

## 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・研究員

鈴木 真美子

吉武 淳

添田 義行 (10/1～外来研究員)

吉川 弥里

研究補助員・事務補助員

佐治 多美子

今井 麻衣子

### (2) 平成 27 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 日に米国イェー

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、タウ凝集阻害剤の開発、新規標的開発を行った。この研究部のプロジェクトは本年 3 月末をもって終了とする。

高島らはスクリーニングしたタウ凝集阻害剤イソプロテレノールについて細胞実験、動物実験を行い、動物モデルにおいて、イソプロテレノール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。さらに安全化合物として光学異性体 DX1 を開発した。イソプロテレノール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イソプロテレノールと比べて優位性が僅かであることからイソプロテレノール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。サルへのプロタノール S 錠経口単回投与では臨床容量の 100 倍まで問題は生じず、血中濃度は投与後 3-5 時間でピークとなり、その後 8-10 時間で消失した。脳内へは血中から 20%が移行し臨床容量の投与で十分なタウ凝集阻害濃度に到達するこ

とが示された。

作用機序の検討ではイソプロテレノールのタウへの結合部位が Cys であり、共有結合をすることが質量分析装置、NMR を用いた検討で明らかとなった。イソプロテレノールは作用の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いた。この海馬過活動は MCI 患者でも観察されており、海馬過活動の詳細な解析が 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。海馬過活動に関連してグルタミン酸刺激がタウの樹状突起、シナプスでの過剰発現を導き、神経変性におけるタウの somatodendrite 分布を引き起こすことを見出した。

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、タウ病理の形成に与える影響を調べている。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。

さらに、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 形成における貢献度が加齢依存的に減衰し、非プロテオソーム経路の貢献度が増すことを見出し、さらに、LTD 依存性タウオリゴマーの形成には非プロテオソーム経路の活性化が必要であることを明らかにしてきた。本年度は、オリゴマー特異的タウ抗体（T22）を用いて回収されるタウオリゴマーの解析を行い、①T22 選択性タウオリゴマー形成も LTD によって増量すること、②LTD 後に回収された T22 選択性タウオリゴマーには AMPA 受容体が接続していること、などを見出した。すなわち、LTD 誘導性タウオリゴマー形成は AMPA 受容体代謝経路の活性化と高い相関があるイベントであることが明らかとなった。さらに薬理学的手法によって非プロテオソーム代謝経路の後段にあたるリソソームの活性化阻害を行い、非プロテオソーム経路におけるタンパ

ク質の集積課程が 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確認された。

さらに興味深いことに、LTD 操作で非プロテオソーム経路を活性化し、さらにリソソーム活性を障害した場合、形成されるタウオリゴマーは過剰にリン酸化され、これまでと異なる形状をなすことを見出した。このタウオリゴマーの特徴は病理的タウ凝集体の特徴を示し、LTD 経路が病理的タウ凝集体の供給源の 1 つとなりうることを示された。

【タウオパチー重篤化機序の解明】

細胞外へのタウ凝集体投与は強い神経毒性を示し、細胞内タウの凝集課程に多大は影響を与えることが最近明らかにされた。本研究では、細胞外タウ凝集体の病理的作用と見出した細胞内タウ凝集体形成メカニズムとの関係を明らかにする目的で、細胞外タウのシナプス毒性について解析を開始した。これまでのところ、①AD 由来のタウ凝集体は、シナプスにおける LTP(長期増強)を障害するとともに、②LTD 様のシナプスの減衰を直接誘導することが明らかになった。特に②は加齢に依存しておこるイベントであり、新たに明らかにされたシナプスの加齢依存的変化といえる。LTD 経路は病理的タウ凝集体形成経路の 1 つであることは上で示したが、リソソ-

マルエンドサイトーシスを介して細胞外タウ凝集体の供給源にもなりうる。これらのことから、細胞内で形成された細胞外タウ凝集体が再び細胞内タウの凝集を促進するというこれまでにはないタウオパチー重篤化のメカニズムが存在する可能性が示された。今後、この仮説を検証し、「タウオパチー重篤化」という新たな創薬ターゲットの実態を明らかにする予定である。

## 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ている。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、LX1 の欠乏が脳内タウの過剰リン酸化を誘導すること、培養細胞系で LX1 投与がタウの凝集を抑制することを見出している。興味深いことに、AD 患者脳における LX1 の低下が報告されている。そこで、タウの病変を防ぎ AD 増悪を治療する標的として、LX1 に注目し研究を行っている。

H27 年度は、以下の研究目標に取り組んだ。

1. 内在性 LX1 によるタウの病変制御
2. タウによる細胞毒性の評価系構築

研究目標 1 LX1 を標的とする妥当性を検証するため、内在性 LX1 によるタウ病変変化を観察したい。そこで、マウスと培養細胞で、内在性 LX1 の代謝調節を試みた。既に合成酵素の欠損マウスで、脳内タウの過剰リン酸化を確認している。そこで、タウ P301L-Tg マウスと合成酵素の欠損マウスと交配した。その結果、Tg マウスで、内在性タウのより顕著な過剰リン酸化が観察

