

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15460

研究課題名(和文)アルツハイマー病のタウ病態からみたインフラマソームの機能解明と治療法開発

研究課題名(英文)the elucidation of inflammasome in tau pathology in alzheimer's disease

研究代表者

勝元 敦子(Kastumoto, Atsuko)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：20806161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ミクログリア炎症がアルツハイマー病(AD)の神経変性の本態に関与していると考え、ミクログリア特異的にインフラマソーム制御因子であるTAK1の遺伝子発現を抑制したタウオパチーモデルマウスを用いて免疫組織化学的検討を行った。TAK1ノックアウトマウスでは、対照群に比してミクログリアの持続的な活性化およびインフラマソームシグナル伝達分子ASCおよびNLRP3発現の亢進を認め、高齢マウスでは対照群と比較して神経変性が進行、脳室拡大もみられた。ミクログリア特異的TAK1欠損によるインフラマソーム活性によりタウ病理が促進され、TAK1がタウ病理の進行抑制に重要な標的と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミクログリア特異的TAK1遺伝子除去により、インフラマソーム活性化およびタウ病理の促進が確認された。さらにインフラマソーム活性化が惹起された機序として、TAK1により抑制されていたRIPK1活性が亢進し、疾患関連ミクログリアと呼ばれる特異なサブタイプへの変化に至った経路が示唆された。hTau遺伝子を持たないTAK1ノックアウトマウスではこのような変化に乏しく、hTau遺伝子が存在することで更に神経変性が促進されると推定される。今後はタウの存在とRIPK1活性との関連を解明することで、アルツハイマー病における神経変性の新たな機序を解明するきっかけとなり得ると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The pathophysiology of Alzheimer's disease (AD) is likely strongly influenced by inflammation mediated through microglia. Depletion of microglial TAK1 has been reported to reduce autoimmune inflammation in the central nervous system. This study was aimed to elucidate the involvement of the microglial TAK1 to the progression of tauopathy, a pathological hallmark of AD, as mediated by inflammasome. Transgenic hTau;TAK1ko mice were analyzed for tau pathology, microglial activation, and NLRP3 inflammasome activation by immunohistochemistry. Strong morphological changes were observed in hTau;TAK1ko microglia, whereas microglia in control groups showed minor changes at 4 months. Inflammasome protein NLRP3 and ASC were markedly increased in hTau;TAK1ko mice. Furthermore, hTau;TAK1ko mice had severe ventricle enlargement that indicates cortical atrophy at 12 months. The deficiency of microglial TAK1 led to continuous inflammasome activation through RIPK1 in mouse model of tauopathy.

研究分野：神経内科

キーワード：アルツハイマー病 ミクログリア インフラマソーム TAK1

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、AD やパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患において、IL-1 β を含む炎症性サイトカインの産生増加や、ミクログリアやアストロサイトの活性化、活性化マクロファージの浸潤などが認められることから、病態におけるグリア炎症および免疫機序の関与が指摘されている (Heneka et al. *Nat Reviews Immunol.* 2014)。また、炎症反応の誘導に関する新たな経路として、インフラマソームを介した活性化型 caspase-1 による IL-1 β 生成反応が注目されている (図 1)。軽度認知障害患者および AD 患者の脳では、活性化型 caspase-1 の発現亢進が認められ、さらに、A β 蓄積性の家族性 AD モデルマウスにおいて、インフラマソーム形成に重要な遺伝子 (NACHT, LRR, and PYD domains-containing protein 3 (NLRP3)、caspase-1、あるいは、Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC)) をノックアウトした実験では、IL-1 β の活性化減少と A β の除去亢進に基づく記憶障害の軽減が報告されている。これらの結果は、A β 蓄積に NLRP3/caspase-1 経路が重要な役割を果たし、インフラマソームの抑制が AD の新しい治療戦略となり得ることを示している (Heneka et al. *Nat Reviews Immunol.* 2014, Couturier et al. *J Neuroinflammation.* 2016)。しかし、これまでの A β を標的とした AD 治療戦略は抗 A β 抗体医薬の効果の不十分さから暗礁に乗り上げており、タウを標的とする治療戦略へ移行しつつある。申請者らは動物実験により、ASC を含むインフラマソームが AD のタウ病理にも関与している可能性を見いだした。

