNF	mHtt は、軸索輸送およびニューロン生存に必要とされる生存促進因子である脳由来神経栄養因子 (BDNF) のレベルを減少させる。	BDNF Antibody (19HCLC), ABfinity Rabbit Oligoclonal <b>(710306)</b>

# ハンチントン病

# 4

## ターゲットおよび有望な治療薬

既存の治療は、疾患を予防または遅延させるよりも、症状の重篤度を軽減させるために使用されています。シナプス小胞アミントランスポーター阻害剤かつドーパミン経路阻害剤であるテトラベナジンは、ハンチントン病に伴う舞踏運動に対する唯一のFDA承認薬です。<sup>26</sup> HDに対する新しい治療アプローチの開発の一環としてのバイオマーカーの同定は、HDの存在および重篤度の評価を可能とし、薬剤の活性および副作用に関する情報を提供し、無症状期または前駆期の期間に疾患を予測するマーカーを同定します。これらのバイオマーカーは治療のためのターゲットも同定します。既存の有望な新しいバイオマーカーは、HD患者および対照群の個体間の認知的、電気生理学的、解剖学的、生化学的、あるいは分子的な、臨床特性の違いを検出します。例えば、HD患者のCSFではIL-6、IL-8、およびTNF- $\alpha$ などのサイトカインレベルの上昇がみられる可能性があるのに対し、HD患者の特定の白血球では脂肪酸アミド加水分解酵素や他の因子のレベルの減少がみられる可能性があります。<sup>25,32</sup> 新しい治療アプローチは、毒性を持つHttタンパク質凝集体の定常状態レベルの減少や、mHtt凝集体によって障害される細胞プロセスの調節を目的として開発中です。基礎研究/前臨床段階のこれらの戦略の代表的な概要を表4.6に示します。<sup>31,33,34</sup>

## 幹細胞ベースの治療

新しい治療戦略に加えて、これらの最先端のアプローチでは、内在性幹細胞の特定のタイプ（例：間葉系幹細胞）を使用したり、ヒト人工多能性幹細胞やヒト胚性幹細胞株を活用します。最終目標は、1) 正常な脳回路の再生を目的として移植するためのiPSCまたはhESC幹細胞の特定の神経細胞タイプまたはグリア細胞タイプへの分化、あるいは2) BDNFなどの神経栄養因子の効率的なソースとしての幹細胞の使用です。<sup>35</sup>

第1の目標のための重要要件は、被験者に移植するために、幹細胞を、明確に定義され、高度に純化された系列決定済み細胞または分化細胞の集団に分化させる能力です。この目標を達成するために、2つの補完的なアプローチが使用されています。トランスクリプトームアプローチによって、固有の遺伝子サインや遺伝子発現パターンに基づいて、幹細胞、前駆体、および分化した神経細胞またはグリア細胞の特性決定および分類を行います。プロテオームアプローチは、タンパク質発現サインを検出しますが、細胞表面マーカーおよび栄養/分化因子を同定するために使用できる点でトランスクリプトームアプローチよりも効率的です。<sup>35</sup>

表4.6.ハンチントン病に対する治療薬

パイプライン	現在の開発段階
興奮毒性をターゲット	
Riluzole & memantine	第II相
Tetrabenazine (TBZ)	承認
ミトコンドリア機能不全をターゲット	
Creatine	第II相
Coenzyme Q10	第II相
エイコサペンタエン酸 (EPA)	第II相
Cysteamine	前臨床
転写調節不全をターゲット	
フェニル酪酸ナトリウム	第I相
HDAC1 4b	前臨床
細胞喪失をターゲット	
胎児細胞	第I相
胚性幹細胞 / 神経幹細胞	基礎研究

神経変性疾患研究を促進する抗体ベースのツールについてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

# 筋萎縮性側索硬化症

# 4

## 筋萎縮性側索硬化症の特徴

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、ルー・ゲーリック病とも呼ばれ、脳および脊髄の運動ニューロンが侵されます。ALSは、成人後に発症する最も一般的な運動ニューロン疾患で、3番目に一般的な神経変性疾患です。<sup>36</sup> ALSの症状には、反射の変化、筋力低下、筋肉の萎縮、攣縮、および痙攣があります。ALSは、一般的に約60歳で発症し、1つの筋肉サブセットにおいて徐々に症状が始まり、他の筋肉グループに派生していきます。<sup>37</sup> 80%の症例において脊髄に発症し、非対称性で無痛の四肢の筋力低下が生じます。<sup>37</sup> また、20%の症例において咀嚼、嚥下、および発声を司る顔面の延髄筋に発症します。ALS患者は、症状の発症後、平均3年生存しますが、生存期間には顕著なばらつきもあります。<sup>41</sup> 死亡原因は、通常、呼吸困難および呼吸の運動制御障害です。<sup>41</sup> ALSでは、運動系の障害に加えて、認知機能の変化が認められることがあります。前頭側頭葉の機能障害は、軽度の異常から重篤な前頭側頭葉認知症 (FTD) の範囲で発現します。ALSとFTDの両方を発現した患者は、いずれかを単独で発現した患者に比べて生存率が低下します。<sup>44</sup>

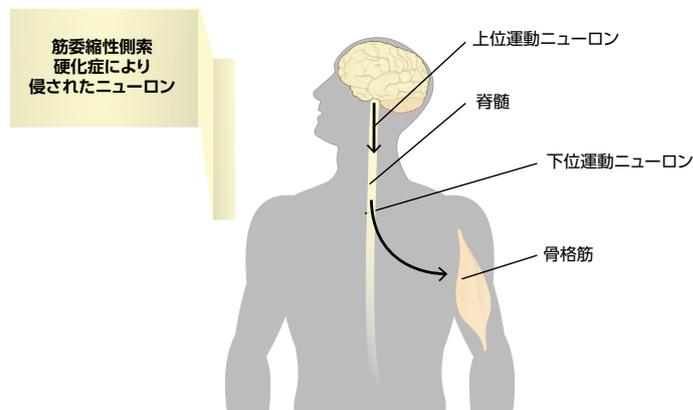


図4.6. ALSに侵される身体部位

## 一般的原因

ALS症例のうち、約10%が家族性ALSであり、全部ではありませんが、大部分の家族性ALSは単一遺伝子変異の継承によって発症します。<sup>37</sup> 遺伝的原因については、現在では約3分の2の家族性ALS症例と10%の孤発性ALSについて明らかにされています。<sup>36</sup> 60%のALSの症例は、*SOD1*、*TARDBP/TDP-43*、*FUS*、および*C9orf72*のわずか4種類の遺伝子の変異によって発症しています。<sup>36</sup> 異なるALS変異が同じ細胞プロセスに影響しているのではという新しいテーマが提起されています。例えば、*SQSTM1*および*TBK1*遺伝子はともにオートファジーに必要とされるタンパク質をコードしているのに対し、*FUS/TLS* (fused in sarcoma) および*TARDBP/TDP-43*はともにRNA代謝において機能します (表4.7)。<sup>36,45</sup> *Als2/Alsin*遺伝子は若年発症、常染色体劣性型の家族性ALSに関与します (平均年齢6.5歳)。<sup>36,41,45</sup>

表 4.7. 筋萎縮性側索硬化症に関する選択タンパク質

ターゲット	神経変性における役割	抗体製品番号
スーパーオキシドジスムターゼ 1 (SOD1)	局在性のスーパーオキシド消去酵素である SOD1 の変異が家族性 ALS に関与	familial SOD 1 Antibody (MA1-105)
トランス活性応答 DNA 結合タンパク質 43 (TARDBP/TDP-43)	転写制御因子 TDP-43 における変異が運動ニューロンに TDP-43 凝集をもたらす	TARDBP Antibody (PA5-29949)
FUS	突然変異体の肉腫タンパク質への融合が異常メッセンジャー RNA のプロセッシングに関与し、運動ニューロンに凝集体を形成	FUS Antibody (PA5-27531)
9 番染色体オープンリーディングフレーム 72 (C9orf72)	<i>C9orf72</i> 遺伝子における変異が <i>C9orf72</i> タンパク質発現を妨げる 6 塩基反復配列伸長を引き起こす。変異 <i>C9orf72</i> タンパク質が関与する 1 つのメカニズムは、核細胞質間輸送障害を介する ALS および前頭側頭葉認知症 (FTD) の発症に寄与し、核における有毒な RNA 蓄積をもたらすと考えられる	C9orf72 Antibody (PA5-31565)
セクエストソーム 1/p62 (SQSTM1)	p62/SQSTM1 の突然変異体であるユビキチン足場タンパク質は、タンパク質凝集体と共局在し、オートファジーを制御	SQSTM1 Antibody (PA5-27247)
TANK 結合キナーゼ 1 (TBK1)	TBK1 変異体はタンパク質凝集体と共局在し、オートファジー調節不全を引き起こし、ALS および FTD における神経炎症を促進	TBK1/NAK Antibody (108A429) (MA5-16159)
ALS2/Alsin	グアニンヌクレオチド交換因子の突然変異体である ALS2/alsin は、若年性筋萎縮性側索硬化症 2 (ALS2) などの数種の劣性運動ニューロン病におけるエンドソーム / 膜輸送の調節不全に関与	alsin/ALS2 Antibody (PA5-18006)

# 筋萎縮性側索硬化症

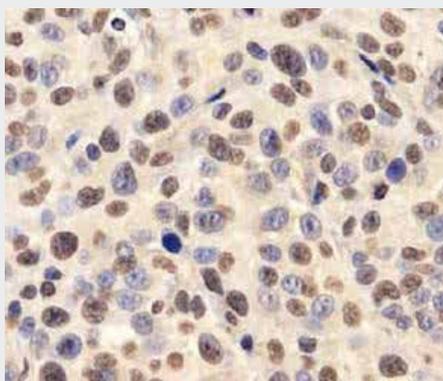
# 4

## 病態生理学

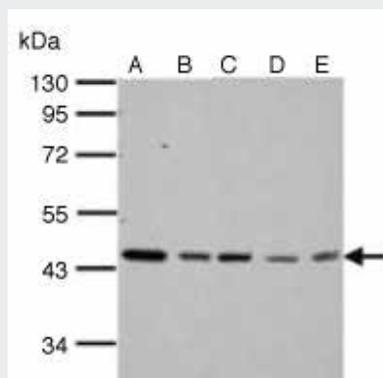
ALSの病態は、アストロサイトグリオシス（ニューロン死に反応したアストロサイト増加）を伴う運動ニューロンの変性および死を特徴とします。<sup>48</sup> ユビキチン陽性、TARDBP陽性のニューロン細胞質内封入体（不溶性タンパク質凝集体）は、実質的に、SOD1またはFUS変異によるALSを除く全てのALS形態の顕著な特徴です。<sup>36, 38, 49-51</sup> このため、疾患特有の病態生理学および/または疾患特有の遺伝子関連性に基づいて、ALSの様々な亜型を定義することができます。ニューロン細胞質内封入体は、それ自体が細胞死に寄与しているかは未知ですが、ALSの診断マーカーとされています。<sup>49, 52</sup> ALSに関連する特性の概要を表4.8に示します。

