

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07968

研究課題名（和文）タウスプライシングを標的とした認知症治療薬研究

研究課題名（英文）Research on dementia therapeutics targeting tau splicing

研究代表者

今村 恵子 (Keiko, Imamura)

京都大学・iPS細胞研究所・特定拠点講師

研究者番号：90379652

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）：高齢化を背景とした認知症患者の増加がみられ、認知症の治療法確立は急務である。認知症の大多数を占めるアルツハイマー病や前頭側頭葉変性症では、臨床症状がタウタンパク質の異常蓄積や神経細胞死とともに出現してくることが知られており、タウタンパク質は治療介入のために重要なターゲットである。タウタンパク質はスプライシング様式によって3リピートタウと4リピートタウに分類される。4リピートタウはシートの形成を促進し、神経毒性が高いタウオリゴマーの形成を促進する。認知症患者神経細胞におけるタウの発現量やスプライシングの制御を行い、タウオリゴマーの減少と神経細胞死抑制を可能にする認知症治療候補薬の同定を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知症の臨床症状は、異常タウタンパク質の蓄積や神経細胞死とともに、出現してくることが知られている。そのため、医療現場における現実的な治療的介入のためには、異常タウタンパク質の蓄積や神経細胞死が治療ターゲットとして重要と考えられる。異常タウタンパク質の蓄積は、認知症を来す多くの神経変性疾患で見られ、これに治療的介入が可能となれば、社会医学的に大きなメリットを有する。

研究成果の概要（英文）：The increase in the number of patients with dementia due to the aging of the population has become a growing problem, and there is an urgent need to establish a fundamental treatment for dementia. In Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration, which account for the majority of dementia cases, tau protein is an important target for therapeutic intervention because clinical symptoms of dementia are known to emerge with abnormal accumulation of tau protein and neuronal cell death. Tau proteins are classified by splicing mode into 3-repeat tau and 4-repeat tau, with 4-repeat tau promoting sheeting and the formation of highly neurotoxic tau oligomers. We have identified candidate drugs for the treatment of dementia that regulate tau expression and splicing in neurons from patients with dementia, and that can reduce tau oligomers and inhibit neuronal cell death.

研究分野：神経科学

キーワード：タウ スプライシング iPS細胞 脳オルガノイド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

社会の高齢化を背景とした認知症患者の増加が問題となっており、2025年には認知症患者数は700万人を超え、65歳以上の高齢者の5人に1人が認知症に罹患すると推定されている。認知症による経済負担は大きく、さらに今後増加することが見込まれるが、現時点では認知症の根本的な治療法は確立しておらず、その治療法および予防法の確立は急務である。特に、認知症の中で最も多いアルツハイマー病や若年者の認知症で多い前頭側頭葉型認知症の根本治療薬開発は社会的重要性が高い。アルツハイマー病は神経病理学的にアミロイドの蓄積による老人斑、異常タウタンパク質の蓄積による神経原線維変化、神経細胞死の3大所見で特徴づけられている。これまで、アルツハイマー病では、アミロイドの蓄積をターゲットとした治療薬研究が中心になされてきた。アミロイドの蓄積はアルツハイマー病病態の上流に位置し、認知症発症の10年以上前からすでに始まっている。一方、認知症の臨床症状は、異常タウタンパク質の蓄積や神経細胞死とともに、出現してくることが知られている。そのため、医療現場における現実的な治療的介入のためには、異常タウタンパク質の蓄積や神経細胞死が治療ターゲットとして重要と考えられる。異常タウ蛋白の蓄積は、認知症を来す多くの神経変性疾患で見られ、これに治療的介入が可能となれば、社会医学的に大きなメリットを有する。

タウタンパク質は微小管結合蛋白質で、主に中枢神経系の神経細胞で発現しており、チューブリンと結合することによって細胞骨格である微小管の安定化を調節する。ヒトの中枢神経系では6つの蛋白質アイソフォームが発現しており、それらは染色体17番上のMAPT遺伝子のN末端側のエクソン2,3とC末端側のエクソン10の選択的スプライシングによって作り出される。エクソン10の有無で微小管結合部位の数が異なる3リピートアイソフォーム(3リピートタウ)と4リピートアイソフォーム(4リピートタウ)に分類される。4リピートタウはシステイン残基のジスルフィド結合を介してシート化を促進し、タウタンパク質の凝集を促進する。この凝集によってできた異常タンパク質のひとつがタウオリゴマーで、神経細胞への毒性が高い。これまでに、家族性前頭側頭葉変性症の患者iPS細胞から作製した神経細胞を用いて疾患解析を行い、4リピートタウの増加により、神経細胞内のタウオリゴマーが増加していること、カルシウムイオンの異常流入が起こり、神経細胞死を来しやすいことを見出した(Imamura, K., *et al.* Calcium dysregulation contributes to neurodegeneration in FTLN patient iPSC-derived neurons. *Sci Rep* 6, 34904 (2016))。そこで、タウのスプライシング制御やその発現量制御を行い、タウオリゴマー蓄積抑制および神経細胞死抑制が可能であることを明らかにする。

社会の高齢化を背景とした認知症患者の増加が問題となっており、認知症による経済負担がさらに今後増加することが見込まれ、認知症の治療法および予防法の確立は急務である。近年、スプライシングを変化させる治療として、脊髄性筋萎縮症やデュシャンヌ型筋ジストロフィーにおけるアンチセンスオリゴ等の核酸医薬が臨床で実用化に成功しており、国内外において疾患修飾薬への期待が高まっている。本研究は、前頭側頭型認知症のみならず、ほかのタウオパチーを来す認知症や神経疾患に広く適応できる可能性も期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、異常タウタンパク質に注目し、タウのスプライシングやその発現量を制御することによって、タウタンパク質の凝集・蓄積と神経細胞死を抑制するアンチセンスオリゴや化合物等の治療候補薬の同定を目的とする。