2. 研究の目的

本研究では、ミクログリアにおけるタウとインフラマソームとの関連および AD の病態形成への関与を明らかにし、インフラマソームの活性化抑制に基づく AD の新たな治療法開発への展開を目標としている。

3. 研究の方法

我々が研究に着手した 2018 年に、NLRP3 活性化の制御因子として TGF- β activated kinase-1 (TAK1) が中心的な役割を果たし (Malireddi et al. *J Exp Med.* 2018)、TAK1 欠損マクロファージは TLR のプライミングなしでも自発的な NLRP3 活性化が生じることが報告された。本研究では、ミクログリア特異的に TAK1 の遺伝子発現を抑制したタウオパチーモデルマウスを用いて、4、12 ヶ月齢の TAK1 コンディショナルノックアウト (hTau;TAK1^{fl/fl}; CX3CR1^{Cre+}) およびコントロールマウス (hTau;TAK1^{fl/fl}; CX3CR1^{Cre-}) の脳切片で免疫組織化学的検討を行った。TAK1 遺伝子除去そのものによるミクログリアへの影響を観察するため、12 ヶ月齢ではミクログリア特異的 TAK1 除去マウス (TAK1^{fl/fl};CX3CR1^{Cre-}) も含めて検討を行った。

4. 研究成果

4 ヶ月齢の hTau;TAK1 ノックアウトマウスでは、コントロール (hTau) 群に比してミクログリアがアメボイド型に変化し (右図 1A, 1B)、ミクログリア活性化が示唆された。さらに同群でミクログリアにおけるインフラマソーム構成蛋白 ASC の発現が亢進していた (右図 1C-1E)。リン酸化タウ (AT8) は両群で染色されなかった。

次に、12 ヶ月齢の hTau;TAK1 コンディショナルノックアウト (hTau;TAK1^{fl/fl}; CX3CR1^{Cre+} マウス)、コントロール (hTau;TAK1^{fl/fl}; CX3CR1^{Cre-} マウス) および TAK1^{fl/fl};CX3CR1^{Cre-} マウスの脳切片で免疫組織化学的検討を行った。hTau;TAK1 ノックアウトマウスでは、hTau 群と比較してミクログリアがアメボイド型に変化しており、継続したミクログリア炎症が示唆された (図 2A, 2B)。さらに 4 ヶ月齢では認められなかった CD68 陽性細胞が観察された (図 2A, 2C)。インフラマソーム構成蛋白 NLRP3 は hTau;TAK1 ノックアウトマウスで最も発現が亢進し、次いで TAK1 ノックアウトマウスで発現を認めた。hTau マウスでは最も発現が低かった。Tau 自身によるインフラマソーム活性化促進が報告されている (Stancu et al. *Acta Neuropathol.* 2019) が、hTau;TAK1 ノックアウトマウスでは、ミクログリア特異的 TAK1 除去と hTau の相乗効果によりインフラマソーム活性化が促進したと考えられた (図 2D-2F)。次に、慢性変化につき検討を行った。hTau;TAK1 ノックアウトマウスでは、他群と比較して脳室拡大が顕著であり (図 2G-2I)、脳萎縮の進行が示唆された。大脳皮質や海馬萎縮は認めず (図 2J, 2K)、検討したスライス数やサンプル数の増加、また他領域での萎縮について今後検討予定である。