された。さらに、LX1 の代謝酵素に注目し、放射線医学研究所との共同研究で、代謝酵素の欠損マウス作成を試み、ヘテロ個体を得た。また、培養細胞系において、LX1 の合成酵素、代謝酵素・補酵素を対象に ShRNAi による遺伝子安定抑制株の作成を試み、成功した。

研究目標 2 探索後、候補化合物群を評価・選別する必要がある。そこで、タウによる毒性を細胞で評価する実験系の構築を試みた。初めに Tet 誘導タウ発現システムを利用したが、一部のタウ変異体株が得られなかった。そこで次に Tau-IRES-Venus の一過的発現系を構築した。その結果、オリゴマー型のタウ変異体で、蛍光シグナルの顕著な低下が観察された。

H27 年度の研究から、マウスの内在性 LX1 の調節する方法を確立した。これらのマウスを用いて、内在性 LX1 によるタウ病変制御の有効性を検証したい。また、培養細胞系における遺伝子抑制系を用いて、内在性 LX1 調節に有効な標的酵素を定めたい。そして、これらの研究をもとに、LX1 を標的とする化合物を探索し、AD 治療薬の開発を進めていきたい。

## 研究業績（分子基盤研究部）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

- 1) Ohta E, Nihira T, Uchino A, Imaizumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Takahashi K, Hayakawa H, Nagai M, Ohshima M, Ryo M, Ogino M, Murayama S, Takashima A, Nishiyama K, Mizuno Y, Mochizuki H, Obata F, Okano H. I2020T mutant LRRK2 iPSC-derived neurons in the Sagamihara family exhibit increased Tau phosphorylation through the AKT/GSK-3 $\beta$  signaling pathway.  
**Hum Mol Genet.** 2015 Sep 1;24(17):4879-900. doi: 10.1093/hmg/ddv212. Epub 2015 Jun 8.
- 2) Xie C, Soeda Y, Shinzaki Y, In Y, Tomoo K, Ihara Y, Miyasaka T. Identification of key amino acids responsible for the distinct aggregation properties of microtubule-associated protein 2 and tau.  
**J Neurochem.** 2015 Oct;135(1):19-26. doi: 10.1111/jnc.13228. Epub 2015 Aug 26
- 3) Yagishita S, Murayama M, Ebihara T, Maruyama K, Takashima A. Glycogen Synthase Kinase-3 $\beta$ -mediated Phosphorylation in the Most C-terminal Region of Protein Interacting with C Kinase 1 (PICK1) Regulates the Binding of PICK1 to Glutamate Receptor Subunit GluA2.  
**J Biol Chem.** 2015 Dec 4;290(49):29438-48. doi: 10.1074/jbc.M114.619668. Epub 2015 Oct 15.
- 4) Soeda Y, Yoshikawa M, Almeida OF, Sumioka A, Maeda S, Osada H, Kondoh Y, Saito A, Miyasaka T, Kimura T, Suzuki M, Koyama H, Yoshiike Y, Sugimoto H, Ihara Y, and Takashima A. Toxic tau oligomer formation blocked by capping of cysteine residues with 1,2-dihydroxybenzene groups.  
**Nat Commun.** 2015 Dec 16;6:10216. doi: 10.1038/ncomms10216.
- 5) Moreira PS, Sotiropoulos I, Silva J, Takashima A, Sousa N, Leite-Almeida H, Costa PS. The Advantages of Structural Equation Modeling to Address the Complexity of Spatial Reference Learning.  
**Front Behav Neurosci.** 2016 Feb 26; 10:18. doi: 10.3389/fnbeh.2016.00018.

## 2. 総説

- 1) 添田義行, 高島明彦  
認知症根本治療に向けたタウ標的薬剤の開発  
日本認知症学会誌 **DEMENTIA JAPAN** 29 (2) , 184-194. 2015

## 3. 著書、Chapters

なし

## 4. その他

なし

## 5. 新聞・報道等

- 1) 高島明彦  
読売新聞, 2015年12月17日朝刊, 「認知症抑える物質発見」
- 2) 高島明彦  
中日新聞, 2015年12月17日朝刊, 「不整脈薬、認知症に有効」
- 3) 高島明彦  
朝日新聞, 2015年12月17日朝刊, 「ぜんそく薬、アルツハイマー原因を制御」
- 4) 高島明彦  
毎日新聞, 2015年12月17日夕刊, 「不整脈薬 認知症に効果」
- 5) 高島明彦  
Newton, 2016年3月号, 「アルツハイマー病治療薬の実現へ大きな一歩」
- 6) 高島明彦  
日経サイエンス, 2016年4月号, Front Runner 挑む 「アルツハイマー病原因タンパク質を絞り治療薬開発に手がかり」

## 6. 特許申請、取得状況

なし

## II. 学会・研究会等発表

### 1. シンポジウム、特別講演

- 1) 高島明彦

Therapy against toxic tau aggregation in AD

第 56 回日本神経学会学術大会, 2015 年 5 月 21 日, 新潟市,

2) 高島明彦

アルツハイマー病治療に向けて：タウ研究からのアプローチ

第 10 回青森神経科学談話会, 2015 年 6 月 27 日, 弘前市

3) 木村哲也

タウタンパクの生理機能と病理形成 (Contribution of Tau on Physiological Functions and Pathogenesis)

