

マサチューセッツ総合病院ブレインバンクプログラムに登録された患者の
ご家族の皆様へ

東京大学大学院医学系研究科神経病理学分野では、匿名化された脳組織の提供を受けてアルツハイマー病患者脳に蓄積する老人斑形成に関する研究を実施しております。

【研究課題】

アルツハイマー病脳老人斑蓄積機序の解明（審査番号:11959）

【研究機関名及び研究責任者氏名】

研究機関:東京大学大学院医学系研究科 神経病理学分野

研究責任者:岩坪 威 教授

【研究期間】

2018年8月22日～2022年3月31日

【対象となる方】

マサチューセッツ総合病院ブレインバンクプログラムにおいて登録された患者及びご家族の皆様

【研究の意義・目的】

アルツハイマー病は初老期に発症し、認知症を主症状とする進行性の神経変性疾患であり、高齢化を迎えた現代社会において、アルツハイマー病の克服は喫緊の課題と言えます。アルツハイマー病患者の脳や海馬には、老人斑と呼ばれる蓄積物が出現することが病理学的に知られています。老人斑の主要構成成分はアミロイドβタンパク質からなるアミロイド線維ですが、どのようにしてアミロイドβタンパク質（以下Aβ）が線維化して脳に蓄積し、アルツハイマー病を引き起こすのか、その機序は未だ明らかになっていません。近年、異常構造をとった多量体Aβがアミロイド蓄積の核となる可能性が見出されました。そこで本研究では、アルツハイマー病患者脳からアミロイド蓄積の核となるAβ分子種を分離・同定し、その性状を解析し、老人斑形成のメカニズムを明らかにすることを目的とします。

【研究の方法】

(疾患脳の入手)

1. Massachusetts Alzheimer's Disease Research Center において、アルツハイマー病、及びコントロールの凍結脳を選び、superior frontal 領域を 1g 切り出す。
2. 切り出した凍結脳を Federal Express により輸送する。
3. 東京大学において受領する。

(A β 蓄積実験)

1. 凍結脳を解凍後、トリス緩衝液 (以下 TBS) 中で破砕する。
2. 破砕サンプルを超遠心し、TBS 可溶画分を得る。
3. TBS 可溶画分をサイズ排除クロマトグラフィー法により分画する。必要がある場合はさらに生化学的手法を用いて精製する。
4. 分画したサンプルより A β 陽性画分を得る。
5. 脳定位固定装置を用いて A β 陽性画分をマウス脳海馬に注入し、3~4 ヶ月間飼育する。
6. マウス脳を摘出し、組織化学的解析は 7 へ、生化学的解析は 9 へ。
7. マウス脳を 4%パラフォルムアルデヒドにより固定後、パラフィン包埋し、マイクロームで細切してパラフィン切片を作製する。
8. 抗 A β 抗体を用いて、パラフィン切片を染色し、蓄積した A β 量を定量する。
9. マウス脳を段階抽出法によって抽出し、TBS 可溶画分、2%SDS 可溶画分、70%ギ酸画分を取得し、各脳画分中の A β 濃度を測定する。
10. 8、9 の結果から疾患脳抽出 A β タンパク質の、アミロイド蓄積誘引能を評価する。

【個人情報の保護】

この研究に関わって収集される試料や情報・データ等は外部に漏洩することの無いよう慎重に取り扱う必要があります。

人体試料は Massachusetts Alzheimer's Disease Research Center において、氏名・住所・生年月日などの個人情報を削り、新たに新しい符号をつけて、どなたのものか分からないよう匿名化され、当研究室に提供されます。

凍結脳及び得られたサンプルは鍵のかかる超低温フリーザーに保管され、当研究室で厳重に保管されます。またサンプルは解析終了後速やかに廃棄行います。

研究結果は、個人が特定出来ない形式で、学会や学術論文において発表させていただきます。収集したデータは厳重な管理の下、研究終了後5年間保存されます。研究データを纏めた結果は、お問い合わせがございましたら開示致しますので、以下の連絡先へお尋ね下さい。

本研究に関する費用は、東京大学大学院医学系研究科・神経病理学分野における科学研究費補助金(基盤研究(B)研究課題番号 17H04193、研究代表者:東京大学大学院医学系研究科・神経病理学分野 岩坪威 教授)から支出されております。

ご家族の試料を本研究に使用されたくない場合は、2018年12月31日までに以下の連絡先へご連絡下さい。ご連絡を頂かなかった場合、ご了承頂いたものとさせていただきます。

【本研究に関する連絡先】

東京大学大学院医学系研究科神経病理学分野・橋本唯史 特任准教授

住所:東京都文京区本郷 7-3-1

電話:03-5841-3533

Fax:03-5841-3613

電子メールアドレス:tonchan@m.u-tokyo.ac.jp

**Announcement for the family member
enrolled in the brain donation program at MGH**

Department of Neuropathology, the University of Tokyo will carry out the study in the mechanism of the amyloid β peptide ($A\beta$) deposition in the Alzheimer's disease brain by utilizing precious brains in the brain bank at Massachusetts General Hospital (MGH).

【Title of Project】

Investigation of the mechanisms of amyloid β deposition in the Alzheimer's disease brain.

(Authorization Number: 11959)

【Principal Investigator and Organization】

Professor Takeshi Iwatsubo

Department of Neuropathology, Graduate School of Medicine,
the University of Tokyo

【Dates of Research Period】

From 2018/8/22 Through 2022/3/31

【Brain Bank】

Massachusetts Alzheimer's Disease Research Center has a brain bank for the subjects and patients enrolled in the brain autopsy and donation program at MGH.

【Research Purpose】

Alzheimer's disease (AD) is a common progressive

neurodegenerative disorder in elderly people. The main clinical characteristic of AD is a progressive memory impairment. Massive deposition of senile plaques in the brain was pathologically characterized. $A\beta$ is the central component of senile plaques, however, it is still unclear how $A\beta$ aggregates and deposits in the patients' brains. Recently, it has been reported that oligomeric $A\beta$ may play a role in the "aggregation seeds" in the brain. The purpose of this research is to elucidate the mechanisms whereby $A\beta$ deposits in the elderly brains. We will identify the species of oligomeric $A\beta$ from patients' brains and evaluate their ability in the aggregation seeds in the brain.

【Research Strategies】

(Frozen Brains)

1. Request 6 Alzheimer's cases and 6 control cases to Massachusetts Alzheimer's Disease Research Center.
2. Massachusetts Alzheimer's Disease Research Center cut the 1g of frozen gray matter (superior frontal region) in each case and send it to Department of Neuropathology, the University of Tokyo.
3. Receive frozen brains at Department of Neuropathology, the University of Tokyo.

(Experimental Procedures)

1. Homogenize the brains in the Tris-saline buffer (TBS).
2. Centrifuged and obtain the supernatant.
3. Separate the supernatant by size-exclusion chromatography. If necessary, we will further purify it by biochemical techniques.
4. Isolate $A\beta$ -rich fraction from separated elutants.
5. Inject $A\beta$ -rich fraction into hippocampus of the mice using a stereotaxic device.

6. After 3 to 4 months, dissect brains from injected mice.
7. For immunohistochemical analyses, brains were fixed in 4% paraformaldehyde, embedded in paraffin and sliced.
8. Immunolabel the slices using anti-A β antibody and measure the area of A β deposition in the hippocampus.
9. For biochemical analyses, brains were extracted serially by solvents (TBS, 2%SDS, and 70% formic acid). Measure the concentration of A β .
10. From the results of “8” and “9”, evaluate the ability of A β sample derived from patients’ brains as “aggregation seeds”.

[Protection of Human Subjects]

In this study, we will utilize frozen human brains from brain bank at Massachusetts Alzheimer’s Disease Research Center. All human material is coded such that investigators cannot access any patient identity.

All human materials will be stored in the locked -80°C freezer. All human materials and samples obtained in this project will be disposed at the end of this project.

The experimental results of this project will be presented in research conferences or in research papers. We will stock the experimental results until March 31st, 2027. If you would like to have a look at the results, please contact us below.

This project is supported by the research grant by Grants-in Aid for Scientific Research (B) (17H04193, PI: Takeshi Iwatsubo) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan.

You may make enquiries at the below address. If you do not agree with the usage of the brain in this project, please inform it to below address until December 31st, 2018.

Dr. Tadafumi Hashimoto

Department of Neuropathology, Graduate School of Medicine,
The University of Tokyo

Address: 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

Phone: (+81)-3-5841-3533

Fax: (+81)-3-5841-3613

E-mail: tonchan@m.u-tokyo.ac.jp