図 1

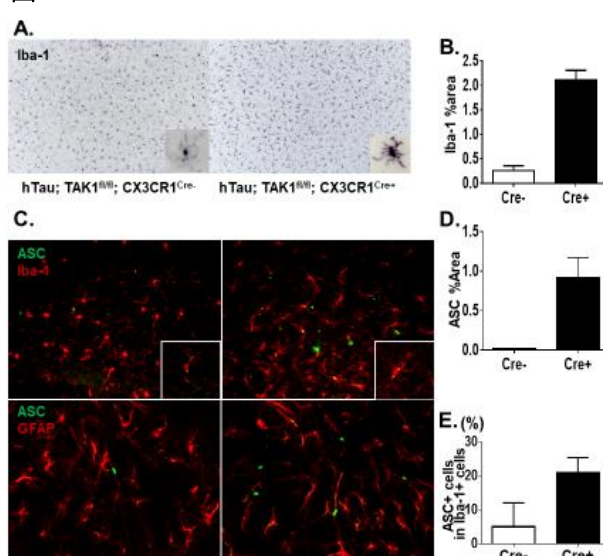
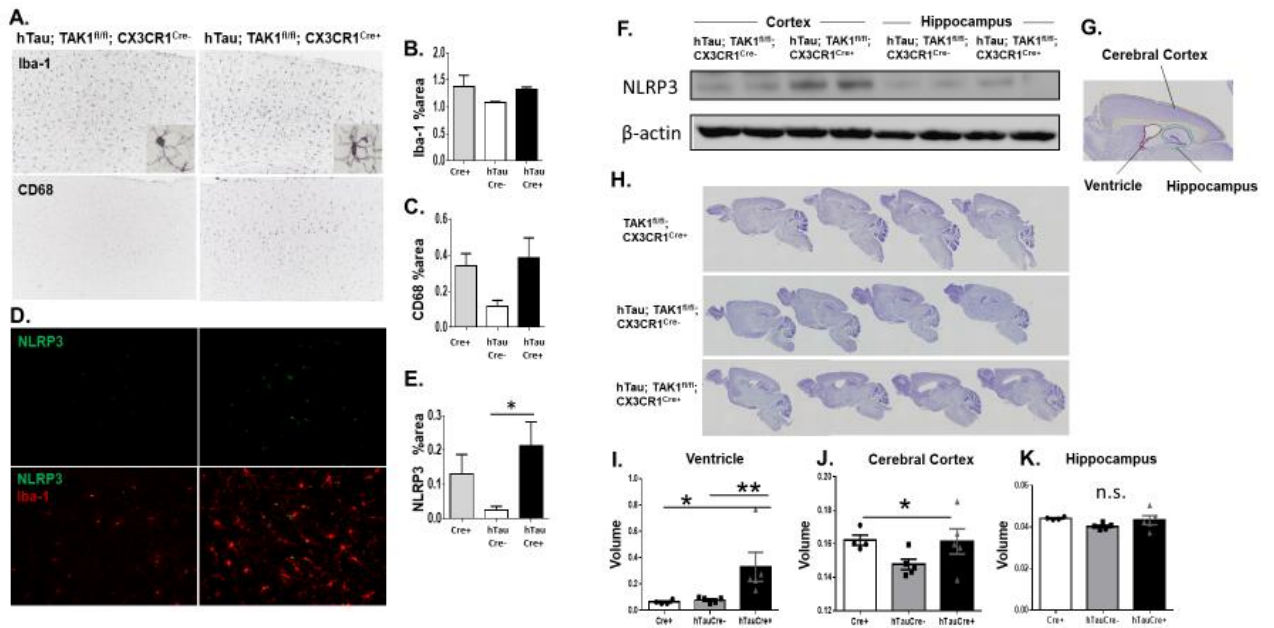
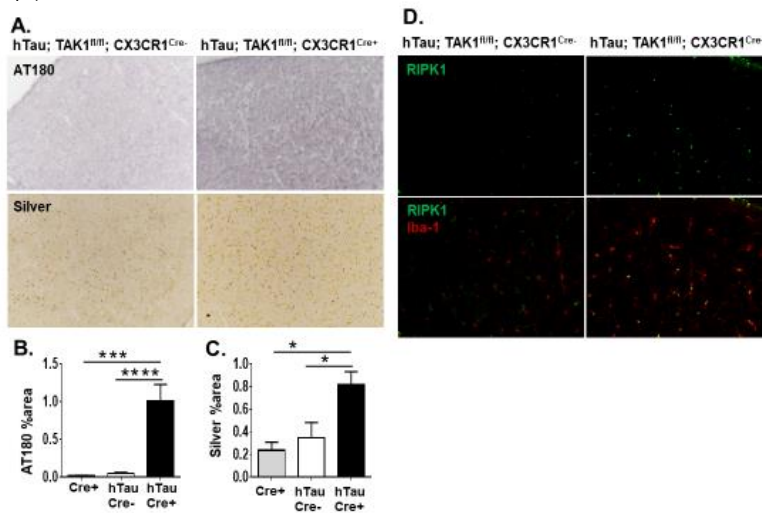


