

認知症治療薬の開発を目指した抗タウオパチー薬の創出およびタウ新規機能に基づく標的分子の設定に関する研究（26-28）

主任研究者 高島 明彦 国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部（部長）

研究要旨

認知症治療薬開発に向けて、主任研究者はこれまで顆粒状タウオリゴマーが神経細胞脱落に関与することを明らかにし、顆粒状タウオリゴマー形成を阻害する化合物を見いだし、神経脱落を阻止する創薬の臨床試験を目指している。既存薬 X1 を用いてモデルマウスを用いて最低有効摂取量が 1.5 mg/g chow であることを決定し、ヒトの場合臨床用量摂取で十分なタウ凝集抑制する脳内濃度に達することを見出した。また、他のモデル動物 P301S タウ Tg マウスにおいても X1 投与でサルコシル不溶性タウの減少と神経脱落阻害を確認した。サルを用いた 8 週間のヒト臨床用量 X1 摂取による安全性試験で大きな問題は生じなかった。タウ凝集阻害機構として X1 がタウの Cys 残基に共有結合することを見出し、Cys 残基が今後のタウ凝集阻害剤の標的になることを示した。宮坂は高島らにより同定された抗タウオパチー候補化合物（X1）の構造類自体のうち新たに L-DOPS を同定した。L-DOPS は X1 と同等な抗タウ凝集阻害活性を呈し、且つ 10 μ M の濃度においてもタウの微小管重合能に影響を与えなかった。L-DOPS の体内動態解析を行なった結果、生物学的利用率、脳移行率ともに良好であった。また、X1 誘導体の構造展開から新たな基本骨格を有する化合物およびその誘導体を同定した。新規化合物も含まれており、物質特許として申請した。住岡はタウに特異的に結合する脂質 S1 を見だし、結合部位の同定、P301L タウを発現する細胞ではタウ凝集が抑制されることを見いだしている。さらに S1 を合成出来ないマウスではタウの過剰リン酸化が起こることを見出しており、S1 合成酵素、または分解酵素が創薬ターゲットとして考えられた。小林はアルツハイマー病においてタウタンパク質が細胞体／樹状突起に分布する機構を調べ、NMDA 受容体等他の樹状突起タンパク質と同様の機構でタウ mRNA が樹状突起内を輸送され、NMDA の過剰な活性化に応じて局所でタウが翻訳され somatodendrite に分布すること示した。この結果からタウ mRNA の輸送阻害、グルタミン酸放出阻害、または NMDA 受容体活性阻害が治療薬標的として考えられた。

主任研究者

高島 明彦 国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部 (部長)

分担研究者

住岡 暁夫 国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部 (室長)

宮坂 知宏 同志社大学 生命医科学部 (助教)

小林 俊亮 日本大学 薬学部 (准教授)

A. 研究目的

世界の認知症患者数は現在約 3560 万人と推定され、今後さらなる増大が予想される。現在においても年間 6 億 400 万ドルが介護に費やされており、2050 年には倍増が予想されている。認知症の大多数はアルツハイマー病であり、その予防法、根本的治療法は現在まで確立されていない。1991 年 β アミロイド仮説が提唱されて以来今日まで β アミロイドを減少させる療法が試みられてきたが、いずれもアルツハイマー病と診断された患者において顕著な認知機能低下を阻止することが出来ていない。これに対し、本研究では認知機能低下と相関するタウ病変に注目して、アルツハイマー病における認知機能低下機構、及びその阻止について研究を行い、認知機能低下進行を阻止する薬剤の開発およびそのための標的分子の探索を目指す。

この研究課題では主任研究者らは異なる段階のタウ凝集がシナプス消失、神経脱落に関与し、その結果、神経原線維変化が形成される部位では脳機能低下が引き起こされていることを見いだしている。この結果を元に特定のタウ凝集を阻害することでタウ凝集阻害と脳機能低下阻止を示す化合物を同定する。

タウ凝集の上流となる分子シグナルは新規抗タウ薬の標的分子となる。神経原線維変化は加齢に伴って嗅内野/海馬に初めに出現する。これは、75 歳を超える 9 割以上の人で観察される。老化に伴い嗅内野/海馬には神経原線維変化が蓋然性を持って出現している。加齢に伴う認知機能低下を引き起こすタウ凝集の上流シグナルとして、シナプス可塑性の変化が 1 つの可能性である。特にプレタングルステージにおけるタウの somatodendrite への局在変化がタウ凝集の上流シグナル解明への突破口となる。タウと特異的結合を示す膜脂質、タウ mRNA 輸送と翻訳からアプローチし、新規のタウオパチー薬創出の標的を見出した。

B. 研究方法

(1) 全体計画

DX1 開発 : DX1 は 4 週間 GLP 安全性試験等を行う。論文作成に向けて DX1 のタウ凝集阻害機構を明らかにする。

新規スクリーニング系及び分子標的 : タウ・膜脂質 Y 結合の生物学的意味を明らかにすると共に細胞モデル、動物モデルを用いて治療薬としての可能性またはバイオマーカーと

しての可能性を評価する。

ヒトタウ mRNA が樹上突起へ運搬され刺激によってタウ蛋白質が増大している現象を動物モデル、剖検脳を用いて確認し、mRNA 輸送阻害による神経変性治療のターゲット分子を見いだす。