表4.8.筋萎縮性側索硬化症の病態生理学

特徴	特性	ALS 病態形成における役割
ニューロン細胞質内封入体 (NCI)	ユビキチン陽性 TARDP/TDP-43 陽性 Tau 陰性 $\alpha$ -Synuclein 陰性	ニューロンおよびグリアに存在。糸状、“スケイン様”あるいはレビー小体に類似した緻密で円形状の構造を持つ。細胞質内封入体は、前頭側頭葉認知症の特徴でもある。
プニナ小体	サイトスタチン陽性 トランスフェリン陽性	大部分の ALS の症例において存在する、サイトスタチンおよびトランスフェリンに対して染色陽性の封入体
スーパーオキシジスムターゼ 1 (SOD1) 依存性の病態	ユビキチン陽性 TARDP/TDP-43 陰性 FUS/TLS 陰性	NCI は、円形状や糸状というよりは不規則な多葉状の形態を持つ傾向がある。
Fused in sarcoma (FUS) 病態	FUS 陽性 ユビキチン陰性 TARDP 陰性	FUS-ALS ニューロンは、FUS タンパク質の細胞質内封入体を有するのに対し、影響を受けていないニューロンおよび SOD1 家族性 ALS 由来のニューロンは正常な、びまん性の核 FUS 染色を示すが、細胞質内封入体は染色されない。
C9ORF72 変異	RNA / DNA G- 四重鎖	C9ORF72 遺伝子変異は、遺伝子のイントロンにおける 6 塩基反復配列の異常伸長 (HRE) である (GGGGCC) <sub>n</sub> によって生じる、家族性 ALS の 40% に認められる最も一般的な遺伝的原因。



**FUS Rabbit Polyclonal Antibody.**  
FUS抗体 (製品番号 PA5-23073) の免疫組織化学



**TARDBP Rabbit Polyclonal Antibody.** (A) Neuro2A細胞、(B) GL261細胞、(C) NIH-3T3細胞、(D) BCL-1細胞、および (E) Raw264.7細胞由来の30  $\mu$ gの全細胞ライセートを用いて、TARDBPのウェスタンブロット解析を行った。サンプルを10% SDS-PAGEゲルにロードし、1:3,000希釈したTARDBP抗体 (製品番号 PA5-29949) でプローブした。

# 筋萎縮性側索硬化症

# 4

## ターゲットおよび有望な治療薬

既存のALSに対する薬物療法は、主に対症的で、疾患進行を遅延または回復させるよりも、痙攣、痙縮、唾液分泌過多、およびその他の症状の影響を軽減させることを目的としています。人工呼吸器も呼吸を補助する目的で使用されます。ニューロン死からの保護や疾患進行の緩和を可能とする薬剤を発見するための努力が続けられていますが、いまだ成功にいたっていません。FDA承認薬の1つであるリルゾールは、わずかな生存期間延長効果（生存期間中央値が約3ヶ月延長）を示しますが、これはN-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）受容体活性と電位依存性ナトリウムチャンネル活性の抑制および/またはグルタミン酸興奮毒性を減少させることによってもたらされていると考えられます。<sup>53</sup>

ALS亜型に特有の特徴を利用する新しい戦略がある一方、一般的な細胞プロセスや神経変性メカニズムをターゲットとするものもあります（表4.9）。<sup>54-62</sup> 前者の例として、家族性SOD1の病態は特異的で優性なSOD1含有封入体の毒性作用を示すため、変異タンパク質のレベルを減少させるアンチセンスオリゴヌクレオチド戦略は有益と考えられます。幹細胞療法は、運動ニューロン回路の修復あるいは神経栄養因子の供給、さらにはALS/FTD関連変異を有するALSおよび前頭側頭葉認知症（FTD）のヒトニューロンを用いる*in vitro*モデルの開発に有望な新しい方法です。治療において、これらのアプローチは、神経幹細胞、造血細胞、または人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞のCNSへの移植が想定されます。

表4.9.筋萎縮性側索硬化症または前頭側頭葉認知症に対する開発中の治療法

治療法	メカニズム / 目的	開発段階
アンチセンスオリゴヌクレオチド		
Anti-SOD1	有毒な変異 SOD1 タンパク質を低減	第 I 相
Anti-C9ORF72	病原性を持つ 6 塩基反復 RNA/DNA をターゲット	前臨床
骨格筋治療薬		
Tirasemtiv	速骨格筋活性化剤 / 呼吸機能を改善	第 III 相
神経保護剤		
Masitinib	チロシンキナーゼ阻害剤 / 肥満細胞の脱顆粒抑制による炎症の軽減	第 III 相
Ibudilast	ホスホジエステラーゼ (PDE) -4 および -10 阻害剤および MIF 阻害剤 / 炎症の抑制 神経栄養因子の分泌促進	第 II 相
GM604, “運動神経栄養因子” アナログ	遺伝子発現調節 / TDP-43 低減	第 II 相完了
抗酸化剤		
イノシン	尿酸の上昇	第 I 相
神経栄養因子		
神経栄養因子を分泌する間葉系幹細胞の自家移植	神経栄養因子の分泌促進	第 II 相
神経変性 (幹細胞)		
ヒト幹細胞	脊髄灰白質に注入 / 神経回路の再建	第 II 相
人工多能性幹細胞 (iPSC)	疾患モデル、創薬、および将来の iPSC 移植治療のための患者由来 iPSC の開発を目標	基礎研究

目的のターゲットに特異的な抗体および免疫アッセイについてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

# 多発性硬化症

# 4

## 多発性硬化症の特徴

多発性硬化症 (MS) は、脳および脊髄における慢性進行型の神経変性疾患で、炎症、脱髄、および軸索喪失を特徴とします。<sup>63-65</sup> MSには多くの形態があり、約90%の患者は少なくともある程度の回復および臨床的寛解と再発を繰り返します。二回目の継続的な疾患進行および増悪期に入った患者の50%以上において、通常、経時的に能力障害が生じます。<sup>63,66,67</sup> 再発は、病巣の解剖学的部位、発作の発症、持続時間、および頻度、ならびに寛解の質によって著しく異なります。<sup>66</sup> MS発作の一般的な臨床症状は、四肢の麻痺または刺痛、筋力低下、平衡障害、視覚障害、および膀胱/腸の機能障害、ならびにその他の症状です (図4.7)。<sup>63</sup> MSに対する治療薬は存在しませんが、現在承認されている療法によって症状を軽減し、疾患進行を遅延できる可能性があります。

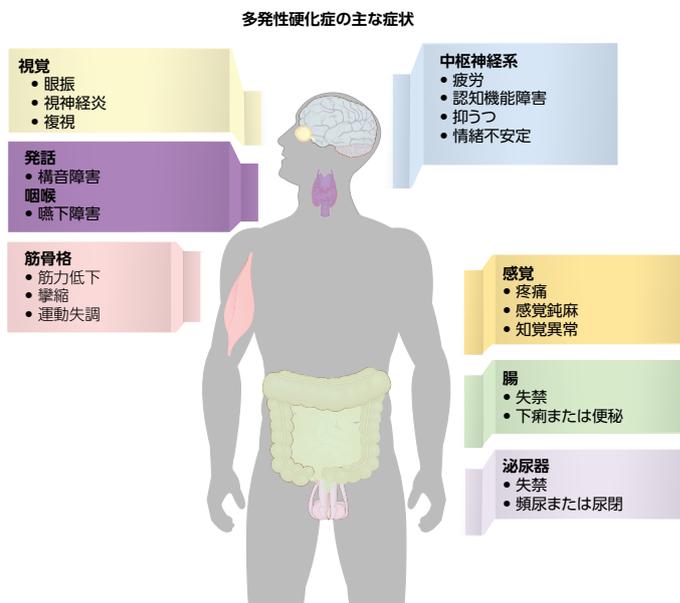
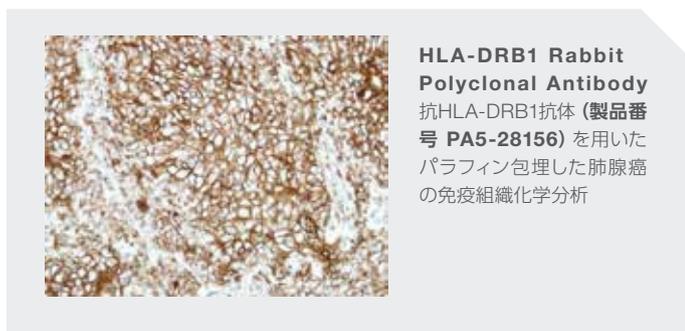


図4.7. 多発性硬化症の病巣形成の可能性のある複数の器官系

## 一般的な原因およびリスクファクター

約20%のMS患者には、MSの家族歴があり、MS発症に関連する遺伝的要因が見られます。<sup>68</sup> 例えば、同性の二卵性双生児におけるMSの一致率は5%であるのに対し、一卵性双生児におけるMSの一致率は約20~40%です。<sup>67,69-71</sup>

