

分子基盤研究部

(1) 構成員

部長 高島 明彦

室長

病態モデル動物解析室 木村 哲也

標的治療開発室 住岡 暁夫

流動研究員

鈴木 真美子

脳プロ研究員

添田 義行

吉川 弥里

研究補助員・実験補助員

山本 みどり

研究補助員・事務補助員

今井 麻衣子

(2) 平成 26 年度研究活動の概要

分子基盤研究部は平成 22 年度 4 月 1 日にスタートした認知症先進医療開発センター(Center for Development of Advanced Medicine for Dementia, CAMD)に新設された研究部である。当研究部門は病態モデル動物解析研究室と標的治療開発研究室の 2 室で構成され、超高齢化社会を迎え急増する認知症の発症や進行を抑止するため病理学的特徴の一つである神経原線維変化に注目し、脳老化、認知症の分子機構を明らかにすることで標的分子を決定し、薬剤の開発を行うことをミッションとしている。平成 23 年 5 月 1 日に病態モデル動物解析研究室長として理化学研究所から木村哲也が着任した。標的治療開発研究室長住岡暁夫は平成 24 年 4 月 1 日に米国イエール大学から着任し、研究を開始した。本年度の研究成果はそれぞれの報告に詳細

してある。分子基盤研究部部長高島は、理研から平成 23 年 5 月 1 日に着任し、これまでスクリーニングしたタウ凝集阻害剤 X1 について細胞実験、動物実験を行い、動物モデルにおいて、X1 がタウ凝集とそれに伴う神経脱落、神経機能低下、行動異常を有意に抑制できることを示した。この結果を基に、臨床試験の検討を行ったが安全性に対する賛同が得られなかったため、さらに毒性の少ない化合物として DX1 を開発した。X1 と同等のタウ凝集抑制効果を示したが、新規化合物であること及び X1 と比べて優位性が僅かであることから X1 を基本として安全性試験を行った。既報から臨床用量で十分なタウ凝集抑制脳内濃度に達することから、サルを用いた臨床用量 15mg 投与までの 8 週間安全性試験を行い、心臓、他の臓器に問題がないことを確認した。同時に作用機序を調べるため X1 のタウへの結合部位を検討した。その結果、Cys への結合が観察された。質量分析装置、NMR を用いた検討で X1 は前駆体で酸化されることにより Cys の SH 基と共有結合し、タウのオリゴマー形成を阻害することを明らかにした。これらのことから、タウ Cys 残基が治療薬の標的になることを示した。

APP マウスの解析から老齢マウスと同様の海馬過活動が観察され、 $A\beta$ が老化促進因子であることが示された。この過活動はタウ発現に依存しており、この現象の詳細な解析によって $A\beta$ 蓄積からタウ凝集へのメカニズムを明らかにすることが可能であると推測している。

病態モデル動物解析室：室長 木村哲也、流動研究員 鈴木真美子
タウの生理機能とその臨床応用に関する研究

【タウオリゴマー形成機序の解明】

タウの生理的役割と病理形成機序を理解することを目的として、タウが必須であることを示したシナプスの長期抑圧（LTD）誘導過程が、タウ病理の形成にどのような影響を与えるのかを調べている。これまでにLTD誘導によって特に加齢個体では顕著なタウオリゴマーの形成が起こることを見出した。本年度は、この刺激誘導性タウオリゴマー形成のメカニズムにおける加齢効果の解析を主に行った。

まず、LTD機構そのものの加齢依存的变化を調べた。主に in-vivo 標本を用いて局所場電位計測法によりタウノックアウト効果の加齢依存性を調べ、タウ欠損によるLTDの抑止効果そのものには影響しないことが明らかになった。

次に、LTDの形成に必要とされるタンパク質代謝経路の薬理的抑制効果を調べることで、プロテオソーム代謝経路のLTD形成（これに必要なAMPA受容体代謝）における貢献度が加齢依存的に減衰することが明らかになった。さらに、加齢依存的にLTD形成への貢献度が増すプロテオソーム経路とは異なるタンパク質代謝経路（非プロテオソーム経路）を見出した。このことより、加齢した脳における（NMDA依存型）LTD形成メカニズムは若齢時のものと異なることが明らかになった。

