

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：23903

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20688

研究課題名（和文）アルツハイマー病モデルマウスにおけるタウ病態発症機序と慢性腎臓病の関連

研究課題名（英文）Relevance of chronic kidney disease with tau pathology onset in the Alzheimer's disease mouse model

研究代表者

眞鍋 達也（Manabe, Tatsuya）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：60944006

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：アルツハイマー病（AD）の創薬開発にはAD病理を完全に再現するマウスモデル開発が急務である。しかし、既存モデルではタウ病理の再現は成功できていないため、AD発症の機序は全くわかっていない。本研究では、脳内におけるタウの総量がマウスで不足していると考え、慢性腎臓病（CKD）を介した総タウの増加を高年齢のマウスで試みた。その結果、脳内タウの増加は確認されなかったが、タウのリン酸化が亢進することを初めて確認した。このことから、CKDはリン酸化を促進させることでタウの凝集を引き起こし、ADの増悪因子になりうることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CKDは加齢性疾患であり、孤発性AD患者の一部でその併存が知られている。タウに関連したAD-CKDの病態類似性について臨床報告が相次いでいるが、未だマウスモデルを用いた検証はなされていない現状であった。本研究では初めてCKDという慢性的な疾患がADなどの神経変性疾患に深く関連する脳内タウに影響を及ぼした上で、学術的な意義は高い。そして、AD-CKDという疾患関連研究は独自性の高い研究課題であり、臨床的にも重要な示唆を提供するとともに、ADモデル開発の向上にも深い洞察を提供する研究である。

研究成果の概要（英文）：Development of mouse models recapitulating all the Alzheimer's disease (AD) pathological hallmarks is essential for discovering effective treatments. Due to the lack of tau pathology in the currently available mouse models, AD pathogenesis remains largely unknown. We hypothesized that mice may not express sufficient tau levels in the brain for tau pathogenesis and tested whether chronic kidney disease (CKD) could elevate the total tau levels in the brain. To this end, we induced CKD in aged mice and found a rise in tau phosphorylation with total tau levels unchanged. Our findings suggested that CKD could worsen AD pathology by promoting tau phosphorylation and its subsequent aggregation in the brain.

研究分野：神経病態学

キーワード：タウ 慢性腎臓病 アルツハイマー病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

既存するアルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) のモデルマウスでは、AD を特徴づける脳病態のうち、アミロイド病理 (老人斑) は出現するが、タウ病理 (神経原線維変化) と脳の萎縮は再現ができていない。このモデル動物の不完全性は AD 発症後にも有効な治療薬の同定や発症機序の解明の障壁である。最も主流な AD 発症論としてアミロイドカスケード仮説が知られ、アミロイド病理はタウ病理を引き起こすと考えられてきた。しかし、より最近の研究では、二つの病理は異なる機序で脳内で出現し、アミロイド病理はタウ病理そのものを引き起こすのではなく、むしろ伝播に関与するとみなされている。事実、アミロイド病理非存在下の嗅内皮質において局所的なタウ病理が観察され、原発性年齢関連タウオパチー (primary age-related tauopathy, PART) として知られている (Costoya-Sánchez *et al.* 2023)。タウ病理のイメージング技術の進歩に伴い、タウ病理は嗅内皮質から下頭前回へ伝播した際、新皮質から伝播したアミロイド病理に遭遇すれば、タウ病理は指数関数的に加速することが報告された (Lee *et al.* 2022)。よって、完全に AD 病理を再現するモデル開発にはアミロイド病理とは独立してタウの凝集を呈するモデル開発が必要と言える。我々は孤発性 AD を発症する際に患者は高齢であり、43% の AD 患者が他の疾患も併発していることから (Hijioka *et al.* 2023)、他疾患で PART 様なタウ病理を引き起こせないかと仮説を立てた。特に慢性腎臓病 (chronic kidney disease, CKD) 患者では、AD 発症の前段階に相当する軽度認知障害の発症リスクが倍増し (Viggiano *et al.* 2020)、血中タウ濃度も顕著に上昇している (Syrjanen *et al.* 2022)。近年注目されつつあるこの疾患関連の観点から CKD によって新たにタウ病理が出現しないかマウスを用いて検証した。

2. 研究の目的

マウスに CKD を惹起することで、PART 患者で見られるようなタウの病的なリン酸化や凝集を脳内で作出できるかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 12-13 ヶ月齢の AD モデルマウス ($App^{NL-G-F}; MAPT$ ノックインマウス) にアデニンを 4 週間に亘り強制経口投与を行い、CKD を惹起した。投与終了から 4 週間後において各種組織を採取した。腎機能障害の解析には血漿中クレアチニン濃度の測定や腎臓切片を用いたピクロシリウスレッド染色、脳のタウ病理解析には嗅内皮質を含む脳領域中のリン酸化タウや総タウをウェスタンブロット法で定量した。