主要組織適合性複合体 (MHC) クラスII遺伝子HLA-DRB1は、MS発症と強い関連を持つ血清学的マーカーHLA-DR2およびHLA-DQ6に対応するハプロタイプの一部です。<sup>68,69</sup> これらのHLAタンパク質は、T細胞への抗原提示に関与する細胞表面抗原として働くHLAタンパク質です。<sup>68</sup> 数多くの環境要因がさらにMS発症の非遺伝的リスクとして関与している可能性が提言されています。地理的条件とMS有病率は関係しており、日光への曝露量の低下に伴うビタミンD産生量の低下と、赤道からの距離が離れている地域での有病率の増加に一致が見られます。他のMS発病リスクを増加させると考えられる環境要因としては、喫煙や感染症罹患が考えられます。<sup>72</sup>

# 多発性硬化症

# 4

## 病態生理学

MSは、軸索損傷および脱髄を引き起こし、MSの発病および進行に寄与するCNS修復機構の障害と免疫調節不全を特徴とする複合疾患です(図4.8)。<sup>64,65</sup> MSの顕著な特徴は、白質および灰白質全体にわたるCNSの脱髄損傷や様々なサイズで不規則に散在するプラークです。これらは、脳室、視覚系、脳幹、および脊髄の近くで最もよく見られます。<sup>73</sup> ミエリン塩基性タンパク質(MBP)には、CNSを構成するタンパク質成分の約30%が含まれます。MBP(またはCNS関連ペプチド)をアジュバントとともに皮下投与することで、実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)の十分に確立されたMSマウスモデルが誘導されます。また、MBPはMS患者の急性脱髄発症の脳脊髄液における検出を可能とするタンパク質バイオマーカーでもあります。

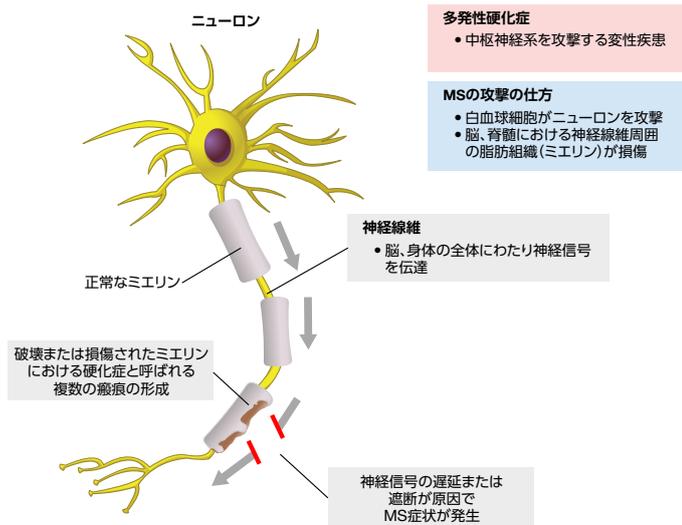
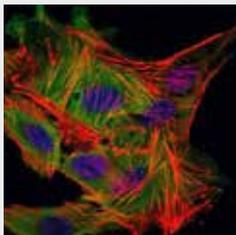


図4.8. 脱髄の機能的結果

## 免疫病理学

MSにおける免疫応答の調節不全は、マクロファージ(MΦ)、樹状細胞(DC)などの抗原提示細胞(APC)による外来抗原および自己抗原のプロセッシングおよび提示に関わります。APC表面のMHC分子に結合した同種抗原を認識し、続いて活性化末梢性T細胞が血液脳関門(BBB)を通過します。活性化B細胞もBBBを通過します。CNSにおいて、T細胞は、CNS関連抗原を提示するミクログリア細胞やアストロサイトにより再活性化されると、炎症誘発性サイトカインを分泌します。炎症誘発性のCNS微小環境におけるマクロファージは、腫瘍壊死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )を発現し、破壊的なスーパーオキシドおよび一酸化窒素種を放出します(図4.9)。

B細胞もまた抗原をT細胞に提示し、炎症性サイトカインを分泌し、マクロファージおよびミクログリア細胞を活性化する脱髄抗体を産生します。脱髄抗体によって駆動される補体カスケードの誘導により、膜侵襲複合体(MAC)が構築され、細胞膜に孔が形成されます。これにより、ミエリン膜が破壊されます。複数の要因がT細胞、マクロファージ、B細胞、およびミクログリアの異常な活性を介する脱髄に寄与します。MSにおいて、ミエリン形成オリゴデンドロサイト(OLG)の免疫介在性アポトーシスおよび壊死は、MSプラークにおける細胞喪失を引き起こします。<sup>74,75</sup> 軸索損傷は、MS患者における臨床的障害の主な原因と考えられます。タンパク質の軸索輸送障害は、多くの神経変性疾患に共通する特徴です。アミロイド前駆体タンパク質(APP)に対し特異的なMS抗体および非リン酸化ニューロフィラメント重鎖(NFH)は、軸索損傷の有用なマーカーになり得ます。<sup>76</sup>



**MBP Mouse Monoclonal Antibody (2H9)**  
抗MBP抗体(製品番号 MA5-15922)(緑色)を用いたMSCS細胞の免疫蛍光分析。DNAはDRAQ5<sup>™</sup>色素(青色)で、アクチン線維は蛍光ファロイジン(赤色)で標識した。

## 免疫病理学

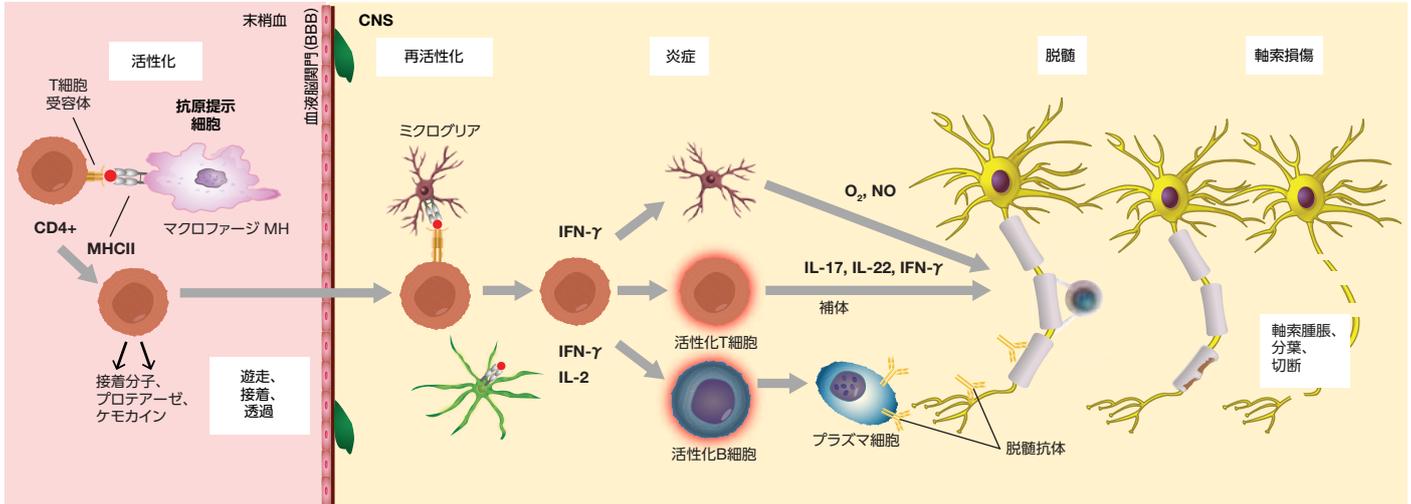


図4.9. 多発性硬化症の病態生理学

## MSにおけるT細胞の役割

MSにおいて、軸索損傷は数多くのメカニズムによって起こる可能性があります。自己反応性B細胞および骨髄由来細胞からの損傷に加えて、軸索はCD4サブセット由来の細胞およびCD8細胞傷害性T細胞によっても攻撃される可能性があります。<sup>77-80</sup> MS患者では対照群に比して、より高頻度にミエリン抗原に対するT細胞反応性が確認されていることが数多くの試験で示されています。3種類の十分に特性決定されたミエリン抗原として、ミエリン塩基性タンパク質 (MBP)、プロテオリピドタンパク質 (PLP)、およびミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質 (MOG) があります。しかしながら、T細胞活性化はミエリン損傷を生じるミエリン抗原の遊離に続発して起こるのか、あるいはT細胞が一次損傷の原因であるのか、両方かについては明らかになっていません。<sup>81,82</sup>

活性化リンパ球により分泌されたサイトカインは、組織損傷を促進または修復を阻害することにより、グリア細胞およびニューロンを直接攻撃します。細胞ストレスおよび変性の下流経路は、サイトカインによる細胞死受容体の関与、活性酸素種の生成、ミトコンドリア機能不全、あるいはグルタミン酸またはカルシウムに対する興奮毒性によって媒介されます。<sup>83-85</sup>

歴史的に、Th1細胞はMSにおける炎症の主要なメディエーターと考えられていました。現在では、IL-17およびIL-22を分泌するCD4+ Th17細胞がMSの治療に極めて重要なターゲットであることが認識されています (図4.10)。<sup>82</sup> MS病態形成に与る様々な受容体および可溶性因子の概略を図4.10に示します。その多くはMS治療のための薬剤ターゲットとなる可能性があります。<sup>80,82,86-95</sup>

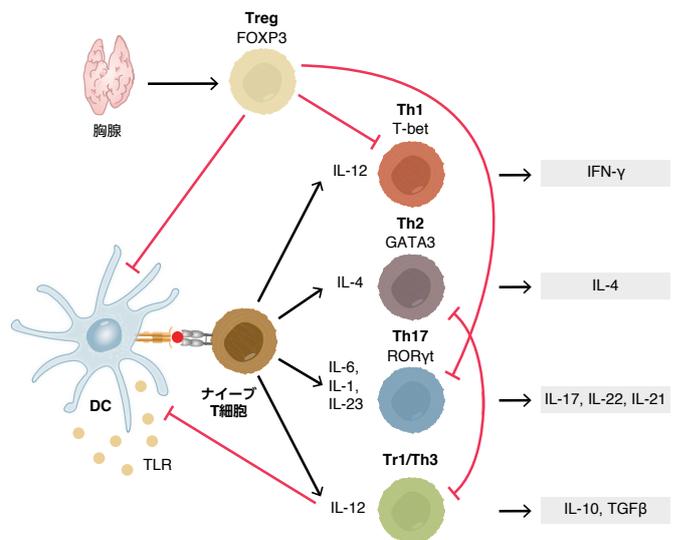


図4.10. ナイーブCD4+T細胞は、微環境に存在するサイトカインによって様々なT細胞サブタイプに分化する可能性があります。各T細胞サブタイプは、次々に、それぞれのサイトカインに特有のパターンのサイトカインを分泌します。