3. 研究の方法

タウのスプライシング・発現量を制御するアンチセンスオリゴのスクリーニング

前頭側頭葉変性症患者の iPS 細胞から作製した神経細胞を用いて、4 リピートタウと 3 リピートタウの比を減少させるアンチセンスオリゴ・化合物のスクリーニングを行う。3 リピートタウ、4 リピートタウの mRNA 定量を実施する。

タウオリゴマー蓄積抑制効果、神経細胞死抑制効果の検討

前頭側頭型認知症患者神経細胞を用いて、化合物スクリーニングを実施し、タウオリゴマー蓄積抑制効果、神経細胞死抑制効果を評価する。ウエスタンブロットやドットブロット等によるタウオリゴマーの定量、神経細胞の survival assay 等を実施し、化合物の有効性を評価する。

タウオパチーを来す神経疾患における効果検討

FTLD の他、タウオパチーを来すことが知られている進行性核上性麻痺の患者 iPS 細胞から大脳オルガノイドを作製し、病態解析を行う。また化合物の効果を検討する。

4. 研究成果

タウの発現およびスプライシングを制御することを目的とし、MAPT に対するアンチセンスオリゴ75個を設計した。約30個のアンチセンスオリゴについて、FTLD患者由来iPS細胞から作製した大脳神経細胞を用いて、4Rタウ、3Rタウおよび全タウのmRNA発現量をアウトプットとしたスクリーニングを実施した。スクリーニングの結果、4Rタウを有意に低下させるアンチセンスオリゴ、3Rタウを有意に低下させるアンチセンスオリゴ、4Rタウおよび3Rタウの両方を低下させるアンチセンスオリゴを同定した。タウオパチーを来す認知症には、4Rタウが蓄積する疾患、3Rタウが蓄積する疾患、4Rタウと3Rタウの両者が蓄積する疾患があり、本研究で同定したアンチセンスオリゴは、前頭側頭型認知症のみならず、それぞれのタウオパチー関連疾患における核酸医薬の治療薬として期待できると考えられた。

また、FTLD 患者 iPS 細胞由来神経細胞を用いて、神経細胞死を抑制する化合物のスクリーニングを実施した。スクリーニングには抗てんかん薬を中心とした既存薬を用いた。スクリーニングの結果、FTLD 患者 iPS 細胞由来神経細胞の細胞死を抑制する既存薬を見出された。FTLD 患者 iPS 細胞由来神経細胞へのタウオリゴマー蓄積抑制作用を認めた。

さらに、FTLD 患者や進行性核上性麻痺の患者 iPS 細胞から大脳オルガノイドを作製し、免疫染色等によりタウタンパク質蓄積を評価した。また、シングルセル RNAseq を実施し、タウオパチー病態に関連する pathway を抽出した。化合物添加により、表現型に関連すると思われる遺伝子変化の改善が認められた。

以上から、FTLD 患者 iPS 細胞由来神経細胞の疾患表現型を改善するアンチセンスオリゴおよび化合物を治療候補薬として同定した。同定した治療候補薬は、前頭側頭型認知症のみならず、その他のタウオパチーを来す神経疾患に対しても効果が期待できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Suong DNA, Imamura K, Inoue I, Kabai R, Sakamoto S, Okumura T, Kato Y, Kondo T, Yada Y, Klein WL, Watanabe A, Inoue H	4. 巻 4
2. 論文標題 Induction of inverted morphology in brain organoids by vertical-mixing bioreactors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 1213
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02719-5	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 Suong DNA, Imamura K, Kato Y, Inoue H	4. 巻 16
2. 論文標題 Design of neural organoids engineered by mechanical forces	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 IBRO Neurosci Rep	6. 最初と最後の頁 190-105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ibneur.2024.01.004.	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

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 3件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 今村恵子、井上治久
2. 発表標題 AIとiPS細胞を用いた創薬・疾患研究
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Keiko Imamura ¹ , Yuichiro Yada, Ayako Nagahashi, Haruhisa Inoue
2. 発表標題 Development of diagnostic models for neurological diseases using stem cells and Deep Neural Network ~ Deep Learning with iPSC-based scanning (Deep iScan) ~
3. 学会等名 Cell Symposium: Advances in Therapeutic Applications of Stem Cells (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Keiko Imamura, Hiroki Takeuchi, Naruhiko Sahara, Hideo Hara, Takeshi Tabira, Tetsuya Suhara, Ryosuke Takahashi, Makoto Higuchi, Haruhisa Inoue
2. 発表標題 Nasal vaccination against tauopathy using Sendai virus vector
3. 学会等名 第44回神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村恵子、井上治久
2. 発表標題 タウオパチーに対する免疫療法
3. 学会等名 第36回日本老年精神医学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村恵子
2. 発表標題 タウオパチー治療のための点鼻ワクチンの開発
3. 学会等名 第63回 日本神経化学学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今村恵子
2. 発表標題 認知症に対するタウ点鼻ワクチンの開発
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 タウオパチーの予防又は治療剤	発明者 国立大学法人京都大学	権利者 国立大学法人京都大学, 国立研究開発法人量子科
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/039450	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------