図 2



最後に、タウ病理および神経変性につき AT180, Silver 染色を行ったところ、TAK1 ノックアウトマウス、hTau マウスでは染色性が同等であるのに対し、hTau;TAK1 ノックアウトマウスでは、いずれの染色でも陽性細胞が多くみられ (図 3A-3C)、タウ病理と神経変性の進行を認めた。TAK1 シグナルを調整しているとされる RIPK1 発現も hTau;TAK1 ノックアウトマウスで亢進しており (図 3D)、インフラサーム活性化が惹起された機序として、TAK1 により抑制されていた RIPK1 活性が亢進し、疾患関連ミクログリアと呼ばれる特異なサブタイプへの変化に至った経路が示唆された。また hTau 遺伝子を持たない TAK1 ノックアウトマウスではこのような変化に乏しく、hTau 遺伝子が存在することで更に神経変性が促進されると考えられた。

図 3



引用文献

- Heneka et al. Inflammasome in Brain Function and Neurodegenerative Disease. *Nat Rev Neurosci.* Oct;19(10):610-621. 2018.
- Couturier et al. Activation of Phagocytic Activity in Astrocytes by Reduced Expression of the Inflammasome Component ASC and Its Implication in a Mouse Model of Alzheimer Disease. *J Neuroinflamm.* Jan 27;13:20. 2016.
- Malireddi et al. TAK1 spontaneous NLRP3 Activation and Cell Death to Control Myeloid Proliferation. *J Exp Med.* Apr 2;215(4):1023-1034. 2018.
- Stancu et al. Aggregated Tau Activates NLRP3-ASC Inflammasome Exacerbating Exogenously Seeded and Non-Exogenously Seeded Tau Pathology in Vivo. *Acta Neuropathol.* Apr;137(4):599-617. 2019.

5. 主な発表論文等

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

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 Atsuko Katsumoto, Hideyuki Takeuchi, Fumiaki Tanaka | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Tau Pathology in Chronic Traumatic Encephalopathy and Alzheimer's Disease: Similarities and Differences | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Neurology | 6. 最初と最後の頁 980 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fneur.2019.00980 | 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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Atsuko Katsumoto |
| 2. 発表標題 The role of microglial TAK1 in the Alzheimer's disease mouse model |
| 3. 学会等名 日本神経学会学術大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔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 |
|-------|------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 田中 章景 (Tanaka Fumiaki) | 横浜市立大学 | |
| 研究協力者 | 土井 宏 (Doi Hiroshi) | 横浜市立大学 | |
| 研究協力者 | 竹内 英之 (Takeuchi Hideyuki) | 横浜市立大学 | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------|-------------------------------|-----------------------|----|
| 研究 協力者 | 児矢野 繁 (Koyano Shigeru) | 横浜市立大学 | |