# 多発性硬化症

# 4

## 既存の治療法および有望なターゲット

表4.10.多発性硬化症に対する有望な治療薬

ターゲット	細胞タイプ	説明	MS における関与	抗体製品番号
ASIC1	ニューロン	ナトリウムおよびカルシウムの流入に対する酸感受性イオンチャネル	EAE においてアップレギュレーション。チャネルの遮断により、EAE における疾患を低減。	ASIC1 Antibody <b>(PA5-28241)</b>
TRPM4	ニューロン	一過性受容体電位メラスタチン 4。細胞内 Ca <sup>2+</sup> を増加、ATP を減少させ、Na <sup>+</sup> および Ca <sup>2+</sup> の流入を導く。	遮断により EAE における神経変性を低減。	TRPM4 Antibody <b>(PA5-34283)</b>
TREM2	ミクログリア、MΦ	ファゴサイトーシスおよび ROS 放出に関する先天性膜結合受容体。LPS および Hsp60 によって刺激される。	EAE に対する保護作用を示す。MS 患者の CSF における可溶性改変体 (sTREM-2) のレベルが上昇した。	TREM2 Antibody <b>(PA5-18763)</b>
GluR2-GAPDH	ニューロン	GluR2 は GAPDH と複合体を形成する AMPA グルタミン酸受容体のサブユニット (グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素) で、アゴニスト刺激に伴い複合体を形成し、p53 依存性細胞死を促進。	EAE に対する保護作用を障害。MS 患者由来死後組織においてアップレギュレーションされる。	GluR2 Antibody (6C2) <b>(32-0300)</b>
IL-1	MΦ、DCs、リンパ球	NF-κB 活性化 Th17 細胞分化	IL-1 受容体欠失マウスは EAE 誘導性 MS に対し耐性を示す。BBB 透過性の自己反応性 T 細胞の活性化および透過。	IL-1 Receptor 1/CD121a Antibody (IL1 31-22.2.1) <b>(MA1-10857)</b>
IL-17	Th17 細胞	NF-κB および MAPK を活性化。IL-1、TNF-α、G-CSF、GM-CSF、ケモカイン、マトリックスメタロプロテイナーゼの発現を誘導。好中球およびマクロファージの誘引を誘導。細菌および真菌に対する感染防御。	IL-17 欠失マウスにおいて、EAE 誘導による MS の発病が遅延し、重症度が低減。増悪中の MS 患者の免疫細胞における IL-17 mRNA が増加。間接リウマチに対する mAb 療法は承認済み。	IL-17 Antibody <b>(PA1-24811)</b>
IL-22	Th17 細胞	生体バリア細胞 (皮膚、GI、腎臓) をターゲットとし、抗細菌タンパク質およびケモカインを産生。アストロサイトの生存に関与。	MS 患者の血清中で増加。	IL-22 Antibody <b>(PA5-34944)</b>
IL-23	活性化 MΦ、DCs	IL-12 サイトカインファミリーの一員。Th17 細胞の分化を刺激。	EAE 誘導に必要	IL-23 Antibody <b>(PA5-20238)</b>
RORγt	T 細胞	Th17 細胞の発達に必要なとされる転写因子	EAE を抑制するインバースアゴニスト	RORγ Antibody <b>(PA5-28257)</b>
T-bet	T 細胞	Th1 分化に必要なとされる転写因子。INF-γ 遺伝子転写に関与。	T-bet 欠失または能動免疫は EAE を抑制または遅延。	T-bet/Tbx21 Antibody <b>(PA5-19773)</b>

略語: BBB: 血液脳関門、CSF: 脳脊髄液、DC: 樹状細胞、EAE: 実験的アレルギー性脳脊髄炎、GI: 消化管、LPS: リポ多糖、mAb: モノクローナル抗体、MΦ: マクロファージ、ROS: 活性酸素種

# 多発性硬化症

# 4

## 既存の治療法および有望なターゲット

AD、PD、およびALSなどの他の神経変性疾患と比較して、MSIに対しては数多くの疾患修飾療法が開発および承認されています。<sup>96</sup> これらの薬剤には、インターフェロン、グラチラマー酢酸塩、生物製剤、および経口剤が含まれます (表4.11)。<sup>93,96-107</sup>

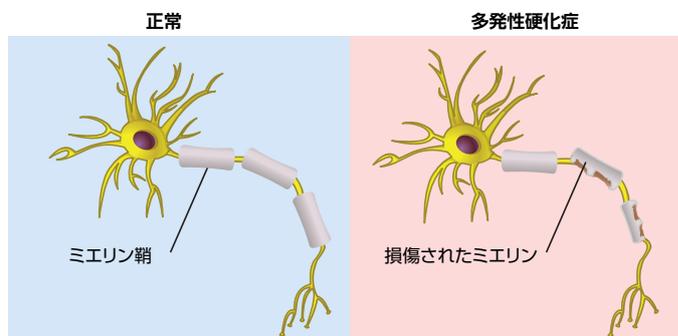


表4.11.多発性硬化症の既存の治療法

薬剤	説明
<b>注射治療</b>	
インターフェロン インターフェロンβ -1a インターフェロンβ -1b PEG 化インターフェロンβ -1a*	血液脳関門を通過する免疫細胞遊走を抑制し、他のサイトカインの発現を調節するとされるサイトカイン。ミエリン塩基性タンパク質を刺激。T 細胞を阻害。IFN- γおよび T-bet のレベルを低減。
グラチラマー酢酸塩	L- グルタミン酸、L- アラニン、L- チロシン、L- リジンの 4 種類のアミノ酸から構成される合成ポリペプチドの酢酸塩
<b>経口治療</b>	
テリフルノミド	リンパ球増殖およびサイトカイン産生を抑制するピリミジン合成阻害剤
フィンゴリモド	リンパ球のリンパ節からの移出を抑制することで、血液脳関門を通過する遊走を防止するスフィンゴシン -1- リン酸受容体アゴニスト**
フマル酸ジメチル	Nrf2 抗酸化剤応答配列シグナル伝達の活性化
ダルファムプリジン ***	脱髄状態の露出している K <sup>+</sup> チャンネルを遮断することで、MS における歩行機能を改善
<b>注入治療</b>	
アレムツズマブ	リンパ球を枯渇させる、CD52 に対するモノクローナル抗体
ミトキサントロン	抗原に対するリンパ球反応ならびにマクロファージ誘導性の脱髄および軸索損傷を抑制
ナタリズマブ	白血球細胞の動員を抑制することで、血液脳関門を通過する遊走を防止する、α 4 インテグリンに対するモノクローナル抗体

\* PEG 化によりインターフェロンβ -1a の半減期が延長

\*\* S1P2 受容体サブタイプ受容体アゴニスト活性なし

\*\*\* MS における歩行改善治療薬として承認済み

既存の治療法に加えて、複数の疾患修飾治療薬がMSIに対する有望な治療法として開発されています。現在、様々なアプローチが開発初期段階や後期段階にあります。免疫調節戦略には、自己T細胞療法、B細胞およびT細胞を介する免疫促進反応を抑制するモノクローナル抗体、T細胞受容体ペプチドワクチン、および他の新しいアプローチが含まれます。ようやく、間葉系幹細胞および人工多能性幹細胞の神経保護および/または神経変性特性に関する評価を行う臨床試験が進行中です。<sup>108-111</sup>

当社では、MS発病に関わる研究プロセスで使用される一次抗体に加えて、サイトカイン定量用の高品質なELISAおよびLuminexアッセイも提供しています。詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/immunoassays](http://www.thermofisher.com/immunoassays)