(2) 年度別計画

平成26年度

- (1) DX1 臨床試験の準備 (高島、宮坂)
- (2) DX1 によるタウ凝集阻害機構の解明 (高島)
- (3) タウ PET を用いた DX1 薬理効果の検討 (高島)
- (4) 脳脊髄タウの測定系の確立 (宮坂、高島)
- (5) 新規バイオマーカーの検討 (宮坂、高島)
- (6) タウ結合膜脂質 Y の認知症治療薬、バイオマーカーとしての可能性の検討 (住岡)
- (7) 樹上突起でのタウ蛋白質発現調節機構の解明及び神経変性治療のターゲット分子の同定 (小林)

(倫理面への配慮)

本研究課題の遂行にあたっては、モデル動物を対象とした検証実験が必要となるが、それらの実施にあたっては、国立長寿医療研究センター内の動物実験委員会での承認を受け、また同センターが定める動物実験指針に従い動物愛護に十分留意する。

C. 研究結果

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、行動異常が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。

X1 は投与濃度依存的、投与期間依存的にタウ凝集抑制を引き起こし、その結果神経脱落の抑制、脳機能低下の抑制を引き起こすことを見いだした。これらの結果からマウスにおける最低有効摂取量は 1.5 mg/g chow であるとした。他のモデル動物 P301S タウ Tg マウスにおいても 1.5mg/g chow の X1 投与ではサルコシル不溶性タウ量に有意差は見られなかったが 4.5mg/g chow で有意差となる。P301L タウ Tg マウス 1.5mg/g chow 3ヶ月で有意差となることから X1 投与によるタウ凝集抑制最低摂取量は 1.5 mg/g chow と結論した。この摂取時の X1 血中濃度は 64 ng/ml (258 nM), 脳内濃度は 10ng/ml (41 nM) で血中から脳内への移行率は 15.6%であった。一方、DX1 投与における血中濃度、

脳内濃度測定では測定間のばらつきが大きいものの平均値をプロットすると投与量に対して有意な直線を与えることができる。この解析から 1.5mg/g chow DX1 投与では血中濃度 16 ng/ml, 脳内濃度 0.34 ng/ml となり血中から脳内への移行率は 2.1%であった。ヒトでは X1、0.2 mg/kg経口服用で 60-160 分後まで 300 ng/mlの血中濃度が維持されることが判っている (Br. J. Pharmac. (1972)46, 458-472)。X1 のタウ凝集阻害有効血中濃度 64 ng/ml にするためにはヒトでは 0.04 mg/kg, 2 mg 服用で有効血中濃度に到達する。最悪のケースとして脳内濃度 10ng/ml が必要であるが脳移行率が DX1 の場合の 2.1%であるとする、有効血中濃度は 476 ng/ml が必要となる。ヒトの場合この血中濃度に到達するためには 0.32 mg/kg, 16 mg 服用が必要となる。すなわち、臨床用量であるプロタノール 15mg 錠を最大服用量として 2mg 服用までで十分なタウ凝集抑制濃度に達すると考えられた。そこで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。

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。

他のモデルマウス PS19 においても X1 投与によってタウ凝集阻害と海馬萎縮の阻害が見出された。しかし、報告から海馬萎縮前のタウ凝集をタウ PET で確認することが出来ず、モデル動物を変更する必要がある。さらに、モデルマウスで神経脱落の阻止、タウ凝集の抑制があるにも拘らず髄液タウ量に大きな変化は見出されなかった。神経脱落マーカーとして報告されている VILIP1 量のモデルマウスの神経脱落に対応した増大も観察されなかった。

D. 考察と結論

認知症治療薬としてタウ凝集抑制剤 X1 を見だし、モデルマウスを用いた動物実験では、投与用量、期間に依存的なタウ凝集抑制、それに伴う神経脱落阻害と神経機能障害の抑制が観察された。このタウ凝集阻害機序は、タウ分子のシステイン残基と結合してタウ・タウ相互作用を阻害し、タウオリゴマー形成が阻止されることが明らかになった。この結果はタウのシステイン残基がタウ凝集阻害剤の標的になりうることを示している。tau PET は現状では繊維化したタウを認識するためモデルマウスでの適用は困難である。モデルマウスの髄液中のタウが変化しなかった理由はタウの過剰発現であるためである可能性が考えられた。髄液タウの由来を検討する必要がある。分担研究からはタウ凝集に至る上流の標的が明らかになってきた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) Takashima A. Toxic Tau Aggregation in AD, *GeNeDis 2014 : Advances in Experimental Medicine and Biology Volume 822*, 2015, pp3-9, 30 Oct. 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) 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. 学会発表

- 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) Takashima A,
Granular tau oligomer as toxic tau aggregation form in AD.
Alzheimer's Association International Conference 2014, Copenhagen, Denmark.
July 14, 2014
- 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

タウタンパク質老化と毒性機序

脳タンパク質老化と認知症制御キックオフシンポジウム, 東京都千代田区, 2014年10月8日

7) 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

8) Takashima A

Aging and Tau

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

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

1) 国際出願

発明の名称：タウ凝集阻害剤

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

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

出願年月日：2014年4月2日

出願番号：PCT/JP2014/001919