加齢脳で新たに見出したLTDにより活性化するタンパク質代謝経路とLTD刺激誘導型タウオリゴマー形成現象

との関係を明らかにする目的で、薬理学的手法によって代謝経路阻害を行い、タウオリゴマー形成に与える影響を検討した。結果として、この非プロテオソーム経路の活性化そのものがLTD刺激誘導型タウオリゴマー形成に重要な役割をもつことが示された。

タウオリゴマー形成と非プロテオソーム経路との関係を検証する目的で、正常に形成されたタウオリゴマーを、オリゴマー特異的タウ抗体（T22）を用いて免疫沈降法により回収、解析を行った。回収されたタンパク重合体にはタウ以外に非プロテオソーム経路にターゲットを誘導するアタッチメントタンパクも含まれていることが明らかになり、確かに非プロテオソーム経路と刺激誘導型タウオリゴマー形成は深い関連をもつことが確かめられた。

本年度の研究によって、1）シナプスの可塑性を支持するメカニズムが加齢依存的に変化すること、2）この変化に伴って脳神経系はタウオリゴマーを神経活動依存的に（LTDを誘導する活動パターンに依存して）形成するようになることが明らかになり、加齢に依存したタウの神経細胞内蓄積のメカニズムの一部が解明された。

標的治療開発室：室長 住岡暁夫

脂質膜によるタウ病変の制御

アルツハイマー病 (AD) は本邦でもっとも患者数の多い認知症で、根本療法の開発が急務である。タウの病変はADに見られる神経変性の原因の一つであると考えられている。

私はタウ凝集・局在制御の場として脂質二重膜に注目し、膜脂質によるタウ病変制御モデルを提案し、これまでに、タウが特異的に結合する脂質成分 LX1 を同定している。

H26 年度は、以下の研究目標に取り組んだ。

1. LX1 によるタウ凝集への作用
2. LX1 によるタウ病変伝播への作用
3. 生体内 LX1 のタウ病変への役割

研究目標 1 昨年度までに、タウが特異的に結合する膜脂質成分 LX1 が試験管内でのヘパリン誘導性のタウ凝集を抑えることを明らかにした。しかし、生体内で起こるタウの凝集の誘導剤は不明である。そこで、細胞系におけるタウ凝集への LX1 の作用を検証した。

P301L 変異型タウを発現させた培養細胞に LX1 を投与し、サルコシル不溶性画分を回収し、ウェスタンブロット法で定量した。その結果、LX1 投与によるタウ凝集の減少が観察された。

研究目標 2 タウの病変は、AD 進行に伴い拡大する。近年、この拡大が細胞外の経路を介し伝播する仮説が提

案されている。そこで LX1 によるタウ病変伝播への作用を検討した。

培養細胞系で LX1 の投与は、細胞外へ放出されるタウの量を減少させた。蛍光ラベルしたタウを投与した場合、LX1 はタウの細胞への取り込みを促進させた。しかし、これを Seed とするタウの凝集は観察されなかった。

研究目標 3 LX1 の合成酵素遺伝子を欠損させたマウスを用い、生体内 LX1 のタウ病変に対する役割を検証した。

合成酵素遺伝子 KO マウスの海馬破碎物を SDS-PAGE、ウェスタンブロットにかけ、蛋白質の発現を観察した。その結果、抗リン酸化タウ抗体によるブロットで、LX1 欠損マウスにおいてタウの過剰なリン酸化が観察された。

H26 年度の研究から、タウが特異的に結合する脂質成分 LX1 は、タウの凝集や病変の伝播を抑える作用を有し、生体内における LX1 の欠乏はタウの過剰リン酸化を起こすことを明らかにした。興味深いことに、複数の研究グループより、AD 患者や AD モデルマウスにおいて、脳内 LX1 量の減少が報告されている。これらの知見は、LX1 の減少がタウの病変を介して AD を増悪させる新たなモデルが考えられる。今後、LX1 を標的とする AD 治療薬の開発を目指していきたい。

