

認知症におけるタウオパシー、シヌクレイノパシーの分子病理学的研究 (30-13)

主任研究者 矢澤生 国立長寿医療研究センター バイオリソース研究室長

研究要旨

今日、認知症は大きな社会問題であり、ナショナルセンターである国立長寿医療研究センターにおいては最重要の研究課題である。認知症の治療法開発はがんの治療法開発に比べて遅れている一方で、認知症の中でも神経変性疾患による認知症の治療法開発は、人口の高齢化の影響により日本の喫緊の課題である。本研究では神経変性疾患による認知症の発病機構を解明し治療法を開発するために、認知症による神経変性の原因となるタンパク質である、タウとシヌクレインについて、それぞれ異なる実験計画のもとに神経病理学に基づき、形態学的な観察研究を行った。ベータアミロイドとタウ、そしてシヌクレインが蓄積するアルツハイマー病の解析では、タウとシヌクレイン蛋白間の関係について検討を行った。シヌクレイノパシーの研究では、病理組織所見から得られた発病機構に関する新知見をヒトの病理組織で検証し、さらに初代培養細胞やマウス個体等のモデル動物を用いてシヌクレイン抑制の方法について検討した。特にシヌクレイン蓄積を抑制する化合物については民間の製薬企業との共同研究を実施して、研究期間内にリード化合物の同定、さらに臨床化合物の探索まで行い、最終的に患者に届ける創薬研究として展開する。

A. 研究目的

高齢者に起こる認知症は大きな社会問題であり、国立長寿医療研究センターにおいては最重要の研究課題である。なかでも、神経変性疾患による認知症の治療法開発は喫緊の課題であるが十分な成果を得られてはいないのが現状である。本研究では、毎月定期的に「認知症の病理解剖症例に関する検討会(CPC)」を福祉村病院(愛知県豊橋市)などにおいて、三河地区の認知症の診療を行う医師・研究者とともに実施している。正確な神経病理診断に基づく病理解剖組織に関するバイオリソースの研究は認知症研究の第一歩であると考えられる。認知症、特にアルツハイマー病では神経変性に関する根本的な治療法開発は世界中で競っているが、いまだに有効な方法はない。その原因として認知症で死亡した患者の中枢神経の形態学的変化に関する評価が不足していることがある。認知症の病態解明、例えばアルツハイマー病の病態解明では、ベータアミロイドとタウの2つのタンパク質が原因となって発症するために、患者脳組織で2つの蛋白の蓄積を正確に診断し、病理解剖組織バイオリソースを認知症診断バイオマーカーや治療法開発の研究に生かすことが重要である。また、複数の神経変性の病態が共存する認知症の病態も少なくないことから、病理解剖による神経病理

診断は欠かせない。一方、タウオパシーでは多くの診断カテゴリーに再分類され、すべての研究者や臨床医師に分かりやすい病理診断が求められている。しかし、病理解剖数の減少に伴って、神経病理診断や死体組織を取り扱う研究は研究課題が減少し、さらに研究者や病理解剖を行う医師も減少している。認知症研究の重要な起点となる国立長寿医療研究センターで実施する研究では病理診断や病理組織バイオリソースに関する研究は重要である。本研究では認知症研究の基盤を整備するために、他施設と共同で病理解剖による正確な診断及び病理解剖組織の活用に関する研究を実施した。さらに、病理解剖者が死体解剖保存法に従って病理解剖組織に関する研究を行い、認知症や神経変性機構の解明に関する活用研究を実施し、病理解剖やその組織の重要性を国民に向かって発信した。病理解剖組織から得られた知見から、認知症・神経変性について分子標的を明確にした治療法開発研究を行い、病理解剖から新しい研究成果が生まれることを明確に示した。

B. 研究方法

本研究で標的とする認知症の神経変性の疾患群は2つあり、それぞれの疾患群の原因となるタンパク質であるタウとシヌクレイン(α -synuclein:Syn)の解析について異なる実験計画のもとに研究を行った。

1. タウオパシーの発病機構に関する研究：

神経変性疾患による認知症、例えばアルツハイマー病ではタウが蓄積して神経細胞の脱落を生じるが、タウの蓄積だけが原因ではない。ベータアミロイドの蓄積以外にも、SynやTDP-43、ユビキチンなどの関連タンパク質の蓄積が観察される。認知症という症候に対して複数のタンパク質の蓄積による病態が関与して、神経細胞の機能不全や細胞脱落の現象を生じることが指摘されている。本研究では病理解剖例ごとに認知症の原因となった蓄積タンパク質の解析を免疫組織染色法などにより解析し、神経細胞脱落やグリオシスとの関連を調べる。タウの蓄積については、その蓄積様式から神経細胞の細胞質内蓄積、軸索蓄積や細胞外蓄積、さらにグリア細胞における蓄積などの蓄積局在により分類する。蓄積様式と認知症の臨床的な程度や特徴との関連を調べ、神経細胞が脱落する機序について神経細胞の形態学的特徴を観察し、タウの蓄積が起こる神経細胞変性における初期の病理組織変化を検討した。

2. シヌクレイノパシーの治療法開発に関する研究

既に本研究では、シヌクレイノパシーの病理解剖組織の解析による神経変性の機序の検討を行い、Synを特定の神経系細胞に発現することにより神経細胞が脱落する変性動物モデルを開発した(第36回日本認知症学会シンポジウム報告)。本研究ではこの動物モデルやその脳組織細胞による初代培養細胞を使って治療法開発の研究を行った。モデルマウスではマウス中枢神経においてオリゴデンドロサイト特異的にSynの蓄積を認め、これにより神経細胞内に二次的にSyn蓄積が誘導されるSyn蓄積モデルである。このモ

デルで得られた知見をヒト組織の病理組織で検証し、さらに初代培養細胞やマウス個体を用いてSyn抑制の方法について検討した。尚、Syn抑制を誘導する化合物については民間の製薬企業との共同研究を実施して、研究期間内にリード化合物の同定、さらに臨床化合物の探索まで行う。

(倫理面への配慮)

本研究課題の実施にあたっては、病理解剖の死体組織に関する研究については「人を対象とする医学研究に関する倫理指針」を遵守して行い、インフォームドコンセントなどの承諾及び管理については利益相反と合わせて、倫理・利益相反委員会の審査を受けて承認された(番号 540-3)。ヒトの死体に関する研究については、死体解剖保存法の趣旨を十分に理解して、礼意をもって死体組織を扱い研究を行う。さらに、死体組織は患者遺族の返還に応えられる体制として施設内で管理し、病理組織に関する所見の情報などを研究者間で共有する。神経病理診断や患者に関する個人情報、個人情報保護法にしたがって管理、保管する。認知症モデル動物に関する実験については、一年ごとに動物実験及び遺伝子組み換え実験に関する実験計画書の倫理審査を受けて研究を行う。動物実験について「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」を遵守し動物利用の倫理について十分に理解した上で研究を進める。組換え DNA に関する研究は「遺伝子組み換え生物等の使用等の規則による生物の多様性の確保に関する法律(カルタヘナ法)」を順守して行う

C. 研究結果

1. タウオパシーの発病機構に関する研究:

アルツハイマー病(以下「AD」と略す)では、原因タンパク質であるタウやベータアミロイドが蓄積して神経細胞の脱落を生じるが、近年、これらのタンパク質以外にADの患者脳で蓄積する蛋白質が存在することが明らかになった。第一は、海馬などに蓄積するTDP-43タンパク質であり、病的に蓄積する同タンパク質の特徴は、本来存在する神経細胞核から外に出て細胞質に蓄積する。第二は、シヌクレイン(Syn)タンパク質が、AD脳の前頭葉などに限局性に蓄積する病態であり、合併例は少なくないことが分かっている。本研究ではADとタウオパシーの病理解剖症例のうち、これら2つのタンパク質の蓄積について検討を行った。

近年、TDP-43は筋萎縮性側索硬化症や前頭側頭型タウオパシーにおける神経変性の原因タンパク質として注目されているが、ADにおいても蓄積する。ADにおける蓄積の特徴として、①海馬及びその周辺などの特定の神経細胞に限局して出現すること、②神経細胞の細胞質の蓄積、の2つの特徴がある。タウやベータアミロイドと直接関連して蓄積する可能性は低く、形態学的には二次性の変化として考えられている。しかし、神経変性への関与の可能性は明らかではなく、今後さらに蓄積様式を明らかにし、タウの蓄積との関係を調べる必

要がある。

次に、シヌクレイノパシーでは Syn は脳幹から上向性に蓄積が進展する一方、AD 脳では Syn は扁桃体などの一部の病変に局限して蓄積することは既に指摘され、その頻度は多いことが知られている。そこで本研究では、Syn の蓄積について細胞質内の微細構造を調べ、他のシヌクレイノパシーの疾患と比較した。第一の特徴として、代表的な Syn 蓄積であるレビー小体に類似する蓄積は認めない。第二に、Syn は神経細胞の細胞質に蓄積し、加えて周辺に neuropil thread のような神経細胞突起に Syn 陽性構造物を伴うことが多い。

以上のように、AD、タウオパシー患者脳では TDP-43 及び Syn は、病変部に局限して蓄積する傾向があり、今日、神経変性の機序において主流となっているプリオン類似のタンパク質伝播仮説が示すような「病変が広範囲に広がり伝播すること」がない特徴を有している。これらの疾患の変性の特徴であるのか、或いはタンパク質の伝播自体が特定の様式をとるのかは明らかではない。本研究ではこの点を重点にしてさらに検討を進める。

2. シヌクレイノパシーの治療法開発に関する研究

シヌクレイノパシーの病理解剖組織の解析による神経変性の機序の検討を行い、シヌクレイン(Syn)を特定のグリア細胞に発現することにより、二次性に神経細胞が脱落する神経変性動物モデルを開発した。本研究ではこの動物モデルやその脳組織細胞による初代培養細胞を使って研究を行い、モデルマウス中枢神経においてオリゴデンドロサイト特異的に Syn の蓄積を認め、これにより神経細胞内に二次的に Syn 蓄積が誘導される Syn 蓄積モデルである。このモデルでは、①神経細胞内では内因性 Syn の蓄積が起り、微小管関連タンパク質と結合する、②二次性の神経細胞内 Syn 発現上昇の誘導には、神経外のグリア細胞から発する分子シグナルが関与する、③Syn 分子シグナルはオリゴデンドロサイトが成熟の過程で分泌される、等の知見が得られ、これらをヒト病理組織で検証し、さらに初代培養細胞やマウス個体を用いて Syn 抑制の方法について検討する。すでに、Syn 抑制を誘導する化合物については民間企業（小野薬品工業）との共同研究を実施して、研究期間内にリード化合物の同定に成功し、特許申請に至った。現在、臨床化合物について有効性を初代培養モデルによって検討している。

D. 考察と結論

本研究では臨床診断と病理解剖による診断の乖離が改めて明らかになり、画像診断による進展がある一方で、認知症を呈する神経変性疾患では病理解剖による確定診断の重要性が確認された。近年、認知症の中で、血管性認知症以外の神経変性に基づく認知症の分類は、タウ蛋白質単独の神経変性や TDP-43 蛋白質の発見などにより大きく変化している。これまでに明らかになった、タウやベータアミロイド、シヌクレイン等の蛋白質による蓄積以外の神経変性の機序が解明され、形態学的な特徴が明らかになっている。これらの疾

患では、異なるタンパク質の蓄積ごとに、臨床症状も異なることから、臨床的な解析と病理形態学的な解析が連携して行われることの意義は大きい。認知症の神経変性に関する根本的な治療法開発が遅れている現状では、この関係を明らかにする研究こそが重要であると考えられる。認知症の治療法開発にあたって重要なバイオリソース（患者試料等）についても、臨床診断と病理診断の2つの意義は大きく、誤った診断の付いたバイオリソースではとても治療法開発に応用することはできない。

本研究ではシヌクレインについて、ヒト脳に起こる病態を解析し、新しい疾患モデルから病態を解明して治療法開発に取り組んだ。神経変性の病態がいまだに解明されていない認知症では、治療法開発のヒントは患者の脳組織にあると考えている。正確な病理診断とその後解析される形態学的な特徴は、生化学や分子生物学による研究の礎であり、特に疾患モデルの作製では大きな力となることを経験した。また、リード化合物の同定などの創薬研究とヒトの脳組織に関する病態解析は切り離すことのできない研究であることも確認された。今後、このような融合型の研究アプローチが実施できることが重要である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Iwase T, Yoshida M, Hashizume Y, Yazawa I, Takahashi S, Ando T, Ikeda T, Nokura K: Intracranial vascular calcification with extensive white matter changes in an autopsy case of pseudopseudohypoparathyroidism. *Neuropathology*, 2018 39, 39-46. (査読有)
- 2) 矢澤生, 佐々木飛翔, 金成花. 「非定型パーキンソンニズム. 基礎と臨床」下畑享良編集, III. 「病態解明と治療法の確立に向けて」動物モデル, 文光堂 (査読有)
ISDN: 978-4-8306-1547-4

2. 学会発表

(国際学会)

- 1) Iwase T, Yoshida M, Hashizume Y, Yazawa I et al: Brainstem calcification and extensive white matter changes in an autopsy case of bilateral striopallidodentate calcification with Alzheimer's disease. ICN2018 (19th International Congress of Neuropathology), 2018年9月25日, Tokyo
- 2) Iwase T, Yoshida M, Yazawa I: Extensive white matter changes and brainstem calcification in an autopsy case of bilateral striopallidodentate calcinosis (Fahr's

syndrome). Neuroscience2018, 2018年11月6日, San Diego, CA, USA

(国内学会、特別講演含む)

- 3) 矢澤生. MSAにおける alpha-synuclein 蓄積の制御をめざして」第12回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres スポンサードセミナー「MSAの基礎と臨床」、2018年7月7日、京都市
- 4) 佐々木飛翔、金成花、岩瀬環、矢澤生. 多系統萎縮症モデルマウスにおける α -synuclein 蓄積へのオリゴデンドロサイト成熟の役割: Role of oligodendrocyte maturation for α -synuclein accumulation in a mouse model of multiple system atrophy. 第41回日本神経科学大会 2018年7月28日、神戸市
- 5) 矢澤生、名古屋大学大学院基礎医学特論「グリア細胞を標的とした神経変性疾患の病態解明と治療戦略」平成30年7月12日、名古屋市

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

シスタチンCが関与する神経変性の治療法開発 矢澤生、小宮貴樹（小野薬品工業との共同開発）（特許申請中）

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし