

令和 4 年 6 月 4 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07835

研究課題名（和文）加齢およびアルツハイマー病の発症過程における神経原線維変化の形成メカニズムの解明

研究課題名（英文）The mechanisms of neurofibrillary tangle formation during ageing and the progression of Alzheimer disease

研究代表者

柳下 聡介 (Yagishita, Sosuke)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第五部・室長

研究者番号：30585592

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：正常な加齢やアルツハイマー病の発症に伴い、脳に神経原線維変化が出現する。神経原線維変化はタウというタンパク質が過剰なリン酸化を受けて、神経細胞内に蓄積したものである。神経原線維変化の形成過程を理解することは、脳における加齢やアルツハイマー病の発症過程を理解するのに重要である。本研究では、タウのリン酸化が普段から変動していること、神経活動によって新しいタンパク質が作られている時にはリン酸化タウが減少することを明らかにした。また、タンパク質合成が阻害されている時には、リン酸化タウが増加するだけでなく、不溶性のタウも増加していた。タウが蓄積する背景に、タンパク質合成の低下がある可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢やアルツハイマー病によってタウが蓄積するメカニズムを理解することは、加齢やアルツハイマー病の発症過程を理解することにつながる。この研究では、「普段、タウにどのような変化が起きているのか」を理解した上で、そこにどのような不具合が生じるとタウが蓄積する方向に進むのかを解明しようと試みた。本研究の期間内では、まず、神経が活動した時にタウに大きな変化が生じることを明らかにした。また、神経が活動した時に新しいタンパク質が作られる過程が阻害されていると、タウが蓄積に至る可能性を見出した。従来にはない観点からの研究であり、加齢やアルツハイマー病の捉え方に新しい選択肢を増やすという意義がある。

研究成果の概要（英文）：Neurofibrillary tangles are observed in normally aged brains and Alzheimer disease brains. Neurofibrillary tangles are intracellular inclusion bodies, and are composed of abnormally phosphorylated tau. To understand the mechanisms of neurofibrillary tangles formation directly leads to understand the mechanisms of brain aging and the onset of Alzheimer disease. In this study, I have found that the level of phosphorylated tau alters even under the physiological conditions, and that the level remains lower during newly protein synthesis caused by neuronal activity. On the other hand, when the protein synthesis is inhibited, the level of phosphorylated tau increased. Moreover, the level of detergent-insoluble tau increases under such a condition. Thus, there is a possibility that a decrease of protein synthesis leads to accumulation of detergent-insoluble tau.

研究分野：神経病理学

キーワード：アルツハイマー病 神経原線維変化 神経活動 タウ

1. 研究開始当初の背景

神経原線維変化(NFT)は、細胞内にタウが蓄積したものであり、アルツハイマー病(AD)の脳の神経病理学的特徴の一つとして知られる。一方で、NFTは認知機能が正常であっても、加齢に伴って嗅内皮質に出現する。NFTの出現範囲が正常の範囲内を越えて、辺縁系や新皮質へ広がったものがADである。よって、NFTの形成過程を理解することは、AD発症のメカニズムの解明だけでなく、脳における加齢のメカニズム解明に直結するが、NFTの出現のメカニズムは未だ不明である。

NFTは、過剰なリン酸化を受けたタウが凝集したものである。タウは、微小管結合タンパク質の一つであり、普段は神経細胞の軸索に局在している。しかし、NFTを構成するタウは、三つの点で、本来のタウとは異なる性質を示す。すなわち、(1)過剰なリン酸化を受けていること、(2)微小管から乖離し、細胞内局在を軸索以外(細胞体・樹状突起)に変えていること、(3)凝集性を獲得していることである。しかし、これら三つの過程がどのようなタイミングで、どのような順番で、どのようなメカニズムで起きるのかは、全く分かっていない。

2. 研究の目的

一生は、一日一日の積み重ねである。一日の間で何が起きるのか、そして、その積み重ねの中で何が起きているかを理解できれば、最終的に起きる現象(NFTの形成)も理解できるはずである。そこで、本研究の計画を大きく2つのフェーズ、すなわち、(A)一日程度の時間的尺度の中で、タウにどのような変化が起きるか、(B)加齢によって、神経活動やタウの状態にどのような変化が生じるのかに分けた。NFTの形成過程がAとBとの組み合わせで説明が可能かどうかを検証することを目的とした。

本研究では特に、リン酸化タウの変動に着目し、それを増減させるような条件を見出し、その中から、リン酸化タウの量を調節するメカニズムを推定することとした。

3. 研究の方法

本研究では、タウを研究対象とするにあたり、野生型マウス及びヒト型タウをノックインしたマウスを用いることにした。ヒト型タウノックインマウスは、理化学研究所の西道隆臣チームリーダー、斎藤貴志博士、橋本翔子博士らによって作製されたものを供与していただいた。

一日程度の尺度の中で、リン酸化タウがどう変動するかを明らかにするため、神経活動を起こしたマウスにおけるリン酸化タウの変動パターンを解析した。また、様々な薬剤を介入させることによって、その変動にどう影響するかを解析した。