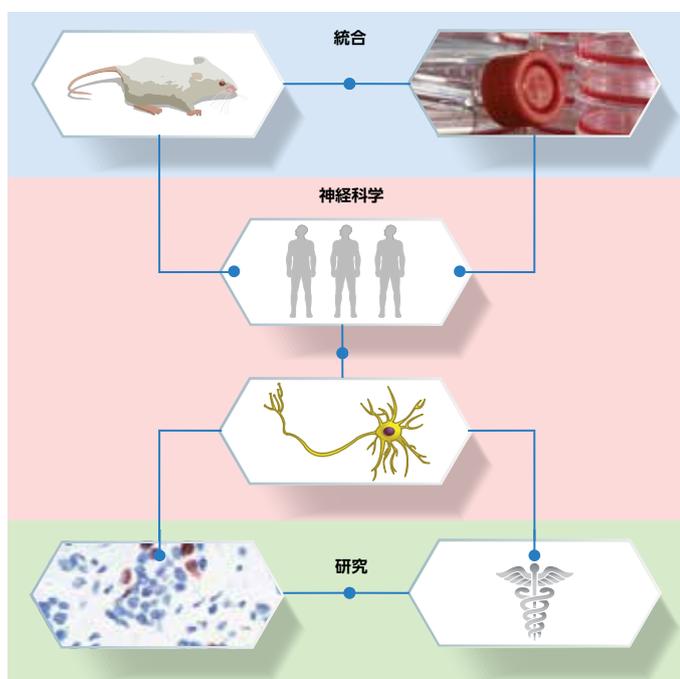
- Poewe W (2006) The natural history of Parkinson's disease. *J Neurol* 253 Suppl 7:VII2–VII6.
- Farlow J, Pankratz ND, Wojcieszek J et al. (2004) Parkinson disease overview. [Updated 2014]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH et al., editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2015. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1223/>.
- Kurtis MM, Martinez-Martin P (2013) Parkinson's Disease: Symptoms, Unmet Needs and New Therapeutic Targets. Chapter 1 in: Martinex A, Gil C., editors, *Emerging Drugs and Targets for Parkinson's Disease*. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry. pp 3–25.
- Klein C, Westenberger A (2012) Genetics of Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2(1):a008888.
- PLINK1 Functions Medscape.com. [http://www.medscape.com/viewarticle/711447\\_3](http://www.medscape.com/viewarticle/711447_3). Accessed August 2015.
- van Veen S, Sørensen DM, Hølemans T et al. (2014) Cellular function and pathological role of ATP13A2 and related P-type transport ATPases in Parkinson's disease and other neurological disorders. *Front Mol Neurosci* 7:48.
- Murphy KE, Gysbers AM, Abbott SK et al. (2014) Reduced glucocerebrosidase is associated with increased  $\alpha$ -synuclein in sporadic Parkinson's disease. *Brain*. 2014;137(Pt 3):834–848.
- Lesage S, Brice A (2009) Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors. *Hum Mol Genet* 18(R1):R48–R59.
- Stefanis L (2012)  $\alpha$ -Synuclein in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2(2):a009399.
- Irwin DJ, Lee VM, Trojanowski JQ (2013) Parkinson's disease dementia: convergence of  $\alpha$ -synuclein, tau and amyloid- $\beta$  pathologies. *Nat Rev Neurosci* 14(9):626–636.
- Bendor JT, Logan TP, Edwards RH (2013) et al. The function of  $\alpha$ -synuclein. *Neuron* 79(6):1044–1066.
- Lin X, Parisiadou L, Gu XL, Wang L et al. (2009) Leucine-rich repeat kinase 2 regulates the progression of neuropathology induced by Parkinson's disease-related mutant alpha-synuclein. *Neuron* 64(6):807–827.
- Hebron ML, Lonskaya I, Moussa CE (2013) Nilotinib reverses loss of dopamine neurons and improves motor behavior via autophagic degradation of  $\alpha$ -synuclein in Parkinson's disease models. *Hum Mol Genet* 22(16):3315–3328.
- Brundin P, Atkin G, Lamberts JT (2015) Basic science breaks through: new therapeutic advances in Parkinson's disease. *Mov Disord* 30(11):1521–1527.
- Stefanis L.  $\alpha$ -Synuclein in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Feb;2(2):a009399.
- Chandra S, Gallardo G, Fernández-Chacón R et al. (2005) Alpha-synuclein cooperates with CSPalpha in preventing neurodegeneration. *Cell* 123(3):383–396.
- Luk KC, Lee VM (2014) Modeling Lewy pathology propagation in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 20 Suppl 1:S85–S87.
- Prescription Medications. Parkinson's Disease Foundation. [http://www.pdf.org/en/parkinson\\_prescription\\_meds](http://www.pdf.org/en/parkinson_prescription_meds). Accessed August 2015.
- AIDakheel A, Kalia LV, Lang AE (2014) Pathogenesis-targeted, disease-modifying therapies in Parkinson disease. *Neurotherapeutics* 11(1):6–23.
- Atala A, Lanza R, editors (2013) Introduction to Stem Cells. In: *Handbook of Stem Cells*. Volume 1 Pluripotent Stem Cells. Boston: Elsevier; 2013: 3.
- Sandoe J, Eggan K (2013) Opportunities and challenges of pluripotent stem cell neurodegenerative disease models. *Nat Neurosci* 16(7):780–789.
- Development of iPS From Donated Somatic Cells of Patients With Neurological Diseases. ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00874783?term=%22parkinson%27s%22+AND+%22stem+cell%22&rank=11>. Accessed August 2015.
- Paulson HL, Albin RL (2011) Huntington's Disease: Clinical Features and Routes to Therapy. In: Lo DC, Hughes RE, editors. *Neurobiology of Huntington's Disease: Applications to Drug Discovery*. Boca Raton (FL): CRC Press
- WHO. Genes and human disease. <http://www.who.int/genomics/public/geneticdiseases/en/index2.html#HD>. Accessed August 2015.
- Bates GP, Dorsey R, Gusella JF et al. (2015) Huntington disease. *Nat Rev Dis Primers* 11–21.
- ClinicalTrials.gov. VX15/2503 Treatment for Huntington Disease (SIGNAL). <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02481674?term=%22Huntington%22&rank=15>. Accessed August 2015.
- Warby SC, Graham RK, Hayden MR (1998) Huntington Disease. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle.
- Prime View: HUNTINGTON DISEASE. Nature Reviews: Disease Primers. <http://www.nature.com/public/article-assets/npg/nrdp/primeviews/huntingtondisease-2015.pdf>, 2015. Accessed August 2015.
- Bear MF, Connors BW, Paradiso MA (2007) *Neuroscience: Exploring the Brain*. 3rd ed. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins.
- Papoutsis M, Labuschagne I, Tabrizi SJ et al. (2014) The cognitive burden in Huntington's disease: pathology, phenotype, and mechanisms of compensation. *Mov Disord* 29(5):673–683.
- Kumar A, Kumar Singh S, Kumar V et al. (2015) Huntington's disease: an update of therapeutic strategies. *Gene* 556(2):91–97.
- Zuccato C, Valenza M, Cattaneo E (2010) Molecular mechanisms and potential therapeutic targets in Huntington's disease. *Physiol Rev* 90(3):905–981.
- Pharm I. ISIS-HTTRx in a Phase 1/2a clinical study in patients with HD. <https://www.isispharm.com/pipeline/>.
- Shannon KM, Frait A (2015) Therapeutic advances in Huntington's Disease. *Mov Disord* 30(11):1539–1546.
- Zizkova M, Sucha R, Tyleckova J et al. (2015) Proteome-wide analysis of neural stem cell differentiation to facilitate transition to cell replacement therapies. *Expert Rev Proteomics* 12(1):83–95.
- Renton AE, Chiò A, Traynor BJ (2014) State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics. *Nat Neurosci* 17(1):17–23.
- Swinnen B, Robberecht W (2014) The phenotypic variability of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurosci* 10(11):661–670.
- Wijesekera LC, Leigh PN (2009) Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Dis* 4:1–22.
- Hyperreflexia. TheFreeDictionary.com. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/hyperreflexia>. Definition of hyperreflexia. Accessed August 2015.
- Hypertonia. TheFreeDictionary.com. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/hypertonia>. Accessed August 2015.
- Kinsley L, Siddique T. Amyotrophic Lateral Sclerosis Overview. 2001 Mar 23 [Updated 2015 Feb 12]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH et al., editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2015.
- Muscle Twitching (muscle fasciculations). MedlinePlus. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003296.htm>. Accessed August 2015.
- Hyporeflexia. ALS Association. <http://www.alsa.org/research/glossary/>. Accessed August 2015.
- Lillo P, Garcin B, Hornberger M et al. (2010) Neurobehavioral features in frontotemporal dementia with amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 67(7):826–830.
- Bettencourt C, Houlden H (2015) Exome sequencing uncovers hidden pathways in familial and sporadic ALS. *Nat Neurosci* 8(5):611–613.
- Turner BJ, Talbot K (2008) Transgenics, toxicity and therapeutics in rodent models of mutant SOD1-mediated familial ALS. *Prog Neurobiol* 85(1):94–134.
- Committee on the Review of the Scientific Literature on Amyotrophic Lateral Sclerosis in Veterans. *Amyotrophic Lateral Sclerosis in Veterans: Review of the Scientific Literature*. Washington DC: The National Academies Press; 2006.
- Gliosis. TheFreeDictionary.com. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/gliosis>. Accessed August 2015.
- Mackenzie IR, Bigio EH, Ince PG et al. (2007) Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Ann Neurol* 61(5):427–434.
- Vance C, Rogelj B, Hortobágyi T et al. (2009) Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 323(5918):1208–1211.
- Kwiatkowski TJ Jr, Bosco DA, Leclerc AL et al. (2009) Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 323(5918):1205–1208.
- Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK et al. (2006) Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314(5796):130–133.
- Wijesekera LC, Leigh PN (2009) Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Dis* 4:1–22.
- The ALS Forum. New Findings on SOD1 Protein Properties Are Key Step in Antisense Clinical Trials—See more at: <http://www.researchchals.org/page/4832/14730/#sthash.p7SVrD6H.dpuf>. <http://www.researchchals.org/page/4832/14730/>. Accessed August 2015.
- The ALS Association. New Award Will Lay Groundwork for C9orf72 Clinical Trials. <http://www.alsa.org/news/archive/groundwork-for-c9orf72-trials.html>. Accessed August 2015.
- Cytokinetics. Press Releases. Cytokinetics and the ALS association announce awarding of grant for phase 3 clinical trial and biomarker research collaboration. [http://www.cytokinetics.com/press\\_releases/release/pr\\_1436828630](http://www.cytokinetics.com/press_releases/release/pr_1436828630). Accessed August 2015.
- NEALS. A prospective, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group, phase 2 study to compare the efficacy and safety of masitinib versus placebo in the treatment of patients suffering from Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). <http://www.alsconsortium.org/trial.php?id=109>. Accessed August 2015.