第 38 回日本神経科学大会 シンポジウム, 2015 年 7 月 28 日, 神戸市

4) 高島明彦

タウを標的とした認知症治療薬の開発

神経学セミナー, 2015 年 9 月 4 日, 東京都文京区

5) 高島明彦

タウ蛋白質を標的にしたアルツハイマー病治療薬開発

厚生労働省委託事業「ヒト幹細胞情報化推進事業」SKIP セミナー/慶應義塾

大学総合医科学研究センターセミナー, 2015 年 9 月 11 日, 東京都新宿区

6) 高島明彦

タウイメージングに期待されること

第 34 回日本認知症学会学術集会, 2015 年 10 月 2 日, 青森市

7) 高島明彦

Mechanism of neurodegeneration through tau and therapy for taupathy.

新学術領域研究「脳タンパク質老化と認知症制御」第 1 回国際シンポジウム, 2015 年 10 月 9 日, 名古屋市

8) 高島明彦

Strategy of tau related therapy.

第 55 回日本核医学会学術総会, 2015 年 11 月 6 日, 東京都新宿区

9) Takashima A.

Mechanism of Neurodegeneration through Tau and Therapy for AD.

The 1st International Gachon Neuroscience Symposium, 24 Feb. 2016, Incheon, Korea.

2. 国際学会発表

- 1) Ohta E, Nihira T, Uchino A, Imaizumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Takahashi K, Nagai M, Ohshima M, Ryo M, Ogino M, Murayama S, Takashima A, Nishiyama K, Mizuno Y, Mochizuki H, Obata F, Okano H.

I2020T mutant LRRK2 iPSC-derived neurons in the Sagamihara family

exhibit increased Tau phosphorylation through the AKT/GSK-3beta signaling pathway.

International Anesthesia Research Society 2015 Annual Meeting and International Science Symposium, 2015 年 12 月 9 日, Honolulu, Hawaii.

3. 国内学会発表

1) 住岡暁夫

脂質代謝異常によるタウ病変形成の制御

小野医学研究財団第 26 回研究成果報告会, 2015 年 6 月 6 日, 大阪府豊中市

2) 住岡暁夫

膜脂質によるタウの病変制御

新学術領域研究「脳タンパク質老化と認知症制御」第 2 回班員会議・リトリート, 2015 年 6 月 12 日, 熱海市

3) 添田義行

タウ凝集阻害剤の探索

新学術領域研究「脳タンパク質老化と認知症制御」第 2 回班員会議・リトリート, 熱海市, 2015 年 6 月 12 日

4) Ohta E, Nihira T, Uchino A, Imaizumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Nagai M, Takahashi K, Ohyama M, Ryo M, Ogino M, Murayama S, Takashima A, Nishiyama K, Mizuno Y, Mochizuki H, Obata F, Okano H.

I2020T LRRK2 iPSC-derived neurons exhibit increased Tau phosphorylation.

第 38 回日本神経科学大会, 2015 年 7 月 28 日, 神戸市

5) 住岡暁夫

脂質によるタウ病変制御

2015 タウ研究ミーティング, 2015 年 9 月 4 日, 京都市

6) 添田義行

タウ凝集形成に関わるタウの配列の解析

2015 タウ研究ミーティング, 2015 年 9 月 4 日, 京都市

7) Sato C, Hoshino M, Ikumi N, Oba K, Koike A, Kobayashi T, Machida T, Furudate H and Kimura T.

Contribution of Nucleus Accumbens Core (AcbC) to Behavior Control during a Learned Resting Period. 第 40 回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第 37 回大会 合同大会, 2015 年 12 月 11-13 日, 広島市

8) 吉川弥里, 木村哲也, 高島明彦

in vivo マンガン増強 MRI 法を用いた hAPP Tg マウスにおけるタウタンパク質の役割. 第 89 回日本薬理学会年会, 2016 年 3 月 11 日, 横浜市.(一般口演)

- 9) 太田悦朗, 仁平友子, 内野彰子, 今泉陽一, 岡田洋平, 赤松和土, 高橋加代子, 永井真貴子, 大山学, 梁正淵, 荻野美恵子, 村山繁雄, 高島明彦, 西山和利, 水野美邦, 望月秀樹, 小幡文弥, 岡野栄之  
I2020T mutant LRRK2 iPSC-derived neurons exhibit increased Tau phosphorylation. 第 15 回日本再生医療学会総会, 2016 年 3 月 17 日, 大阪市.

4. その他、セミナー等  
なし

### Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)
  - 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. 厚生労働省  
なし
3. 文部科学省
  - 1) 高島明彦, (代表) 1,983 万円 (総額 4,485 万円)  
平成 27 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.
  - 2) 住岡暁夫, (代表) 104 万円 (総額 104 万円)  
平成 27 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) 木村哲也, (分担) 20 万円  
平成 27 年度 挑戦的萌芽研究.  
神経核の脱落がタウ病理形成に与える影響の解明.
4. 財団、その他  
なし