

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791158

研究課題名(和文) 未線維化タウ病変を標的とした画像診断薬ならびに治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of diagnostic and therapeutic agents targeting pre-fibrillary tau lesions in Tauopathies.

研究代表者

丸山 将浩 (MARUYAMA MASAHIRO)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・主任研究員

研究者番号：80396481

研究成果の概要(和文)：

新規開発した線維性タウ封入体(TI)を標的としたポジトロン断層撮影用プローブは、TIを定量的に観察が可能であることをタウオパチーモデルマウス(tau-Tg)で確認した。イメージングに用いた tau-Tg の病理解析を行ったところ、海馬には早期から未線維タウ構造体が形成されTI形成に至り難い一方で、脳幹・脊髄では後期にTIを好発形成することがわかった。TIにはビトロネクチン(Vn)が共局在することを免疫組織学的染色法で確認しており、Vnがタウ重合に影響を及ぼすものと見込んでいる。当仮説を基にして未線維タウ構造体の病的意義を明らかにすると共に新規タウオパチー診断治療薬を探索中である。

研究成果の概要(英文)：A series of newly developed tau imaging probes applicable to positron emission tomography (PET) exhibited pharmacological properties sufficient for quantitative detection of intraneuronal tau inclusions (TI) formed in tau transgenic mice (tau-Tg). Combined PET and postmortem neuropathological assays of aged tau-Tg indicated that relatively immature tau assemblies in the hippocampus led neurons to toxic death prior to the formation of TI, while abundant accumulation of TI appeared to be associated with gradual neuronal death in the brainstem and spinal cord. This regional difference may be mechanistically linked to interaction of bioactive molecules with tau aggregates, as an adhesion element, vitronectin (Vn), was well colocalized with neuronal tau in the brainstem but not hippocampus. In this consideration, Vn is likely to be involved in conversion of tau polymers between immature neurotoxic and mature nontoxic forms, which would provide insights into etiological and diagnostic-therapeutic approaches to low-order tau assemblies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：精神神経科学

科研費の分科・細目：老年精神医学

キーワード：タウオパチー、ポジトロン断層撮影、未線維タウ構造体、ビトロネクチン

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病をはじめとしたタウオパ

チーは線維性タウ封入体(TI)からなる病理変化の存在で特徴づけられている。申請者は前回獲得した科研費で TI イメージング剤を開発した。しかし更なる早期診断・治療を目指す為には、前駆段階と見込まれている未線維タウ構造体を標的とした診断治療薬開発を行うことが妥当であるものと考えている。

2. 研究の目的

前回テーマに引き続き、開発した TI を標的とするポジトロン断層撮影用プローブをモデルマウスに投与して特性評価を行う。更にタウ未線維構造体を標的とする診断治療薬開発を行うに当たって、まずは未線維タウ構造体から TI への変遷機構を把握すると共に、タウオパチー病態における同構造体の位置づけ(病原なのか産物なのか)を見極める。

3. 研究の方法

(1) 開発した TI を標的とするポジトロン断層撮影用プローブの特性評価

放射性核種¹¹Cで標識されたトレーサーを tau-Tg に静注してポジトロン断層撮影を行う。TI が存在する脳部位に関心領域を設定して、野生型(WT)マウスとの動態の違いを統計学的検定によって確認する。月齢の違う tau-Tg を複数匹ポジトロン断層撮影後に解剖して病理学的に TI 病変量を確認し、シグナル強度との相関性を確認して定量計測の有効性を評価する。

(2) TI に共局在する Vn の同定と、未線維タウ構造体の病的意義の解明

tau-Tg の病理組織切片を用いて FSB((trans, trans)-1-fluoro-2, 5-bis(3-hydroxycarbonyl-4-hydroxy)styrylbenzene) (*Eur J Med Chem.* 2004;39:573-8)によって染色された TI に対し

てリン酸化タウ抗体や Vn 抗体によって免疫学的組織染色を行う。FSB が有する UV 波長蛍光と、リン酸化タウ抗体や Vn 抗体で標識した蛍光が重複するか蛍光顕微鏡で観察する。比較的若い月齢から老齢までに至る tau-Tg の組織切片を用意し、海馬と、脳幹・脊髄領域に対して同様に染色を行い、タウリン酸化、Vn 蓄積、線維化の順序立てすることによってタウ封入体形成機構を構想化する。

4. 研究成果

(1) 開発した TI を標的とするポジトロン断層撮影用プローブの特性評価

新規開発した線維性タウ封入体結合プローブを用いて tau-Tg と WT を撮影して、得られたデータを統計学的手法によって解析した。Tau-Tg 病変部位の放射性シグナルは WT 群に比較して有意に高く ($p < 0.005$)、Tg 群内においてもシグナル強度は病変数に有意に比例し ($p = 0.005$)、ポジトロン断層撮影を利用して定量的に観察が可能であることを確認した。

(2) TI に共局在する Vn の同定と、未線維タウ構造体の病的意義の解明

さまざまな臓器や細胞において線維性病変形成に Vn が関与する報告がなされており、TI 形成機構においても Vn が関連する可能性を見込んで研究を開始した。Vn アミノ酸配列において個々のエピトープに対応する抗体を用意し免疫学的組織染色を試みた。ヘパリン結合ドメイン(Vn-HBD)を認識する抗体を作成し染色を試みたところ、FSB 陽性の線維性封入体において cytosol に存在するリン酸化タウと共染した。他のアミノ酸領域の Vn 抗体はリン酸化タウとの共染性が得られず、TI には Vn-HBD を含む断片化したタンパクが蓄積している可能性が考えられた。本来 Vn

は血中や細胞外マトリクスに存在するタンパクであり、本件においては細胞内に取り込まれるも完全分解を免れ cytosol に蓄積したものである。脳幹及び脊髄において TI の形成は加齢に従い増加した。一方海馬では未線維タウ構造体が早期から認めるも TI へは至り難く、加齢に従い細胞脱落に伴う委縮が目立った。そして同構造体において Vn とリン酸化タウ間には局在の一致を認めなかった(図.)。これらの事象を勘案するにタウ線維化には Vn が関与し、線維化に至らぬ構造体は細胞死に晒されやすい可能性が示唆された。引き続き Vn 欠失掛合わせモデルを構築し当該メカニズムを検証しながら、新規タウオパチー診断治療薬開発に臨みたい。

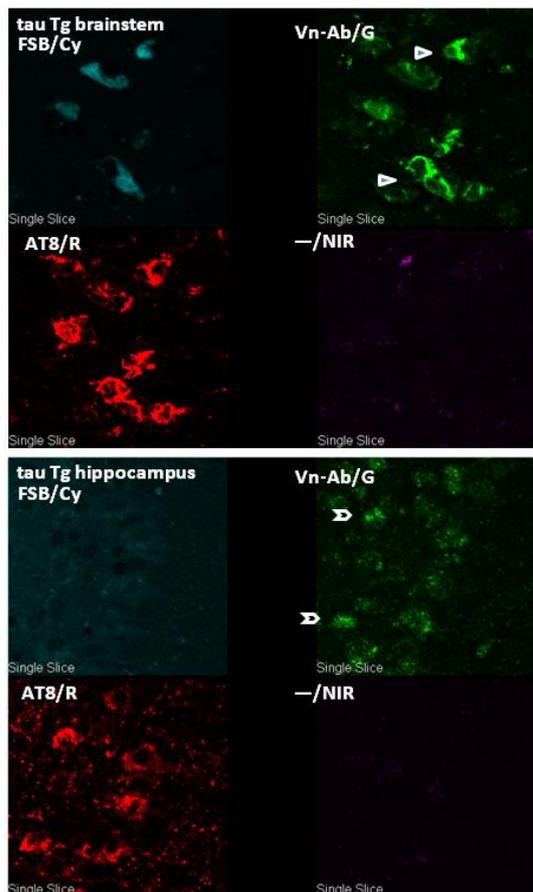


図. マウス線維化タウ封入体(上段)と未線維タウ構造体(下段)。線維化した封入体はFSBによって染色される。封入体ではリン酸化タウ抗体(AT8:赤)とVn抗体(緑)が共染する(矢印)、未線維構造体では局在が一致しない(矢頭)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Higuchi M, Maeda J, Ji B, Maruyama M, Okauchi T, Tokunaga M, Ono M, Suhara T. In-vivo visualization of key molecular processes involved in Alzheimer's disease pathogenesis: Insights from neuroimaging research in humans and rodent models. *Biochim Biophys Acta*. 1802 373-88. 2010. (査読有)

[学会発表] (計2件)

- ① Maruyama M, et al. In-vivo optical and PET detections of fibrillar tau lesions in a mouse model of tauopathies. *Alzheimer's Association ICAD 2009*. Vienna. July 11, 2009.
- ② 丸山 将浩. タウ封入体を標的としたタウオパチー診断薬の開発. 第28回日本認知症学会学術集会. 仙台. 2009年11月20日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

丸山 将浩 (MARUYAMA MASAHIRO)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・主任研究員
研究者番号：80396481