また、加齢に依る影響を研究するために、間欠的低酸素負荷(加齢と酷似した遺伝子発現変化を起こす)や或る酵素の欠損マウスを解析することとした。欠損マウスに関しては、成体における発現低下がもたらす影響を明らかにするため、タモキシフェン投与によって、神経細胞特異的にノックアウトできるマウスを作製した。作製次第は、群馬大学の畑田出穂教授、堀居拓郎准教授らの研究室にて行っていただいた(AMED BINDSに依る支援)。

4. 研究成果

(1) 生体の脳におけるリン酸化タウの増減のメカニズムについて

マウスを新規環境に曝露し、神経活動を起こすことができる。その時、リン酸化タウがどのように変化するのかを解析した。その結果、時間に依存して、次のように変化することが分かった。

刺激の直後にリン酸化タウは速やかに減少する。

刺激後2時間までは、リン酸化タウが減少したままの状態が持続する。なお、神経活動依存的な新規タンパク合成のピークも刺激後2時間であった。

刺激後2時間を過ぎると、リン酸化タウは増加に転じ、24時間後には元のレベルに戻った。なお、刺激後2時間を過ぎると、神経活動依存的に新規合成されたタンパク質の量も減少に転じるため、少なくとも新規タンパク合成は停止しているものと考えられた。

つまり、神経活動依存的な新規タンパク質合成系が動くときリン酸化タウは減少するという仕組みになっていることが分かった。

そこで、神経活動依存的な新規タンパク質合成が阻害されている状況下ではどうなっているのかを調べることにした。その目的のため、神経活動依存的な新規タンパク質合成を含むタンパク質合成を阻害する薬剤を二種類用いて、それぞれをマウスに投与してその影響を調べた。その結果、タンパク質合成が阻害された状況においては、リン酸化タウが顕著に増加すること

が分かった。またその時、不溶性タウも増加することが分かった。

(2) 神経活動によってリン酸化タウが減少することの意義について

上記で記したように、神経活動が起きた直後、リン酸化タウは減少する。タウは、微小管結合タンパク質である。そこで、その現象の意義について考察するため、微小管とタウとの結合がどうなるか調べた。神経活動によって、リン酸化タウは減少し、一方で、非リン酸化タウがぞうかするわけだが、そのタウが微小管に結合するようになることが示唆された。

つまり、神経が活動すると、タウは微小管に結合し、微小管の安定性やその上を輸送されているカーゴに何かしらの影響を与えていると考えられた。

(3) 間欠的低酸素負荷を用いた検証について

間欠的低酸素負荷によってリン酸化タウの増加した状態が継続する可能性が分かっていた。そこで、ヒト型タウノックインマウスに一定期間この刺激を行い、その後、通常環境で飼育を継続したとき、リン酸化タウや不溶性タウがどうなるのかを解析した。

間欠的低酸素負荷を4日間行い、その後、1年間飼育した2年齢のマウスを解析した。その結果、間欠的低酸素負荷群においては、可溶性のリン酸化タウは有意に増加していた。よって、間欠的低酸素負荷によって、持続的にリン酸化タウの多い状態が維持されていることが分かった。一方で、不溶性タウについては、有意な増加は認められなかった。この結果は、リン酸化タウが多い状態が継続するだけでは、蓄積しないことを示している。

上記の検討から、神経活動依存的なタンパク質合成の低下という現象が組み合わさることでタウの不溶化を促進する可能性があるため、今後はその可能性について検討したい。

或る酵素の欠損マウスの解析については、着手したところである。現状、ヘテロで欠損させたマウスでの解析を行っているが、目立った違いの検出には至っていない。今後、ホモで欠損させたマウスを作製し、検証を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yagishita-Kyo Nan, Ikai Yuki, Uekita Tomoko, Shinohara Akio, Koshimoto Chihiro, Yoshikawa Keisuke, Maruyama Kei, Yagishita Sosuke	4. 巻 551
2. 論文標題 Testosterone interrupts binding of Neurexin and Neuroligin that are expressed in a highly socialized rodent, <i>Octodon degus</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 54 ~ 62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.03.015	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 柳下聡介
2. 発表標題 「神経活動依存的なリン酸化タウの変動」から考えるタウ蓄積のメカニズム
3. 学会等名 タウ研究ミーティング2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳下聡介, 橋本翔子, 斉藤貴志, 西道隆臣, 荒木敏之
2. 発表標題 神経活動に伴うリン酸化タウの変動およびタウ蓄積のメカニズム解明
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳下聡介, 橋本翔子, 斉藤貴志, 西道隆臣, 荒木敏之
2. 発表標題 間欠的低酸素負荷モデルを用いたリン酸化タウの増加・蓄積のメカニズム解明
3. 学会等名 第38回日本認知症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳下聡介, 荒木敏之
2. 発表標題 抗生物質投与による腸内細菌の除去が神経活動に与える影響
3. 学会等名 第25回腸内細菌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sosuke Yagishita, Toshiyuki Araki
2. 発表標題 Microbiota depletion by vancomycin affects neuronal activity-dependent increase in the level of c-fos protein
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 柳下聡介	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 80
3. 書名 THE LUNG perspectives	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------