

令和 6 年 9 月 27 日現在

機関番号：34448

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2018～2023

課題番号：17KK0197

研究課題名（和文）痴呆性疾患におけるゴルジ体制御因子SCYL1の意義の解明

研究課題名（英文）Importance of Golgi function in the pathogenesis of dementia and related diseases

研究代表者

松崎 伸介（MATSUZAKI, Shinsuke）

森ノ宮医療大学・医療技術学部・教授

研究者番号：60403193

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 7,800,000円

渡航期間：4ヶ月

研究成果の概要（和文）：認知症の一つ進行性核上性麻痺等で認められるTauタンパク質の凝集を介した神経病理像の出現にSUMO化が関与することを明らかとした。すなわちSUMO1による修飾が増悪因子として関与し、SUMO2、SUMO3修飾は、SUMO1と拮抗することで病態改善に作用する可能性を示した。この結果は、タウオパチーと呼ばれる病態の制御にSUMO化修飾が深く関与している可能性を示している。そこで、SUMO2の神経保護作用に着目し、SUMO2過剰発現がタウオパチーに対してin vivoでどのような影響を示すのかを検証すべく動物実験を実施した。結果として、SUMO2によるタウ毒性に対する保護効果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会を迎えている我が国のみならず認知症患者の増加は世界中で問題となっている。しかし、研究の進んだ現在でも根本的な治療法は確立していない。これまでの多くの創薬研究はアルツハイマー病の主要病理像であるアミロイド 蛋白質を標的として進められてきたが、他の多くの認知症で認められるTauタンパク質病変をコントロールすることは認知症制御において重要である。本研究ではSUMO化修飾制御の観点から研究を進め、SUMO2修飾制御によるタウ病理に対する神経保護効果を示した。このことは、新たな認知症治療法開発の可能性を示唆しており、非常に意義のあるものである。

研究成果の概要（英文）：We elucidate the effect of SUMO isoforms on the aggregation of tau protein which is very important for pathophysiology of dementia related diseases. In our data SUMO1 worsen the aggregation of tau proteins and SUMO2 and SUMO3 could inhibit the process of aggregation of tau proteins. Aggregation of tau proteins observed in a lot of dementia related neurodegenerative diseases are well known and the results suggest the possibility of SUMO2 or SUMO3 for the remedy of neurodegenerative diseases. Then we moved to the next stage to confirm the effect of SUMO2 against the tau pathology in vivo. As a result, we show the protective effects of SUMO2 in vivo by using the SUMO2 transgenic mice.

研究分野：神経科学

キーワード：認知症 タンパク質翻訳後修飾 タウオパチー SUMO化修飾 SUMO1 SUMO2 前頭側頭型認知症 進行性核上性麻痺

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えた我が国のみならず、世界的に痴呆性疾患患者数の増加は問題となっており、医療経済面においても大きな問題となっている。患者および介護にあたる家族の負担は非常に大きく、新しい治療法の確立と一日も早い病態解明が望まれている。しかし、根治薬が存在しないため進行を遅らせる目的での投薬と対処療法が行われている状況である。そこで、主な認知症性疾患であるアルツハイマー病 (Alzheimer's Disease: 以下 AD) および前頭側頭型認知症 (Frontotemporal Dementia: 以下 FTD) 発症経路について、申請者が実施してきたタンパク質翻訳後修飾研究のターゲットであるメチル化修飾および SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) 化修飾の観点から検討することとした。これらの研究については、共同研究先として認知症における SUMO 化の研究を実施されていたトロント大学神経変性疾患研究所と実施し、これまでの知見ならびに、これからの成果を融合・発展させることで認知症発症経路の解明を目指し国際共同研究に着手した。

### 2. 研究の目的

当初、研究目的の 2 つの柱としてメチル化および SUMO 化を掲げて着手し、動物実験・昆虫使用実験などの打ち合わせ・準備を開始したが、Covid-19 のパンデミックの影響で渡航制限がかかり 2 年近くトロント大学での研究実施が困難となった。また、実験室への入室制限・共同研究先の研究員の異動などが生じたため、予定していた実験計画がいくつか実施困難となった。そのため、研究内容を SUMO 化に絞って実施することとした。そこで、(1) 認知症発症に関わる Tau タンパク質の毒性に対する SUMO 化の意義の解明、および (2) SUMO 化修飾による神経変性疾患保護効果の可能性検証へと変更し、これらの保護効果についての検討を推進することで新規創薬の可能性を追求することとした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 認知症発症に関わる Tau タンパク質の毒性に対する SUMO 化の意義の解明

AD および FTD などの認知症では Tau タンパク質の凝集物が蓄積し毒性を誘導することが知られておりタウオパチーと呼ばれる。共通経路である Tau タンパク質の凝集を制御することは非常に重要である。そこで、各種 SUMO アイソフォーム (SUMO1, SUMO2, など) が Tau タンパク質の凝集に影響するのかが明らかとするため、Tau タンパク質に SUMO1, SUMO2 を結合させた SUMO 化 Tau タンパク質を発現させた際の影響を検討した。検討項目としては、Tau タンパク質凝集への影響、Tau タンパク質の細胞内局在への影響、Tau タンパク質リン酸化への影響などを免疫組織化学的手法、細胞生物学的手法を用いて実施した。

#### (2) SUMO 化修飾による神経変性疾患保護効果の可能性検証

研究項目 (1) の成果として、細胞を用いた *in vitro* 研究により SUMO1 修飾は進行性核上性麻痺における Tau 病理像を促進し、SUMO2 修飾が Tau 病理像を抑制することを明らかとしている。そこで、変異型 Tau タンパク質発現 (mTau-tg) マウスと SUMO2 過剰発現 (SUMO2-tg) マウスを用いた検討を行うことで、*in vivo* での SUMO2 による神経保護効果を検証した。さらに、患者由来 iPS 細胞由来神経細胞を用いた検討を行い、SUMO 化修飾レベルの変化を確認した。

### 4. 研究成果

申請者および共同研究者らは以前 SUMO1 修飾による AD 病理像の増悪についてアミロイド仮説に基づき報告し、AD における Tau タンパク質リン酸化への SUMO1 修飾の制御について報告している。そこで、他の認知症疾患であり Tau タンパク質関連病理像を示す進行性核上性麻痺 (以下 PSP) の Tau 病理像についての検討に着手した。

まず、PSP 患者由来脳サンプルを用いて Tau タンパク質の SUMO 化を検討する目的で、免疫染色法を用いたリン酸化 Tau タンパク質と SUMO1, SUMO2 の関係を確認したところ Tau 病理像の一部に SUMO1 陽性のシグナルが確認できたが、SUMO2 陽性シグナルは確認できなかった。このことは Tau タンパク質リン酸化領域において SUMO1 化修飾が誘導されている可能性を示している。そこで、PSP 患者由来脳サンプルに対して SUMO1 抗体による免疫沈降を行い、Tau タンパク質凝封入体中の Tau タンパク質が SUMO1 による修飾を受けているか否かを確認したところ、Tau タンパク質の SUMO1 化修飾が確認された。(図 1)

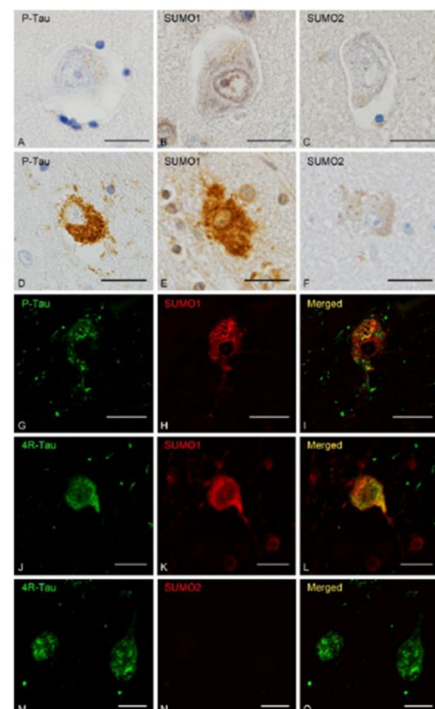


図 1: PSP 脳サンプルに対する免疫組織染色  
リン酸化タウ: 緑、SUMO1/ SUMO2: 赤

次に、Tau タンパク質の SUMO 化状態を細胞内で再現するため、全長型 Tau タンパク質に SUMO1 または SUMO2 が結合した FL-Tau-SUMO1/Fl-Tau-SUMO2 fusion タンパク質発現用ベクターを作成し、細胞内に遺伝子導入して発現させた。その結果、Fl-Tau-SUMO1 は細胞質領域での凝集体形成が促進するのに対し、Fl-Tau-SUMO2 は正常 Tau タンパク質とほぼ同様の細胞内パターンを示すことが明らかとなった。また、PSP で認められる切断型 Tau タンパク質（以下、Tr-Tau）を用いて同様の検討を行ったところ、Tr-Tau-SUMO1 は細胞質領域での凝集体形成が促進するのに対し、Tr-Tau-SUMO2 は Tr-Tau タンパク質とほぼ同様の細胞内パターンを示すことが明らかとなった。このことは、SUMO1 化修飾が Tau タンパク質の凝集形成を促進し、SUMO2 化修飾は凝集形成促進作用が弱いことを示している。また、SUMO1、SUMO2 による修飾領域は同一のコンセンサス配列を標的としていることから、SUMO1 修飾を SUMO2 修飾へとスイッチさせるなどの SUMO 化制御が PSP, AD などの Tau 関連認知症疾患（タウオパチー）への治療に応用できる可能性を示した。（図 2）

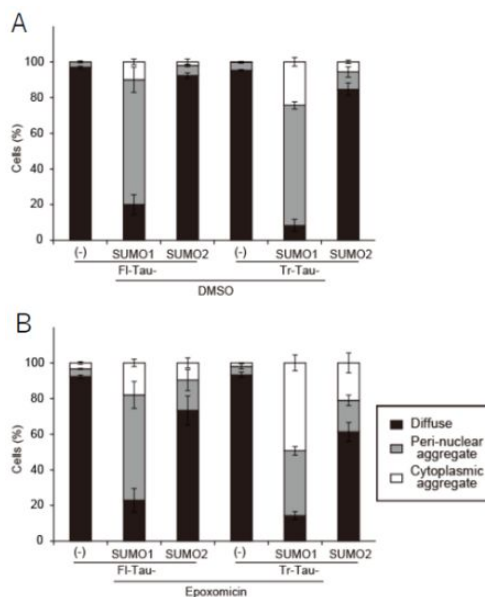
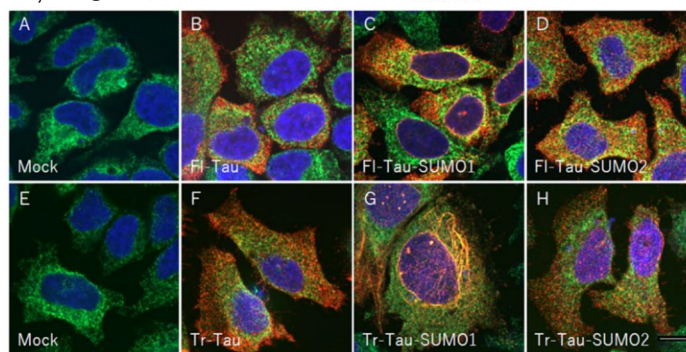


図 2：細胞組織化学による Tau 凝集体の変化（右図）および、細胞内凝集体の産生・局在変化の統計結果（上図）  
 青色：核  
 赤色：Tau タンパク質  
 緑色：ER



\* 図 1, 2 は研究業績 Takamura et.al.2022 Mol Neurobiol より引用

これまでの研究成果をもとに、SUMO2 による Tau タンパク質関連病理像に対する保護効果を確認するため、Tau 病理像を示す FTD モデルマウス PS19（以下 mTau マウス）および、SUMO2-tg マウスを用いた検討に着手した。

始めに mTau マウス脳内での SUMO1、SUMO2 発現レベル、および SUMO1、SUMO2 修飾状態を確認したところ、PS19 マウス脳内では SUMO1 化修飾が促進し、SUMO2 化修飾が減少していることが明らかとなった。そこで、FTD 患者由来 iPS 細胞由来神経細胞を用いた検討 SUMO 化修飾レベルの検討を行ったところ、mTau マウス同様、SUMO1 化修飾が促進し、SUMO2 化修飾が減少していることが明らかとなった（図 3）。このことは、Tau タンパク質関連疾患群では脳内での SUMO 化修飾のバランス異常が生じ、SUMO2 化修飾が低下することで発症起点となっていることを示している。

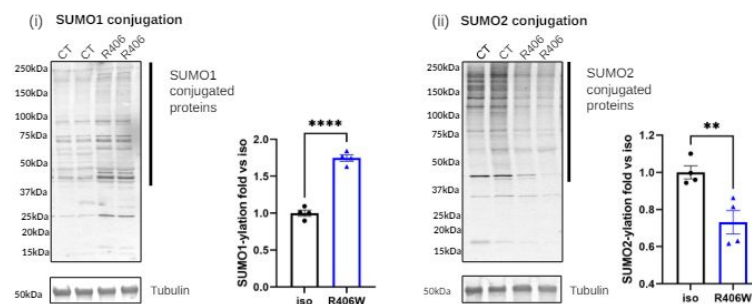


図 3：FTD 患者由来 iPS 細胞由来神経細胞における SUMO1 修飾レベル（左図）、SUMO2 修飾レベル（右図）の変化

これらをもとに、変異型 Tau タンパク質（mut-Tau）と SUMO1, SUMO2 を強制発現させた際の細胞内凝集体形成および Tau タンパク質のリン酸化への影響をマウス海馬由来神経細胞およびマウス海馬初代培養を用いて確認したところ、SUMO2 強制発現により mut-Tau の凝集形成およびリン酸化が抑制されることを明らかとした。そこで、mTau マウスと SUMO2-tg マウスを掛け合わせることで、mTau マウスが示す病理像および行動変化に対してどのような影響が出現するかを検討した。その結果、SUMO2 発現の増加により mut-Tau のリン酸化が抑制されること、mut-Tau の凝集形成が抑制されることを明らかとした。また、mTau マウス脳内で観察されるシナプス関連因

子の減少も改善されることから、SUMO2 発現レベルの増加がシナプス保護効果を誘導していることが明らかとなった(図4)。機能面での保護効果を確認する目的で、電気生理学的手法により SUMO2 による効果を確認したところ mTau マウスで認められる LTP の異常は、SUMO2 発現上昇により改善されることを示した。さらに、行動学的検討により mTau マウスの記憶異常への影響を確認する目的で、放射状アーム迷路および位置認識試験などを実施した。その結果、SUMO2 発現上昇により mTau マウスが示す記憶異常を改善することを示した(図5)。

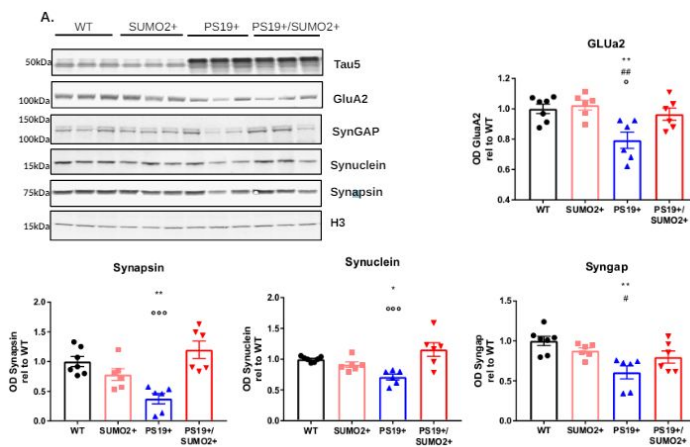
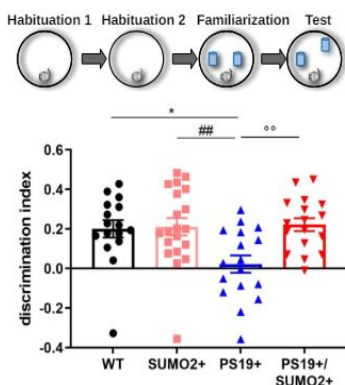


図4：mTau マウス (PS19) および SUMO2-tg マウスにおけるシナプス関連タンパク質の発現変化(上図)

A Object-location test



B Radial-arm water maze

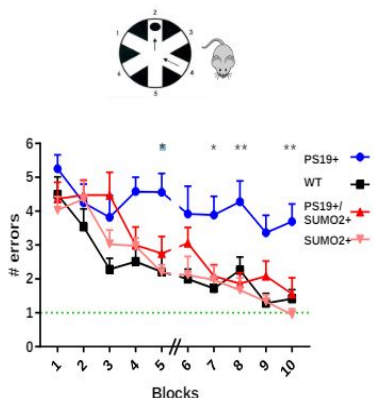


図5：mTau マウス (PS19) および SUMO2-tg マウスを用いた行動実験(記憶関連)の解析結果(左図)

以上のことから、FTD で認められる異常 Tau タンパク質による病理像は、脳内での SUMO1, SUMO2 修飾バランスの異常を起点としていること、SUMO2 の脳内発現レベルを増加させることにより Tau 関連疾患で認められる病理像、病態を改善させる可能性を示した。

\* 図3-5 は研究業績 Orsini et.al.2022 BioRxiv より引用

本研究期間を通して、認知症とりわけ Tau タンパク質関連疾患 (PSP, FTD, AD) に対する取り組みを実施し、異常 Tau タンパク質関連疾患 (タウオパチー) の新たな治療ターゲットとしての SUMO 化制御の意義を報告した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takamura H, Nakayama Y, Ito H, Katayama T, Fraser PE, Matsuzaki S.	4. 巻 59(7)
2. 論文標題 SUMO1 Modification of Tau in Progressive Supranuclear Palsy.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol Neurobiol.	6. 最初と最後の頁 4419-4435
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12035-022-02734-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayashi D, Watarai T, Ozawa M, Kanda Y, Saika F, Kiguchi N, Takeuchi A, Ikawa M, Matsuzaki S, Katakai T.	4. 巻 13
2. 論文標題 Tas2R signaling enhances mouse neutrophil migration via a ROCK-dependent pathway.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 973880
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2022.973880.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Amano G, Matsuzaki S, Mori Y, Han S, Shikada S, Takamura H, Yoshimura T, Kayatama T.	4. 巻 31(18)
2. 論文標題 SCYL1 arginine methylation by PRMT1 is essential for neurite outgrowth via Golgi morphogenesis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell.	6. 最初と最後の頁 1963-1973
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1091/mbc.E20-02-0100	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takamura H, Nakayama Y, Ito H, Katayama T, Fraser PE, Matsuzaki S.
2. 発表標題 SUMO1 Modification of Tau in Progressive Supranuclear Palsy
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松崎 伸介, 高村 孝明, 中山 宣昭, 伊東 秀文, 片山 泰一, Fraser Paul
2. 発表標題 進行性核上性麻痺発症機構におけるタウタンパク質SUMO化
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinsuke Matsuzaki, Melissa Eccles, Hironori Takamura, Miheer Sabale, Taiichi Katayama, David Groth, Imran Khan, Mark Agostino, Giuseppe Verdile, Paul Fraser
2. 発表標題 Presenilin-1/2 chimeras indicate specific combinations of protein domains responsible for differential cleavage of APP and Notch Receptor
3. 学会等名 NEURO2019 (第42回 日本神経科学大会・第62回 日本神経化学会大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Genki Amano, Takeshi Yoshimura, Yasutake Mori, Ko Miyoshi, Sarina Han, Sho Shikada, Shinsuke Matsuzaki, Taiichi Katayama
2. 発表標題 Scyl1 arginine methylation by PRMT1 is essential for neurite outgrowth via Golgi morphogenesis.
3. 学会等名 NEURO2019 (第42回 日本神経科学大会・第62回 日本神経化学会大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 天野 元揮, 吉村 武, 森 泰丈, 三好 耕, 韓 薩日娜, 鹿田 星, 高村 明孝, 松崎 伸介, 片山 泰一,
2. 発表標題 SCYL1 arginine methylation by PRMT1 is essential for Golgi morphogenesis.
3. 学会等名 第20回ORIGIN神経科学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsuzaki S
2. 発表標題 Involvement of SUMO1 in Neural function and Alzheimer ' s disease pathology
3. 学会等名 Wakayama-Shandong Medical and Nursing Synposium 2018 ( 国際学会 )
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松崎伸介
2. 発表標題 プレセニリン1/2キメラ体を用いたガンマセクレターゼ活性調節機構に対する検討
3. 学会等名 ニューロカンファレンス和歌山
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松崎伸介、Erin Knock、佐藤嘉名与、天野元揮、小林大地、雑賀史浩、木口倫一、片山泰一、Ottavio Arancio、Paul Fraser、岸岡史郎
2. 発表標題 SUMO1はアルツハイマー病モデルマウスにおけるアミロイド タンパク質蓄積に影響する
3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会 第61回日本神経化学会大会 合同年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高村 明孝、松崎 伸介、 片山 泰一 、Arancio Ottavio、Fraser Paul E
2. 発表標題 神経機能とアルツハイマー病におけるSUMO化の役割
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H. Takamura, S. Matsuzaki, T. Katayama, O. Arancio, P. Fraser
2. 発表標題 SUMOYLATION IMPACT ON SYNAPTIC FUNCTION AND ALZHEIMER DISEASE PATHOLOGY
3. 学会等名 AD/PD2019, the 14th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases, Montreal (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

論文が掲載されました (診療放射線学科 松崎伸介教授) <a href="https://www.morinomiya-u.ac.jp/news/?c=topics_detail&amp;pk=1652835092&amp;type">https://www.morinomiya-u.ac.jp/news/?c=topics_detail&amp;pk=1652835092&amp;type</a>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	FRASER PAUL  (Fraser Paul)	University of Toronto・Tanz Center for Research in Neurodegenerative Diseases・Professor	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
その他の研究協力者	ARANCIO OTTAVIO  (Arancio Ottavio)	Columbia University・Taub Institute for Research on Alzheimer's Disease and the Aging Brain, Dept of Pathology・Professor	



6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
その他の研究協力者	FIORITI LUANA  (Fioriti Luana)	Mario Negri Institute	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
カナダ国	Tanz CRND	University of Toronto		
イタリア	Department of Neuroscience	Istituto di Ricerche Farmacologiche	Mario Negri IRCCS	
米国	Taub Institute	Columbia University		