58. ALSTDI. Masitinib Phase 3 Clinical Trial Update. <http://www.alstdi.org/news/masitinib-phase-3-clinical-trial-update/>. Accessed August 2015.
59. NEALS. Ibudilast (MN-166) in Subjects With Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) (IBU-ALS-1201). <http://www.alsconsortium.org/trial.php?id=121>. Accessed August 2015.
60. NEALS. A Pilot Study of Inosine in ALS. <http://www.alsconsortium.org/trial.php?id=122>. Accessed August 2015.
61. NEALS. A Phase 2, Randomized, Double Blind, Placebo Controlled Multicenter Study to Evaluate Safety and Efficacy of Transplantation of Autologous Mesenchymal Stem Cells Secreting Neurotrophic Factors (MSC-NTF) in Patients With ALS. <http://www.alsconsortium.org/trial.php?id=126>. Accessed August 2015.
62. Neuralstem. Neuralstem Cell Therapy for ALS. <http://www.neuralstem.com/cell-therapy-for-als>. Accessed August 2015.
63. Tullman MJ (2013) Overview of the epidemiology, diagnosis, and disease progression associated with multiple sclerosis. *Am J Manag Care*. 2013;19(2 Suppl):S15–S20.
64. Van der Walt A, Butzkeuven H, Kolbe S et al. (2010) Neuroprotection in multiple sclerosis: a therapeutic challenge for the next decade. *Pharmacol Ther* 126(1):82–93.
65. Wilkins A, Scolding N (2008) Protecting axons in multiple sclerosis. *Mult Scler* 14(8):1013–1025.
66. Olek MJ (2005) Differential Diagnosis, Clinical Features, and Prognosis of Multiple Sclerosis. In: Olek MJ, editor. *Multiple Sclerosis. Etiology, Diagnosis, and New Treatment Strategies*. United States: Humana Press, Inc. pp 15–53.
67. Demetriou M (2005) Multiple Sclerosis, Genetics, and Autoimmunity. In: Olek MJ, ed. *Multiple Sclerosis. Etiology, Diagnosis, and New Treatment Strategies*. United States: Humana Press, Inc; pp 103–112.
68. Cree BAC (2014) Multiple sclerosis genetics. *Hand Clin Neuro* 122: 193–209.
69. Ontaneda D, Hyland M, Cohen JA (2012) Multiple sclerosis: new insights in pathogenesis and novel therapeutics. *Annu Rev Med* 63:389–404.
70. Campagnolo DI, Vollmer TL. Multiple Sclerosis (Updated September 22, 2010). eMedicine from WebMD. Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/310965-overview>. Accessed March, 2011.
71. Oksenberg JR, Baranzimi SE, Hauser SL (2007) Biological concepts of multiple sclerosis pathogenesis and relationship to treatment. In: Cohen JA, Rudick RA, editors. *Multiple Sclerosis Therapeutics*, 3rd ed. United Kingdom: Informa UK Ltd. pp 23–44.
72. Simon KC, Schmidt H, Loud S et al. (2015) Risk factors for multiple sclerosis, neuromyelitis optica and transverse myelitis. *Mult Scler* 21(6):703–709.
73. Lucchinetti CF, Parisi J, Bruck W (2014) The pathology of multiple sclerosis. *Neuro* 23:77–105.
74. Nair A, Frederick TJ, Miller SD (2008) Astrocytes in multiple sclerosis: a product of their environment. *Cell Mol Life Sci* 65(17):2702–2720.
75. Neuhaus O, Archelos JJ, Hartung HP (2003) Immunomodulation in multiple sclerosis: from immunosuppression to neuroprotection. *Trends in Pharmacol Sci* 24(3):131–138.
76. Haines JD, Inglese M, Casaccia P (2011) Axonal damage in multiple sclerosis *Mt Sinai J Med* 78(2):231–243.
77. Trapp BD, Nave KA (2008) Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annu Rev Neurosci* 31:247–269.
78. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S (2005) *Cellular and Molecular Immunology*. 5th Edition. Philadelphia (PA): Elsevier Saunders.
79. Wilkins A, Scolding N (2008) Protecting axons in multiple sclerosis. *Mult Scler* 14(8):1013–1025.
80. Ellwardt E, Zipp F (2014) Molecular mechanisms linking neuroinflammation and neurodegeneration in MS. *Exp Neurol* 262 Pt A:8–17.
81. Rinker II JR, Naismith RT, Cross AH (2006) Multiple Sclerosis: An Autoimmune Disease of the Central Nervous System? In: Cook SD, editor. *Handbook of Multiple Sclerosis*, 4th ed. New York (NY): Taylor & Francis Group, LLC pp 95–112.
82. Fletcher JM, Lalor SJ, Sweeney CM et al. (2010) T cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clin Exp Immunol* 162(1):1–11.
83. Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D (2004) The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy. *J Neurol* 251:261–268.
84. Stys PK (2005) General mechanisms of axonal damage and its prevention. *J Neurol Sci* 233(1–2):3–13.
85. Lassmann H (2014) Multiple sclerosis: lessons from molecular neuropathology. *Exp Neurol* 262 Pt A:2–7.
86. Yaghi F, Noorsaeed A, Alsaggaf S et al. (2014) The Role of TREM2 in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *J Alzheimers Dis Parkinsonism* 4(5)pii:160.
87. Piccio L, Buonsanti C, Cella M (2008) Identification of soluble TREM-2 in the cerebrospinal fluid and its association with multiple sclerosis and CNS inflammation. *Brain* 131(Pt 11):3081–3091.
88. Zhai D, Lee FH, D'Souza C et al. (2015) Blocking GluR2-GAPDH ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Ann Clin Transl Neurol* 2(4):388–400.
89. Sand IBK and Krieger S. Emerging Strategies for the Treatment of Multiple Sclerosis. *Future Neurology*. 2012;7(2):193-207. [http://www.medscape.com/viewarticle/760849\\_5](http://www.medscape.com/viewarticle/760849_5). Accessed August 2015.
90. Di Padova F, Rytffel B, Quesniaux V (2003). IL-17A Family, Receptors, Proinflammatory Effects, and Production. In: Quesniaux V, Rytffel B, Di Padova R (editors), *IL-17, IL-22 and Their Producing Cells: Role in Inflammation and Autoimmunity*. Second Edition. New York: Springer Basel pp 37–54.
91. Jin W, Dong C (2013) IL-17 cytokines in immunity and inflammation. *Emerg Microbes Infect* 2(9):e60.
92. Gaweco A, Palmer S, Shamilov R et al (2013) EAE disease prevention by a potent oral RORγt inverse agonist INV-17: a promising safe and efficacious MS treatment. *J Neurol Sci* 333:e362–e363.
93. Racke MK, Yang Y, Lovett-Racke AE (2014) Is T-bet a potential therapeutic target in multiple sclerosis? *J Interferon Cytokine Res* 34(8):623–632.
94. Sabat R, Ouyang W, Wolk K (2014) Therapeutic opportunities of the IL-22–IL-22R1 system. *Nat Rev Drug Discov* 13(1):21–38.
95. Perriard G, Mathias A, Enz L et al. (2015) Interleukin-22 is increased in multiple sclerosis patients and targets astrocytes. *J Neuroinflammation* 16;12:119.
96. Medications. National Multiple Sclerosis Society. <http://www.nationalmssociety.org/Treating-MS/Medications>. Accessed August 2015.
97. Copaxone. National Multiple Sclerosis Society. <http://www.nationalmssociety.org/Treating-MS/Medications/Copaxone>. Accessed August 2015.
98. Copaxone (Glatiramer Acetate) Injection. RXList.com. <http://www.rxlist.com/copaxone-drug.htm>. Accessed August 2015.
99. Kieseier BC (2011) The mechanism of action of interferon-β in relapsing multiple sclerosis. *CNS Drugs* 25(6):491–502.
100. Aubagio. National Multiple Sclerosis Society. <http://www.nationalmssociety.org/Treating-MS/Medications/Aubagio>. Accessed August 2015.
101. Valentine WJ, Godwin VI, Osborne DA et al. (2011) FTY720 (Gilenya) phosphate selectivity of sphingosine-1-phosphate receptor subtype 1 (S1P1) G protein-coupled receptor requires motifs in intracellular loop 1 and transmembrane domain 2. *J Biol Chem* 286(35):30513–30525.
102. Gilenya. National Multiple Sclerosis Society. <http://www.nationalmssociety.org/Treating-MS/Medications/Gilenya>. Accessed August 2015.
103. Nguyen T, Nioi P, Pickett CB (2009) The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. *J Biol Chem* 284(20):13291–13295.
104. Minagar A, Alexander JS, Sahrajan MA et al. (2010) Alemtuzumab and multiple sclerosis: therapeutic application. *Expert Opin Biol Ther* 10(3):421–429.
105. Hartung H-P et al. (2002) Mitoxantrone In Progressive Multiple Sclerosis: A Placebo-Controlled, Double-Blind, Randomised, Multicentre Trial. *Lancet* 360:2018–2025.
106. Tysabri. Proposed Mechanism of Action. [https://www.tysabrihcp.com/en\\_us/home/clinical-overview/moa.html](https://www.tysabrihcp.com/en_us/home/clinical-overview/moa.html). Accessed August 2015.
107. Blight AR, Henney HR 3rd, Cohen R (2014) Development of dalfampridine, a novel pharmacologic approach for treating walking impairment in multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci* 1329:33–44.
108. Mullard A (2011) Success of immunomodulators in MS shifts discovery focus to neuroprotection. *Nat Rev Drug Discov* 1;10(12):885–887.
109. Wingerchuk DM, Carter JL (2014) Multiple sclerosis: current and emerging disease-modifying therapies and treatment strategies. *Mayo Clinic Proc* 89(2):225–240.
110. Safety and Efficacy of Intravenous Autologous Mesenchymal Stem Cells for MS: a Phase 2 Proof of Concept Study (MESCAMS). ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02239393>. Accessed August 2015.
111. Xiao J, Yang R, Biswas S et al. (2015) Mesenchymal stem cells and induced pluripotent stem cells as therapies for multiple sclerosis. *Int J Mol Sci* 16(5):9283–9302.

詳細はこちら [www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

## 要約



### 基礎研究、トランスレーショナル生物医学科学、および創薬

全世界において、数百万人が神経変性疾患 (ND) に罹患しており、人類社会および経済的資源に壊滅的な影響を及ぼしています。アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD)、ハンチントン病 (HD)、筋委縮性側索硬化症 (ALS)、多発性硬化症 (MS)、および他のNDなどの疾患は、中枢神経系に特徴的でオーバーラップする領域をターゲットとし、これらの疾患の多くは高齢者に発症する傾向があります。アルツハイマー病は加齢に相関して増加する典型的な例であり、アルツハイマー病発症リスクは65歳以降5年毎に2倍に上昇します。平均余命率が上昇し続けているのに対応した/伴い、NDの蔓延が予測されています。<sup>1</sup>

大部分のNDに対する承認薬は比較的少なく、例えば、これまでに米国食品医薬品局 (FDA) により承認されているMSに対する疾患修飾薬は12種類です。全く対照的に、PDに対する疾患修飾薬および神経保護薬は全く承認されていません。<sup>2</sup> このような究極に致命的な状態の厳しさを考えると、ND治療薬は満たされていないニーズであり、新しい治療戦略の開発が急務です。

有望なND治療戦略の同定および試験のための徹底的な研究開発努力が行われていますが、数多くの取り組むべき重要な課題があります。<sup>3,4</sup>

- **基礎研究:** NDの発症と進行に関与する基本的な細胞機構および分子機構にはギャップが存在します。NDの基礎生物学についてより理解を深めることは、創薬努力の進展の助けとなります。
- **疾患の複雑性:** 主要なND (例えば、AD、HD、およびMS) には、複数の遺伝子変異体に関与しているため、幅広い個々のND患者に適用可能なバイオマーカーと標的経路の同定に困難な努力が必要とされます。
- **研究開発:** 医薬品開発プログラムおよび臨床試験の完了は長期的にわたるプロセスです。現在、疾患修飾性低分子薬、生物学的製剤、細胞ベースの療法および他のアプローチについて、複数の臨床試験において安全性および有効性の評価が行われています。しかしながら、これらのプログラムの多くはオーファンドラッグ指定を受けていないため、承認および臨床での使用まで長期のプロセスを要します。

これらの難題にも関わらず、ND研究は、これらの疾患についてより深く理解するための革新的な戦略を考案し続ける機会を科学界に提供しています。現在進行中およびこれからの研究努力は、改善された治療オプションの開発につながることを期待されます。

### 参考文献

1. Neurodegenerative Diseases. National Institute of Environmental Health Sciences. <http://www.niehs.nih.gov/research/supported/diseases/neurodegenerative/>. Accessed September 2015.
2. Parkinson Disease Treatment & Management. Medscape. <http://emedicine.medscape.com/article/1831191-treatment>. Accessed September 2015.
3. Forum on Neuroscience and Nervous System Disorders; Board on Health Sciences Policy; Institute of Medicine. (2013) *Neurodegeneration: Exploring Commonalities Across Diseases: Workshop Summary*. Washington (DC): National Academies Press (US) Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK164533/>. Accessed September 2015.
4. Ravina B, Cummings J, McDermott M, Poole MR, editors. (2012) *The impact of clinical trials in neurology. Clinical Trials in Neurology: Design, Conduct, Analysis*. New York (NY): Cambridge University Press.

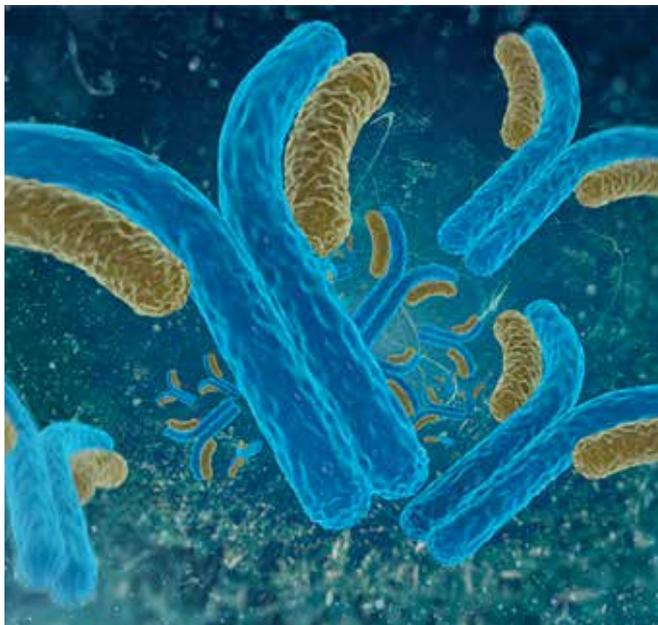
## 目次

抗体およびイムノアッセイ	5-2
抗体アプリケーション	5-3
プロトコルおよびリソースガイド	5-5

# 抗体およびイムノアッセイ

## 神経変性研究のためのパワフルなツール

# 5



当社は、世界中で数多くの文献に引用され、検証済みの広範な抗体ポートフォリオを提供しており、幅広い抗体アプリケーションにおいてより優れた実験結果を達成するお手伝いをします。当社の検索ツールは、40,000を超える高品質の抗体を提供しています。特定の研究分野別の抗体はこちらのサイトをご覧ください。

[www.thermofisher.com/antibodies](http://www.thermofisher.com/antibodies)

### カスタム抗体のご要望—お任せください

当社のカスタム抗体サービスの利点：

- 確かな実績—現在までに18,000を超えるカスタム抗体プロジェクト
- 性能—当社のカスタム抗体の開発、生成、およびスクリーニングサービスは、高品質および安定性を提供
- 優れたサポート—プロセス進行中は、OpenProject™ソフトウェアを介して、お客様のプロジェクトの進捗状況をリアルタイムで管理

当社の抗体サービスには、多くのお求めやすい価格の抗体産生パッケージおよび抗体産生用の特別な精製オプションが含まれ、ペプチドデザインおよびプロジェクトは全て強力なオンラインツールによりサポートされます。全製品についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/customantibodies](http://www.thermofisher.com/customantibodies)

### ELISAキットおよびLuminexキット用のカスタムオプションも提供

当社のカスタムELISAキットの利点：

- スケールアップ可能—既存のELISAキットの、ロット間の一貫性を保証するバルク生産
- 技術的なエキスパート—実績に基づいた高品質イムノアッセイ試薬と生化学製品の大規模生産
- 高効率—バルク量での購入は最大限の時間節約手段

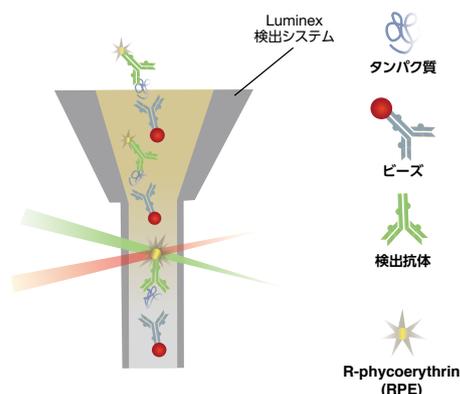
詳しい情報についてはこちらをご覧ください。 [www.thermofisher.com/customelisas](http://www.thermofisher.com/customelisas)

### 当社のカスタムブレンドLuminexキットの利点：

- 選択—メニューから個々のタンパク質ターゲットを組み合わせることができるカスタムオプションを提供
- 最適化—各キットについて低バックグラウンド、高いシグナル/ノイズ比および希釈の直線性を保証する厳格な試験を実施
- 簡便—プレミックス試薬として提供

カスタムキットを選択するためにはこちらのサイトをご覧ください。

[www.thermofisher.com/customluminex](http://www.thermofisher.com/customluminex)



# 抗体アプリケーション

# 5

## 一次抗体

神経変性疾患の発病に寄与する複雑なプロセスに関する理解をさらに深めることで、新しい治療法の開発は加速すると考えられます。神経細胞ネットワークについて観察、追跡、および徹底的に調査するためには、ツールと技術を正しく組み合わせることが必要とされます。

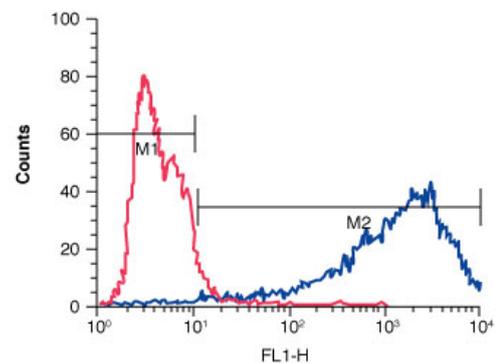
当社では、迅速なタンパク質検出および細胞イメージングのためのツール、ならびにお客様の研究目標の達成をお手伝いするためにデザインされた他の高品質製品を提供しています。

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/antibody-applications](http://www.thermofisher.com/antibody-applications)

## アプリケーション

- 酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)
- 免疫染色
- フローサイトメトリー
- ウェスタンブロッティング
- 免疫沈降
- Luminexアッセイ



**Beta-3 Tubulin mouse monoclonal antibody** 抗β3チューブリン抗体 (製品番号 MA1-118) で染色 (青いヒストグラム)、またはPBS単独でインキュベーションした (赤いヒストグラム) SH-SY5Y神経芽細胞腫細胞のフローサイトメトリー解析

## 二次抗体

二次抗体は、標的抗原を間接的に検出するために使用されます。二次抗体の使用には、一次抗体単独での使用に比べてより多くのステップが必要とされますが、シグナルの増幅による感度の向上や標識および検出オプションにおける高い柔軟性などの重要な利点を提供できます。

当社では、広範なアプリケーションでの一次抗体の蛍光、発色および化学発光ベースの検出に使用するための高品質の幅広い標識および非標識二次抗体製品を提供しています。

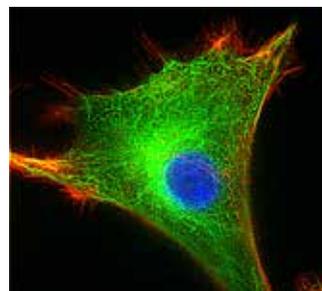
詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/secondary-antibody](http://www.thermofisher.com/secondary-antibody)

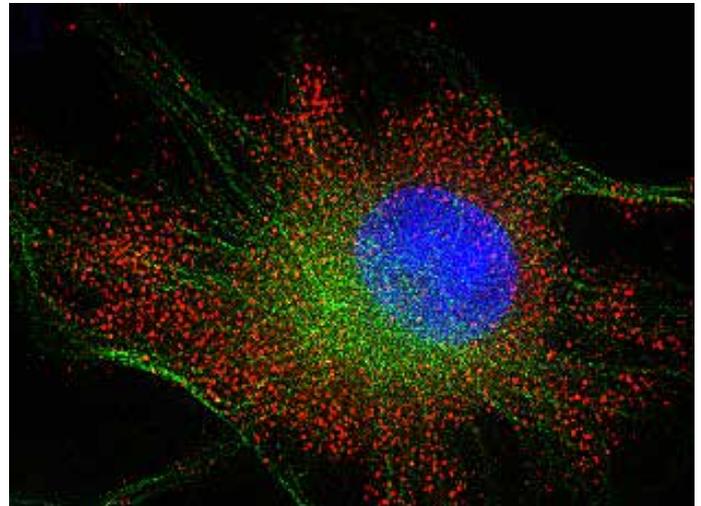
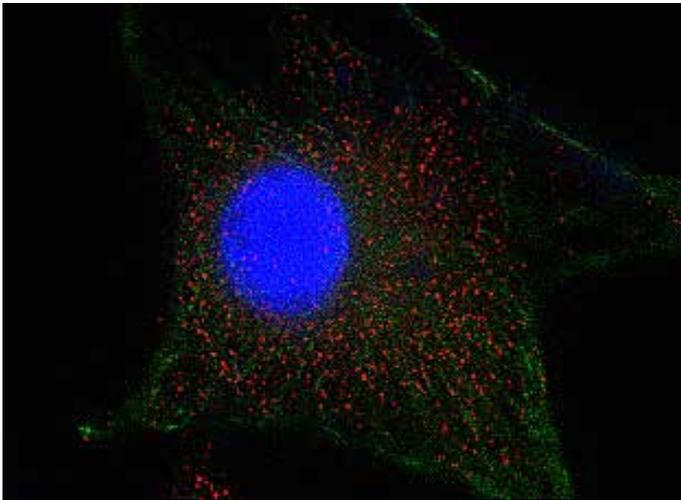
## 二次抗体標識物