研究業績（分子基盤研究部）

I. 論文発表

1. 原著

- 1) Sahara N, Murayama M, Higuchi M, Suhara T, Takashima A.
Biochemical Distribution of Tau Protein in Synaptosomal Fraction of Transgenic Mice Expressing Human P301L Tau.
Front Neurol. 2014 Mar 11;5:26. doi: 10.3389/fneur.2014.00026.
eCollection 2014. PMID: 24653715
- 2) Sato C, Hoshino M, Ikumi N, Oba K, Koike A, Shouno O, Sekiguchi T, Kobayashi T, Machida T, Matsumoto G, Furudate H, Kimura T.
Contribution of Nucleus Accumbens Core (AcbC) to Behavior Control during a Learned Resting Period: Introduction of a Novel Task and Lesion Experiments.
PLoS One. 2014 Apr 28;9(4):e95941. doi: 10.1371/journal.pone.0095941.
eCollection 2014.
- 3) Umeda T, Maekawa S, Kimura T, Takashima A, Tomiyama T, Mori H.
Neurofibrillary tangle formation by introducing wild-type human tau into APP transgenic mice.
Acta Neuropathol. 2014 May; 127(5):685-98.
doi:10.1007/s00401-014-1259-1. Epub 2014 Feb 15. PMID: 24531886
- 4) Sotiropoulos I, Silva J, Kimura T, Rodrigues AJ, Costa P, Almeida OF, Sousa N, Takashima A.
Female Hippocampus Vulnerability to Environmental Stress as Precipitating Factor in Tau Aggregation Pathology.
J Alzheimers Dis. 2015 Jan 1;43(3):763-74. doi: 10.3233/JAD-140693.
- 5) Okuda M, Hijikuro I, Fujita Y, Wu X, Nakayama S, Sakata Y, Noguchi Y, Ogo M, Akasofu S, Ito Y, Soeda Y, Tsuchiya N, Tanaka N, Takahashi T, Sugimoto H.
PE859, a Novel Tau Aggregation Inhibitor, Reduces Aggregated Tau and Prevents Onset and Progression of Neural Dysfunction In Vivo.
PLoS One. 2015 Feb 6;10(2):e0117511. doi: 10.1371/journal.pone.0117511. eCollection 2015. PMID: 25659102

2. 総説

- 1) Takashima A.
Toxic Tau Aggregation in AD.
GeNeDis 2014 : Advances in Experimental Medicine and Biology Volume 822, 2015, pp3-9, 30 Oct. 2014
- 2) 添田義行, 高島明彦.
認知症の疾患修飾薬の現状～抗タウオパチー薬を中心として～.
臨床神経学 54 (12), 1178-80. doi: 10.5692/clinicalneuro.54.1178.

3. 著書、Chapters

- 1) 高島明彦, タウ伝播と免疫療法, *Psychiatry Today* No. 35, p8-9, 2014 年 12 月

4. その他

- 1) 高島明彦, 安心, 2014 年 6 月号, 若返る脳-15 の革命的自力療法-
- 2) 高島明彦, 淋しい人はボケる～認知症になる心理と習慣～, 幻冬舎新書
2014 年 7 月 30 日
- 3) 高島明彦, 産経新聞出版: 終活読本ソナエ vol.6 2014 年秋号, 避けたい寝たきりその 2 アルツハイマー
- 4) 高島明彦, 大法輪 第 82 巻 平成 27 年 2 月号, 老年性うつにならないための 10 ヶ条.

5. 新聞・報道等

なし

6. 特許申請、取得状況

- 1) 発明者: 宮坂知宏、杉本八郎、時實梨衣、新崎由紀、大江洋平、太田哲男、高島明彦、添田義行、井原康夫
発明の名称: タウ凝集阻害剤
出願年月日: 2014 年 4 月 2 日
出願番号: PCT/JP2014/001919
出願人: 学校法人同志社、独立行政法人国立長寿医療研究センター

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

- 1) Takashima A.
Tau as a key protein for converting brain aging to dementia.
University of Athens Medical School-Mini Symposium, Athens, Greece.
April 9, 2014.
- 2) Takashima A.
Toxic tau aggregation in AD.
1st World Congress on Geriatrics & Neurodegenerative Diseases Research,
Corfu, Greece. April 11, 2014.
- 3) 添田義行,
公募シンポジウム 5 認知症の疾患修飾薬の現状～抗タウオパチー薬を中心として～.
第 55 回日本神経学会学術大会, 2014 年 5 月 21 日, 福岡.
- 4) 高島明彦
タウ分子からアプローチするアルツハイマー病.
公益財団法人新世代研究所 バイオ単分子研究会, 2014 年 7 月 26 日, 静岡県伊東市.
- 5) Takashima A.
Tau /tau interaction through Cys residue form a toxic tau aggregate.
7th Asian Aging Core for Longevity (AACL) conference in Jeju, Jeju, Korea.
September 22, 2014.
- 6) 高島明彦
タウの基礎研究から試みる認知症治療薬開発.
シンポジウム「アルツハイマー病先制治療薬の創出」, 名古屋市, 2015

年 1 月 17 日.

- 7) Takashima A.
Aging and Tau.
Asian Aging Core for Longevity (AACL) 10 years and Beyond Japan-Korea
Joint Seminars, Osaka, Japan. March 12, 2015.

2. 国際学会発表

- 1) Takashima A.
Granular tau oligomer as toxic tau aggregation form in AD.
Alzheimer's Association International Conference 2014, Copenhagen,
Denmark. July 14, 2014.
- 2) Sumioka A, Goto A, Soeda Y, Takashima A.
Tau pathology regulated by membrane lipid.
The 44th annual meeting of the Society for Neuroscience, Washington, DC,
USA, November 19, 2014.
- 3) Soeda Y, Maeda S, Osada H, Miyasaka T, Kimura T, Yoshikawa M, Yoshiike Y, Sumioka A, Sugimoto H, Ihara Y, Takashima A.
Capping Cysteine Inhibits Tau Aggregation and Neuronal Loss.
The 12th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases.
Nice, France. March 20, 2015.

3. 国内学会発表

- 1) 鈴木真美子, 木村哲也
シナプス可塑性におけるタウの役割.
第 37 回日本神経科学大会, 横浜市, 2014 年 9 月 11 日.
- 2) 吉川弥里, 高島明彦
短時間撮像エーケエンスを用いた in vivo マンガン増強 MRI 法の方法確立.
第 37 回日本神経科学大会, 横浜市, 2014 年 9 月 12 日.

4. その他、セミナー等

- 1) 高島明彦
アルツハイマー病治療の最前線～脳の老化とアルツハイマー病～.
桜ヶ丘公民館市民講座桜ヶ丘大学, 2014 年 6 月 10 日, 岐阜県可児市.
- 2) 高島明彦
アルツハイマー病治療最前線～脳の老化とアルツハイマー病～.
第 62 回 群馬大学保健学公開セミナー, 前橋市, 2014 年 10 月 17 日.
- 3) 高島明彦
アルツハイマー病: タウに根ざした新たな治療薬開発戦略.
Asian Aging Core for Longevity 市民公開講演会, 奈良市, 2015 年 3 月
11 日.

Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

なし

2. 文部科学省

1) 高島明彦, (分担) 4,465 万円

脳科学研究戦略推進プログラム.

抗タウオパチー薬の創出 (動物モデルを用いた化合物スクリーニング、および神経機能障害機構解明) .

2) 高島明彦, (代表) 1,885 万円 (総額 5,720 万円)

平成 26 年度科学研究費助成事業 (科学研究費補助金 (新学術領域研究 (研究領域提案型))) .

タウのタンパク質老化と毒性機序.

3) 住岡暁夫, (代表) 104 万円 (総額 104 万円)

平成 26 年度科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金 (若手研究 (B))) .

脂質代謝異常によるアルツハイマー病発症機構.

3. 財団、その他

1) 住岡暁夫, (代表) 200 万円 (総額 200 万円)

小野医学研究財団第 26 回 (平成 25 年度) 研究助成.

脂質代謝異常によるタウ病変形成の制御.

2) 住岡暁夫, (代表) 200 万円 (総額 200 万円)

公益財団法人東京生化学研究会平成 24 年度研究助成 (次年度分) .

膜脂質によるタウ輸送制御の解明.