(2) 中齢 (9 ヶ月齢) と高齢 (18 ヶ月齢) の野生型マウスにアデニン添加食を 4 週間摂餌させ、その後標準飼料に飼料を変更した後、投与開始から 6 週目において各種組織を採取した。当初予定では AD モデルマウスまたは $MAPT$ ノックインマウスを用いる予定であったが、加齢に要する時間の制限上、野生型マウスを用いて実験を行った。腎臓病理やタウ病理解析には上記と同様の手法を用いた。

4. 研究成果

(1) AD モデルマウスにアデニンを強制経口投与した結果

アデニン投与による CKD 惹起の確認のため、血漿中クレアチニン濃度や凍結腎臓の重量を測定したところ、アデニン投与群においてクレアチニン濃度の増加傾向や腎臓重量の低下を認めた。この結果に対応し、ピクロシリウスレッド染色では明らかな腎臓の線維化をアデニン投与群で確認した (図 1A, B)。大脳皮質を用いた脳の生化学的な解析では、病的なタウのリン酸化マーカーである AT8 は検出されず、他のリン酸化タウ (p-tau396) にも変化は生じなかった。総タウを表す Tau-5 や非リン酸化エピトープの Tau-1 の量にも変化は確認されなかった (図 1C)。

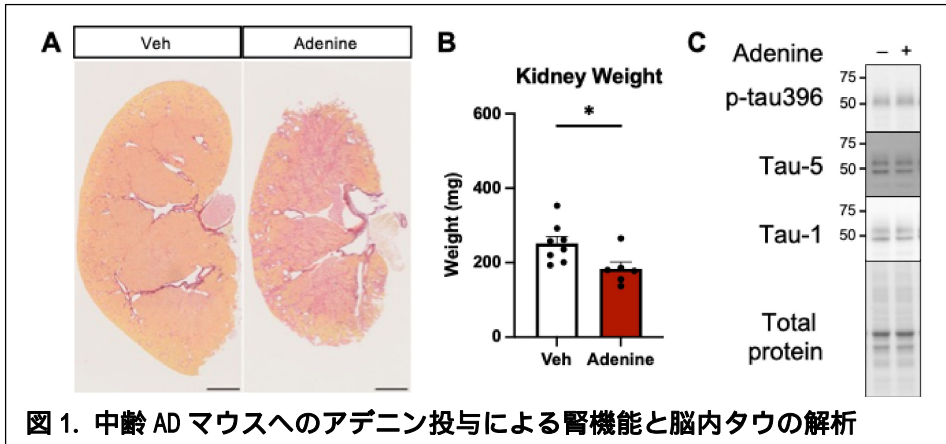


図 1. 中齢 AD マウスへのアデニン投与による腎機能と脳内タウの解析

(2) 高齢野生型マウスにアデニン添加食を摂餌させた際の結果

強制経口投与の解析結果と同様に、アデニン添加食摂餌群において腎臓重量の低下とピクロシリウスレッド染色陽性の腎臓の線維化を認めた(図 2A, B)。クレアチニン濃度は本手法を用いると有意な増加を示し、興味深いことに高齢アデニン投与群は中齢アデニン投与群よりも有意に増加した(図 2C)。脳のリン酸化タウの解析では、中齢・高齢アデニン投与群において AT8 は検出されなかったものの、高齢アデニン投与群では有意なタウのリン酸化 (p-tau217, p-tau396) の亢進を確認した(図 2D)。予想に反し、脳内のタウの総量 (Tau-5) には変化が見られなかったため、当該現象はキナーゼやホスファターゼ活性の変化によるタウのリン酸化の促進と考えられる。PART 患者で見られる局所的な AT8 陽性のリン酸化タウ検出にウェスタンブロット法で検出できない可能性も考慮し、免疫組織化学による検討も行ったが、海馬や梨状皮質で AT8 陽性細胞は認められなかった。

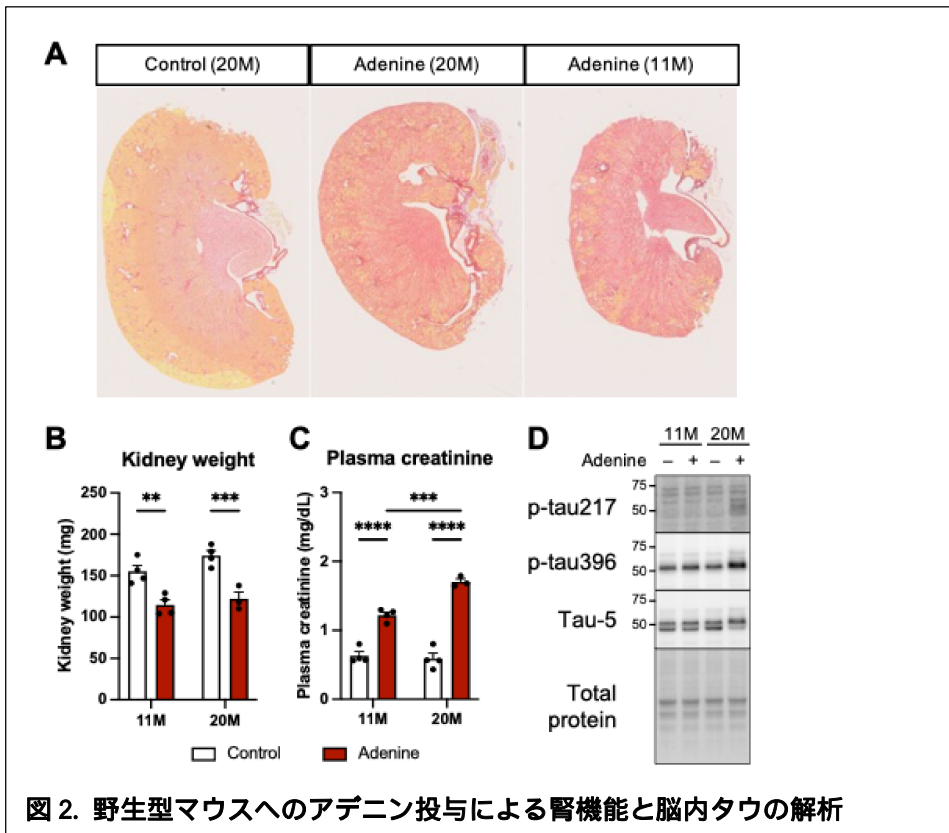


図 2. 野生型マウスへのアデニン投与による腎機能と脳内タウの解析

上記結果に基づき、CKD によるタウのリン酸化亢進は加齢が素因として重要であることが判明し、これは PART 患者の加齢依存性と一致する。アデニンを投与した AD モデルマウス脳内でタウのリン酸化が亢進しなかったのは中齢の個体を用いたことが原因と考えられる。また、PART や AD 患者で見られる神経原線維変化は 6 つのタウのアイソフォームで構成されるため、タウの凝集にタウのヒト化は必須と考えるのが合理的である。よって、引き続き *MAPT* ノックインマウスを加齢させ、アデニン添加食を摂餌させて CKD を惹起し、PART 患者で見られるようなタウ病理の出現を引き起こせるか解析を続けていく。

<引用文献>

- Costoya-Sánchez A., Moscoso A., Silva-Rodríguez J., Pontecorvo M. J., Devous M. D., Aguiar P., Schöll M., Grothe M. J., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative and the Harvard Aging Brain Study (2023) Increased Medial Temporal Tau Positron Emission Tomography Uptake in the Absence of Amyloid- Positivity. *JAMA Neurol* **80**, 1051-1061.
- Hijioka M., Manabe T., Saito T. (2023) Multifactorial glial responses and their contributions to Alzheimer's disease continuum. *Clin. Exp. Neuroimmunol.* **14**, 82-91.
- Lee W. J., Brown J. A., Kim H. R., La Joie R., Cho H., Lyoo C. H., Rabinovici G. D., Seong J.-K., Seeley W. W., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2022) Regional A -tau interactions promote onset and acceleration of Alzheimer's disease tau spreading. *Neuron* **110**, 1932-1943.e5.
- Syrjanen J. A., Campbell M. R., Algeciras-Schimnich A., Vemuri P., Graff-Radford J., Machulda M. M., Bu G., et al. (2022) Associations of amyloid and neurodegeneration plasma biomarkers with comorbidities. *Alzheimers Dement* **18**, 1128-1140.
- Viggiano D., Wagner C. A., Martino G., Nedergaard M., Zoccali C., Unwin R., Capasso G. (2020) Mechanisms of cognitive dysfunction in CKD. *Nat. Rev. Nephrol.* **16**, 452-469.

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 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hijioka Masanori, Manabe Tatsuya, Saito Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Multifactorial glial responses and their contributions to Alzheimer's disease continuum	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Neuroimmunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cen3.12745	査読の有無 有
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 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Manabe, T, Saito, T, Heneka, M.T
2. 発表標題 Systemic inflammation challenging the ageing brains
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Manabe, T
2. 発表標題 Study of systemic inflammation and its potential effect on glial senescence during ageing
3. 学会等名 第26回グリア研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Aoki, S, Takagi, T, Hijioka, M, Manabe, T, Dohi, N, Asamitsu, K, Saito, T
2. 発表標題 タウ性状に対する腸内細菌の影響-野生型マウスでの解析-
3. 学会等名 第41回認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takagi, T, Manabe, T, Dohi, N, Hijioka, M, Saito, T
2. 発表標題 Reversibility of tau hyperphosphorylation in response to hypothermia
3. 学会等名 第41回認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Manabe, T, Iida, T, Saito, T
2. 発表標題 Chronic kidney disease elevating tau phosphorylation in the aged mouse brain
3. 学会等名 Neuro2024
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 眞鍋達也、齊藤貴志	4. 発行年 2023年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 226
3. 書名 (分担執筆) アルツハイマー病の動物モデルの現状と今後の展望	

1. 著者名 眞鍋達也、齊藤貴志	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 272
3. 書名 (分担執筆) アルツハイマー病のモデル開発 前臨床モデルから臨床モデルへ	

〔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
---------	---------