- Alexa Fluor™ 色素
- 一般的な蛍光色素
  - フルオレセイン (FITC)
  - R-フィコエリトリン (RPE)
  - アロフィコシアニン (APC)
- 酵素
  - 西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP)
  - アルカリホスファターゼ (AP)

近年、当社では、この研究用二次抗体のラインナップに加えて、新しい技術を採用し、交差反応性を排除するようにデザインした、Superclonal二次抗体を発売しました (5.4ページを参照)。



**Goat anti-Mouse IgG (H+L) Superclonal Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 conjugate**  
抗α-チューブリン抗体 (製品番号 322500) で反応後、Goat anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 conjugate antibody (製品番号 A28175) (緑色) で染色したU-87 MGヒト神経膠芽腫細胞の免疫蛍光分析。核はSlowFade Gold褪色防止用封入剤を使用して、DAPI (青色) で染色、F-アクチンフィラメントはローダミンファロイジン(赤色) で染色。



## Superclonal二次抗体—交差反応性を排除するよう デザインされた新発想の二次抗体

**Thermo Scientific™ Superclonal™二次抗体は圧倒的に低いバックグラウンドを実現** 一次抗体の $\alpha$ -チューブリン抗体 (B-5-1-2) (製品番号 32-2500) (緑色) およびDISC1 ABfinity oligoclonal antibody (製品番号 710203) (赤色) で共標識したU-87 MGヒト神経膠芽腫細胞の免疫蛍光分析。細胞はGoat anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 conjugate (製品番号 A-11029)およびGoat anti-Rabbit IgG (H+L) Secondary Antibody, Alexa Fluor 555 conjugate (製品番号 A-21428) で標識 (左パネル)、またはGoat anti-Mouse IgG (H+L) Superclonal Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 conjugateおよびGoat (製品番号 A28175) anti-Rabbit IgG (H+L) Superclonal Secondary Antibody, Alexa Fluor 555 conjugate (製品番号 A27039) で標識 (右パネル) しました。核はSlowFade Gold褪色防止用封入剤を使用して、DAPIで染色 (青色)、F-アクチンフィラメントはローダミンフロロイジンで染色しました (赤色)。

Thermo Fisher Scientificでしか入手できない、正確で精度の高い一次抗体の検出を可能とする、完全に新しいカテゴリーの二次抗体をご利用ください。

Superclonal二次抗体の組換え技術は、モノクローナル抗体の感度を持つ、正確な一次抗体の検出を提供する、一次抗体検出の新しいスタンダードです。

ユニークで新しいSuperclonal二次抗体の特長：

- 一次抗体の検出において交差反応性を排除するようにデザイン
- 一次抗体の検出の正確さと精度を向上させた組換えモノクローナル抗体として開発
- 抗体遺伝子をクローニングすることで、動物由来の変動を排除し、ロット間差を極小化
- ELISA、ウェスタンブロット、および細胞イメージング (ICC、IF、およびIHC) アプリケーションにおいて優れた結果が得られるように選択および最適化
- ビオチン、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP)、およびAlexa Fluor 488~790色素による標識・非標識抗体をラインナップ

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。[www.thermofisher.com/superclonal](http://www.thermofisher.com/superclonal)

# プロトコルおよびリソースガイド

# 5

詳しい情報については、下記の各リンクにアクセスしてください。 [www.thermofisher.com/applications-handbook](http://www.thermofisher.com/applications-handbook)

## 酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)

- Overview of ELISA Technology
- Assay Development Technical Handbook
- ELISA Development and Optimization
- ELISA Enzyme Substrates Selection Guide

## 免疫染色

- Immunostaining Guide
- Cell Staining Simulation Tool
- Immunofluorescence Imaging
- Immunohistochemistry
- Molecular Probes™ School of Fluorescence

## フローサイトメトリー

- Molecular Probes™ Flow Cytometry Products and Research Guide
- Molecular Probes™ Flow Cytometry Reagent Guide and Protocols App
- Fluorescence SpectraViewer

## ウェスタンブロットティング

- Overview of Western Blotting
- Western Blot Workflow Selection Guide
- Western Blot Chemiluminescent Substrate Selection Guide
- Western Blotting Handbook and Troubleshooting Guide

## 免疫沈降 (IP)

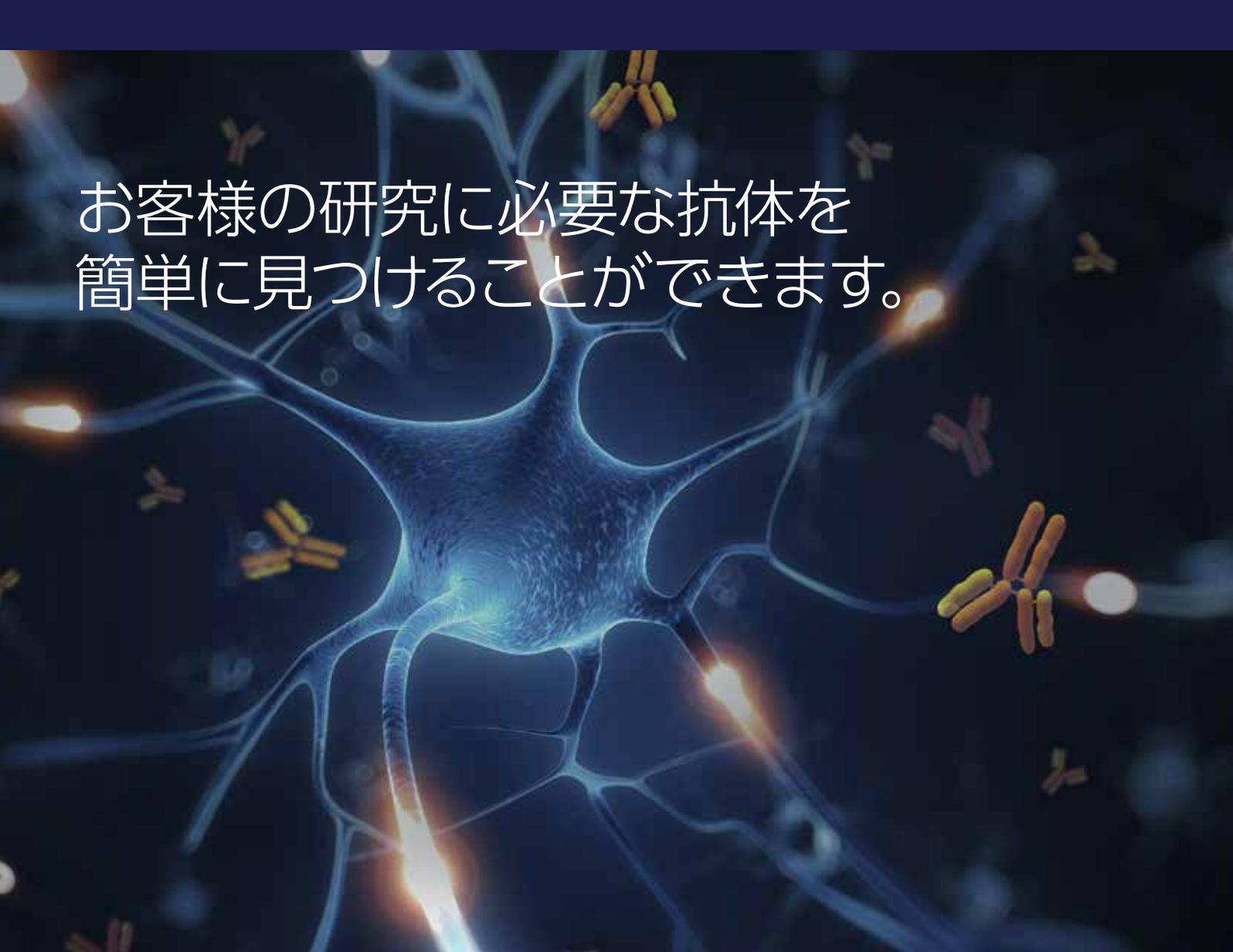
- IP with Dynabeads™ and Other Magnetic Beads
- IP with Agarose and Other Resins
- ChIP, RIP, and Protein-Nucleic Acid Pull-Down Magnetic Beads and Kits

## Luminexアッセイ

- How Luminex™ Technology Works
- Measure Multiple Signaling Proteins in a Single Microplate Well
- Luminex™ FAQs

## タンパク質解析および抗体精製の無料ガイド

## イメージギャラリー



お客様の研究に必要な抗体を  
簡単に見つけることができます。

当社のラインナップからお客様の研究に適した抗体を見つけてください。当社は、簡単、迅速、そして確実にお客様が求める抗体を見つけられるように尽力しています。当社は、4万を超える抗体を取り揃えており、オンラインで簡単に検索・注文いただけます。当社はカスタム抗体サービスも提供しています。

研究用のみ使用できます。診断目的およびその手続上での使用はできません。

記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 [www.thermofisher.com/jp-tct](http://www.thermofisher.com/jp-tct)

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. © 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. DRAQ5 is a trademark of Biostatus Limited. Hoechst is a trademark of Hoechst GmbH Corporation. Luminex is a trademark of Luminex Corporation.

Printed in Japan. PA027-A16060B

販売店

**サーモフィッシャーサイエンティフィック  
ライフテクノロジーズジャパン株式会社**

本社：〒108-0023 東京都港区芝浦 4-2-8

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ [jpotech@thermofisher.com](mailto:jpotech@thermofisher.com)

オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX: 03-6832-9584

営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX: 03-6832-9580

[facebook.com/ThermoFisherJapan](https://www.facebook.com/ThermoFisherJapan) [@ThermoFisherJP](https://twitter.com/ThermoFisherJP)

[www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC