【解説】

タウ蛋白質の生理的・病的意義と疾患診断への応用

樋口真人

神経細胞の老化と、それに伴って出現する神経変性疾患を支配する分子機構の解明は、現在の神経研究における最大の課題の一つである。アルツハイマー病など老化に伴う神経変性疾患では、ヒトの脳内に異常な蛋白質の線維が蓄積する。その病的蛋白質のうち、機能が明らかとなっているタウ蛋白質について、異常を起こすメカニズムが明らかになりつつある。高齢化社会を前に、疾患診断への道が少しずつ見えてきた。

大半の神経細胞は終末分化した細胞で分裂再生を行わず、しかも細胞体に比してきわめて長い突起を延ばして多数のシナプスを形成する。これが加齢に伴って増加する様々な細胞毒性ストレスに対峙した際の、いわば弱点となっている。直径がせいぜい $20\ \mu\text{m}$ 程度の神経細胞が、 $10\ \text{cm}$ もの長さに及ぶ軸索を延ばして信号を伝えており、仮に神経細胞が我々人間の体くらの大きさだとすると、軸索の長さは $5\ \text{km}$ にもなる。

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease ; AD) やパーキンソン病など、老化に伴う神経変性疾患の特徴は、病的な蛋白質で構成される線維が脳内に蓄積することに

ある⁽¹⁾。その病的蛋白質の中でも特に蓄積の頻度が高い、 β アミロイド ($A\beta$)、タウ蛋白質、 α シヌクレインの3種のうち、タウ蛋白質は現時点で機能が明らかになっている唯一の蛋白質である。その機能とは、大雑把に言えば軸索における細胞骨格の安定化であり、タウ蛋白質の異常は直接的に軸索の変性につながり得る。

本稿では、タウ蛋白質の異常がなぜ起こるのか、なぜ神経が変性をきたすのか、さらに、タウ蛋白質の異常を解明することが神経変性疾患の診断や治療にどの程度役立つのか検討したい。

異常なタウ蛋白質線維の蓄積と神経変性

先述の「病的蛋白質で構成される線維」は β シートと呼ばれる二次構造をとることが多いため、この β シートに結合する薬剤を用いて神経変性疾患の剖検脳スライスを染色すると、線維病変が蓄積している様子を明瞭に観察することができる。図 1-A はその一例で、AD 患者の脳スライスを BSB (*(trans,trans)*-1-bromo-2,5-bis-(3-hydroxycarbonyl-4-hydroxy)styrylbenzene) という薬剤で染色した画像である。老人斑と呼ばれる細胞外の沈着物と、神経原線維変化と呼ばれる細胞

Pathophysiological Roles of Tau Proteins and Their Significance as Targets for Diagnosis and Treatment of Tauopathies
Makoto HIGUCHI, 理化学研究所脳科学総合研究センター

図 1 ■ AD 脳における線維病変

A: AD 患者の海馬スライスを、線維病変検出薬剤である BSB と、核に結合する DAPI で染色した画像。老人斑を矢印で、NFT を矢頭で示す。B: A と同一スライスを、タウ蛋白質 (緑) と $A\beta$ (赤) に対する抗体で染色した画像。C: $A\beta$ に対する抗体を用いた免疫電子顕微鏡写真。D: タウ蛋白質に対する抗体を用いた免疫電子顕微鏡写真。タウ陽性の線維を矢印で示す。

図 2 ■ タウオパチーのモデルマウスで見られるタウ病変

A: ヒトの野生型 3R0N タウを過剰発現する Tg マウスのタウ病変。タウ抗体を用いて免疫染色を行なうと、脊髄にスフェロイドと呼ばれる円形の沈着物が認められる。B: A において矢印で示したスフェロイドの拡大図。タウ蛋白質が異常蓄積して軸索が膨張した病変であることがわかる。C: 同 Tg マウスが 18 カ月齢の時点で有した脳内 NFT 病変を、BSB と同系統の薬剤であるチオフラビン S で染めたもの。D: 神経細胞とグリア細胞に野生型タウを過剰発現する Tg マウスのタウ病変。アストロサイトのマーカーである GFAP (赤) 陽性の細胞から伸びる突起の末端部に、タウ蛋白質 (緑) が異常沈着している。E: ヒトのタウオパチー (CBD, 表 1) で見られるアストロサイトのタウ病変。D の病変と同じパターンで分布している。詳細は、p. 486 以降を参照のこと。

内部の沈着物が顕著に認められるのが特徴である。神経原線維変化は、細胞体から樹状突起にかけて線維が沈着する neurofibrillary tangle (NFT) などから構成されている。さらに、同じスライスを $A\beta$ とタウ蛋白質の抗体を用いて同時に染色すると、老人斑と神経原線維変化の主な構成要素は、それぞれ $A\beta$ とタウ蛋白質であることがわかる(図1-B)。免疫電子顕微鏡法を用いても、これらの病変部に $A\beta$ ないしはタウ蛋白質に対する抗体で標識された線維を観察できる(図1-C)。ADの場合、特にタウ蛋白質で構成される異常な線維は、2本の線維が一定周期のらせんを成して結合した paired helical filament (PHF) の形態をとることが多い。

$A\beta$ やタウ蛋白質の異常線維がAD患者脳で蓄積するという事実から考えれば、これらの蛋白質がADを引き起こす原因物質となっている可能性は高い。 $A\beta$ とタウ蛋白質のどちらがADの原因となるのか、今のところ結論は出ていないが、多くの研究者は、少なくとも発症の引き金となるのは $A\beta$ の蓄積であると考えている。この「アミロイド仮説」は、家族性ADの家系において、 $A\beta$ の前駆体であるアミロイド前駆体蛋白質(amyloid precursor protein; APP)などの遺伝子の突然変異によって、総 $A\beta$ もしくは異常線維を形成しやすいタイプの $A\beta$ (42アミノ酸残基からなる $A\beta 1\sim 42$) の生成量が増え、結果としてその異常線維が形成されやすくなることに根ざしている^(1,2)。一方、遺伝的要因が見いだされていない孤発性ADの発症メカニズムは未解明であるが、病理所見は家族性ADと比べても目立った違いがないので、 $A\beta$ の異常な蓄積が病理形成の出発点であると推察できる。

ADではタウ病変も必発であるので、 $A\beta$ の蓄積がタウ蛋白質の異常を誘発している可能性が高い。この仮説をAD患者脳で証明するのは難しい。しかし、モデル動物では、たとえばタウ蛋白質を過剰発現するトランスジェニック(Tg)マウスとAPPを過剰発現するTgマウスをかけ合わせると、脳内のタウ病変が顕著に強まることが知られており⁽³⁾、 $A\beta$ の蓄積→タウ蛋白質異常という因果関係が強く示唆されている。

$A\beta$ の蓄積がAD発症の原因であるにしても、タウ蛋白質の異常も同様に、重要な病的変化であることに変わりはない。それは、タウ蛋白質が神経細胞内で重要な機能を受けもっており、仮に二次的であるにせよ異常を起こすことによってその機能が損なわれれば、神経細胞変性へ即座に結びつき得るからである。事実、アルツハイマー患者脳では、老人斑よりもむしろ神経原線維の変化量のほうが神経細胞の変性や細胞死の程度と高い相関を

示すと報告されており⁽⁴⁾、これはタウ蛋白質の病的変化が神経変性に直接的に関わっている証拠である。

ここまでの事実を踏まえ、ADにおいて、 $A\beta$ の蓄積→タウ蛋白質異常→神経変性という図式が成り立つのなら、蓄積した $A\beta$ がどのような分子メカニズムを介してタウ蛋白質に異常をもたらすのかを明らかにする必要がある。この仕組みは現時点では十分に解明されていないものの、筆者を含む研究グループによる最近のデータに基づけば、少なくとも $A\beta$ がタウ蛋白質に直接作用して異常線維の形成を促すのではないと考えられる⁽⁵⁾。

神経細胞内のAPP代謝は、軸索に沿って前シナプスまで輸送され、その間にプロテアーゼの働きにより $A\beta$ が切り出され、シナプス間隙へ放出される経路が主体と考えられている。したがって、神経細胞の「弱点」の一つといえるシナプスが、異常に増加した $A\beta$ の攻撃目標となる可能性は高い。変性がシナプスから軸索へ波及すれば、軸索の細胞骨格や輸送機能にもダメージが加わり、これがタウ蛋白質の異常に結びつく可能性がある。すなわち、ADにおける神経変性の図式として、 $A\beta$ の蓄積→シナプス変性→軸索変性→タウ蛋白質異常→神経細胞全体の変性、という流れが改めて推定される。ま

表1 ■ タウオパチーに含まれる疾患

タウ病変とアミロイド病変が混在する疾患
アルツハイマー病 (AD)
クロイツフェルト・ヤコブ病
拳闘家痴呆
ダウン症候群
Gerstmann-Sträussler-Scheinker 病 (GSS)
封入体筋炎
プリオン蛋白質脳アミロイド血管症
明らかなアミロイド病変を伴わない疾患
筋萎縮性側索硬化症-パーキンソン症候群-痴呆症複合疾患 (ALS/PDC)
嗜銀顆粒痴呆
皮質基底核変性症 (CBD)
石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病
第17番染色体に連鎖するパーキンソン症候群を伴った前頭側頭型痴呆 (FTDP-17)
Hallevorden-Spatz 病*
多系統萎縮症
Niemann-Pick 病, タイプC
ピック病
進行性皮質下グリオーシス
進行性核上性麻痺 (PSP)
亜急性硬化性全脳炎
神経原線維変化優位なアルツハイマー病

*これらの疾患ではタウ蛋白質よりも α シヌクレインが主要な病変を形成する。

AD: Alzheimer's disease, ALS/PDC: amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex, CBD: corticobasal degeneration, FTDP-17: frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17, PSP: progressive supranuclear palsy

図 3 ■正常ならびに疾患脳におけるタウ蛋白質のアイソフォーム構成

A：正常の成人において発現する 6 種のアイソフォーム。これらのタウ蛋白質は可溶性で、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) により 6 本のバンドとして検出される。R1~4 は繰り返し配列を示す。B：疾患脳から抽出した不溶性タウ蛋白質の SDS-PAGE 像。不溶性タウ蛋白質は高度にリン酸化されており、ホスファターゼで脱リン酸化することで、どのアイソフォームが含まれるか同定できる。不溶性分画に全アイソフォームが含まれる疾患と、3R もしくは 4R のみが含まれる疾患がある。

た、蓄積した Aβ が直接シナプスや軸索にダメージを与えるのではなく、たとえばそれらの構成要素を分解するプロテアーゼを活性化させ変性をもたらし可能性もある。すると、プロテアーゼは Aβ の蓄積に関与するのみならず、Aβ 異常とタウ蛋白質異常の橋渡しを行なっていることになる。筆者らはこの観点に基づいて、Aβ 蓄積に伴って活性異常をきたすプロテアーゼの解析を進めている。

異常なタウ線維の蓄積は、AD に限った病理所見ではない。表 1 に示すように、タウ線維の細胞内沈着が様々な神経変性疾患における主要な病理変化として見いだされ、これらの疾患を“タウオパチー”と総称している。AD と比較すると、他のタウオパチーの頻度ははるかに低いが、重要なことはこれらのタウオパチーの多くで Aβ の蓄積なしに病的タウ線維の蓄積が起こるという事実である。これは第一に、Aβ 病変で誘発される以外にも、タウの異常沈着が生じる分子メカニズムが存在することを、そして第二に、多数の疾患でタウの異常と神経

変性が密接に結びついていることを示している。タウオパチーの中でも、特に家族性の前頭側頭型痴呆症 (FTDP-17、表 1) は、第 17 染色体上に存在するタウ遺伝子の突然変異によってもたらされる疾患で、タウ蛋白質の異常のみで神経の変性が起こることを示す決定的な証拠とされている⁽⁶⁾。

タウ蛋白質を介した軸索骨格の安定性制御

タウ遺伝子の突然変異がタウ蛋白質の性質をどのように変化させるのかを解明すれば、FTDP-17 以外のタウオパチーでタウの異常が起こる仕組みについても推測可能であろう。しかし性質の変化を調べるためには、まず正常なタウ蛋白質の基本的性質について知っておく必要がある。

1. タウ蛋白質の基本的性質

ヒトの中枢神経系には、6 種類のタウ蛋白質アイソフ

フォームが発現している。これらは図3-Aに示すように、単一の遺伝子にコードされており、N末端側のエクソン2, 3 (E2, 3) およびC末端側のエクソン10 (E10) がスプライシングで組み込まれるか否かによって、6つのパターンが生み出されている⁽⁷⁾。E9~12は、互いにきわめて似通った18アミノ酸残基配列(「繰り返し配列」と称される)を含んでおり、E10を有するアイソフォーム(4R)ではこの配列が4回繰り返され、E10を有しないアイソフォーム(3R)では3回繰り返される。タウ蛋白質はこのE9~12の部位で軸索の微小管に結合し、チューブリンが重合して微小管を形成するのを促進し、安定化させる働きがある⁽⁸⁾。微小管は軸索の基本骨格を形成するので、タウ蛋白質の微小管への結合は軸索の安定化に大きな影響をもたらす。4Rアイソフォームは3Rよりも結合部位が多いので、微小管への結合能がより高いことは容易に推測できる⁽⁹⁾。

なぜ6種類ものアイソフォームが存在するのかに関しては十分に解明されていないが、アイソフォームの存在比が軸索の安定性を細かく調整していると考えられる。たとえばヒトの胎児では、最短のアイソフォームである3R0Nしか発現しておらず⁽⁹⁾、微小管への結合能が相対的に低いと軸索は構造変化が容易な状態となる。中枢神経系の発達が終わるのに伴って3R0N以外のアイソフォームが出現し、軸索はより安定で改変されにくいものとなる。

2. タウ蛋白質のリン酸化

タウ蛋白質のもう一つの大きな特徴は、セリン残基やスレオニン残基を多数含有し、これらがリン酸化されていることである⁽¹⁰⁾。セリン、スレオニン残基は微小管結合部位周辺に多く、タウ蛋白質はリン酸化によって微小管への結合能やチューブリンを重合させる能力が大幅に低下する⁽¹¹⁾。特に、胎児では高度にリン酸化されていると考えられているが⁽¹²⁾、これは3R0Nしか存在しないことと相俟って、軸索の骨格の柔軟性を保つのに貢献していると言える。

リン酸化に関して特筆すべきは、ADやその他のタウオパチーで一貫して、タウ蛋白質がきわめて高度にリン酸化されているということである⁽¹³⁾。剖検脳の生化学的解析を行なうと、正常なタウ蛋白質は可溶性であるのに対して、疾患脳では不溶性タウ蛋白質が蓄積し(図3-B)、この不溶性画分が高度にリン酸化されていることがわかる。タウ蛋白質は異常な線維を形成することで不溶性になるので、その線維を作るタウ蛋白質が特にリン酸化されていると言える。しかし、今のところこのリン

酸化がタウオパチーの原因となっていることを示す直接的な証拠は得られておらず、蓄積した不溶性タウ蛋白質が二次的にリン酸化されている可能性も否定できない。

また、*in vitro*の実験ではタウ蛋白質をリン酸化しても線維形成は促進されず⁽¹⁴⁾、むしろ線維ができにくくなるという報告もある⁽¹⁵⁾。

神経細胞の突起としては、軸索の他に樹状突起が存在するが、これらの安定性や特性を別々に制御するためにはタウ蛋白質のような役割をもつ別の分子が樹状突起に局在していることが望ましい。実際に神経細胞では、微小管に結合する類似の蛋白質が存在し、これらをまとめて微小管関連蛋白質(microtubule-associated proteins; MAPs)と呼んでいる。MAPの中でもMAP2は、細胞体から樹状突起にかけて局在するため、軸索に局在するタウ蛋白質が果たすのと同様の役割を樹状突起で担っていると考えられる⁽¹⁶⁾。タウオパチーでは異常タウ線維の沈着が細胞体や樹状突起に生じるので、タウ蛋白質を軸索に局在させる仕組みが障害を受けている可能性がある。

3. タウ蛋白質の局在メカニズム

タウ mRNA は、主に細胞体に近い軸索において翻訳されるので、まずはこの部位でタウ蛋白質が集積することになる⁽¹⁷⁾。次いで軸索に沿って輸送されるが、この際に微小管に結合して微小管ごと輸送されるパターンと、微小管以外の輸送蛋白質に結合して輸送されるパターンの2通りが存在すると推測されている⁽¹⁸⁾。また、MAP2は樹状突起上と比べ軸索上で速やかに分解されるが、タウ蛋白質は樹状突起上でより速やかに分解されるという報告もある^(19,20)。以上のことから、タウオパチーでタウ蛋白質の局在が変化する仕組みとしては、①タウ蛋白質の微小管ないしはその他輸送蛋白質への結合能が低下し、軸索に沿って輸送されにくくなる、②タウ蛋白質の軸索での分解が速まる、③タウ蛋白質の細胞体・樹状突起での分解が遅くなる、という変化が考えられる。タウ蛋白質が高度にリン酸化されると微小管へ結合しにくくなるため、少なくとも①は実際に起こっている。また、リン酸化を受けたタウ蛋白質はプロテアーゼによる分解を受けにくくなるという報告もあり⁽²¹⁾、リン酸化が③にも関わっている可能性がある。②に関しては、後述する変異型タウ蛋白質で若干示唆されている程度である。

タウ蛋白質の特性と機能について最終的に知りたいのは、神経細胞の構造や機能を維持する上でどの程度本質的なのか、タウ蛋白質が存在しない状態では細胞に著し

い影響が生じるのか、ということである。タウ mRNA に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを培養神経細胞に入れてやると、細胞は軸索様の突起を作ることができなくなる⁽²²⁾。一方、タウ遺伝子をノックアウトしたマウスは表現型上大きな異常がない⁽²³⁾ことから、生まれたときからタウ蛋白質がない場合は、他の MAP などその機能が代償されると考えられる。したがって、タウ蛋白質単独というよりも、むしろ MAP に属する蛋白質全体が神経細胞において本質的な機能を担っているとと言える。

タウ遺伝子突然変異が及ぼす影響

1. 神経細胞の構造・機能の変化

先に述べたように、FTDP-17 という家族性のタウオパチーでは、タウ遺伝子上に突然変異が見いだされる。現在までに 20 種前後もの突然変異が知られているが(図 4)、その大半は微小管結合部位である E9~12 や、E10 と 11 の間にあるイントロン上に存在している。このことから推測できる通り、突然変異によってタウ蛋白質の微小管への結合能が低下したり、3R または 4R アイソフォーム存在比が変化したりする場合が多い⁽²⁴⁾。それ以外にも、自己凝集性を高め、異常線維の形成を容易にするタイプの突然変異も存在する⁽²⁵⁾。ここで重要なのは、これらの変化が直接的に神経変性疾患の原因となり得るということである。アイソフォームの存在比に関して言えば、この比を変化させる突然変異のほとんど

は、3R に比べ 4R を増加させるタイプのものである。4R アイソフォームが相対的に増えた場合、タウ蛋白質はむしろ微小管に結合しやすくなると推察される。そうであるならば、微小管に過剰に結合しても軸索の機能に悪影響を及ぼし得る。事実、過剰な結合によって、キネシンというキャリア蛋白質を介した軸索輸送が妨げられることが示されている⁽²⁶⁾。

タウ蛋白質は突然変異によって、プロテアーゼによる分解に対する耐性が変化する可能性がある。*in vitro* で分解し得るプロテアーゼとしては、システインプロテアーゼであるカルパインやカスパーゼが知られているが^(27,28)、突然変異の幾つかはカルパインによる分解を受けにくくするという報告がある⁽²⁹⁾。しかし別の突然変異では、むしろ分解されやすくなるという結果が示されている⁽³⁰⁾。AD では、神経細胞でカルパインの活性が高まることが示されているが⁽³¹⁾、この活性化がタウ蛋白質の生成部位や軸索で起こるのであれば、正常に機能するタウ蛋白質が減少し、軸索の変性に結びつくと考えられる。もし細胞体や樹状突起で活性化するのであれば、局在が変化し蓄積しつつあるタウ蛋白質は分解されるためタウ病変を抑える方向に働くことになる。ただしこの場合、細胞体や樹状突起にある MAP2 などの他の蛋白質が分解されるので、神経の変性は加速されるかもしれない。タウ蛋白質異常とプロテアーゼ活性化の直接的な関わりを明らかにするためには、モデル動物を用いた実験などを行ない、より多くの証拠を集めることが必要である。

図 4 ■ FTDP-17 の原因となるタウ遺伝子突然変異

●はタウ蛋白質の微小管への結合能が低下したり、重合能が減少したりする変異、▲はタウ蛋白質の自己凝集性が高まる変異であることを示す。[3]、[4]は、3R もしくは 4R アイソフォームを増加させる変異であることを示す。E10 はエクソン 10 を、I9、I10 はそれぞれ E10 の上流、下流のイントロンを表わす。E10 から I10 にかけて軸つきループ構造が存在し、変異によりこの構造が変化するとスプライシング効率も変わると考えられている。

FTDP-17 は、タウ蛋白質のいかなる異常が神経変性をもたらすのかを解明する上できわめて重要な疾患である。しかし、タウオパチーの大多数を占める孤発性疾患において、FTDP-17 と同様のタウ蛋白質異常が生じているのかどうかは未だ十分に明らかになっていない。また幾つかの疾患では、可溶性タウ蛋白質のアイソフォーム比は正常と変わらないものの不溶性タウ蛋白質についてはもっぱら 4R で構成されていたり、ほとんど 3R のみで構成されていたりする⁽³²⁾。なぜ 4R もしくは 3R のみが不溶化するのか、そのメカニズムは未解明である。

2. グリア細胞の骨格変性

アストロサイト、オリゴデンドロサイトといったグリア細胞にも、線維状のタウ蛋白質が蓄積し、しかも神経細胞と同様に細胞骨格が乱れて変性をきたすことが知られている⁽³³⁾。しかし、タウオパチーの中でも AD では、異常タウ蛋白質の蓄積はもっぱら神経細胞において認められ、グリア細胞においては顕著ではない。これは、やはり AD のタウ病変が、神経細胞における A β の異常を引き金として起こることに関係していると思われる。

タウオパチーモデル動物を用いた神経変性メカニズムの解明

マウスのような実験動物で、ヒトのタウオパチーに見られるようなタウ蛋白質の異常とタウ線維の蓄積が再現できれば、これが神経変性とどのように結びつくのか因果関係を知ることができる。また、こうしたモデル動物で電気生理学的な変化や軸索輸送の変化などを解析することで、タウ病変が神経細胞の機能にどのような影響を及ぼすのか観察できる。さらに、タウ蛋白質の異常を抑える治療手段が開発された際に、生体内における治療効果を評価することが可能である。

マウスにおいてタウ病変を起こす最も手っ取り早い方法は、ヒトのタウ遺伝子を多重コピー数組み込んだ Tg マウスを作製することである。突然変異を含まない野生型タウ遺伝子を組み込んで過剰発現させれば、孤発性タウオパチーでタウ蛋白質が蓄積する様子を再現できる。

そこで、ヒトの野生型 4R 2N タウ cDNA を組み込んだ Tg マウスを作製したところ、初期段階の実験では、タウ蛋白質が高濃度で細胞体に蓄積したが、異常線維を形成するには至らなかった⁽³⁴⁾。この理由としては、タウ蛋白質の発現レベルが十分でなく蓄積量が足りなかったことが考えられ、さらに高いレベルで発現する Tg マウスを作る試みがなされた。その結果、異常なタウ線維が脊髄や脳幹部の軸索内に沈着するマウスが作り

出された⁽³⁵⁾。ここで観察された軸索内沈着はスフェロイドと呼ばれ、ALS/PDC (表 1) などのタウオパチーで実際に見いだされる病理変化である (図 2-A, B, p.481 参照)。このマウスでは、脊髄の神経細胞軸索において微小管の減少が観察され、さらに軸索輸送の速度低下も認められたことより、タウ蛋白質の蓄積のみで軸索の構造と機能が異常をきたすことが証明されたと言える。

しかしここで考慮しなければならないのは、スフェロイド病理による神経変性のメカニズムは、ある意味特殊であるということである。スフェロイドが形成される際には、タウ蛋白質のみならず微小管やニューロフィラメントなど他の細胞骨格成分も巻き込まれるので、これらがスフェロイドに吸い取られる形で不足して、軸索の構造と機能に病的変化がもたらされる。また、スフェロイドのサイズが大きくなれば、軸索をいわば閉塞することになり物質輸送は著しく妨げられる。このような軸索変性は、神経原線維変化の形成に伴う神経変性とはメカニズムが異なると推測される。

今のところ、野生型タウ蛋白質を発現する Tg マウスを用いて神経原線維変化と神経変性の関係を調べるのは非常に難しい。多くの Tg マウスでは、年齢が 2~3 歳に至っても神経原線維変化は形成されない。一部の Tg マウスでは、15 カ月齢くらいから神経原線維変化を認めることがあるが頻度は少ない⁽³⁶⁾ (図 2-C)。野生型タウ蛋白質の場合、過剰発現により神経細胞内に蓄積しても、マウスの 2, 3 年の寿命の範囲内ではなかなか神経原線維変化をきたさないと考えられる。

以上のような事情から、現時点では変異型タウ蛋白質を過剰発現する Tg マウスを作製し、神経原線維変化によって神経が変性をきたす過程を観察するやり方が主流になっている。このマウスは FTDP-17 のモデルマウスになるので、同疾患の病理形成メカニズムを解析する上でも重要である。最初に報告された変異型タウ Tg マウスでは、病理は主として脊髄に認められ、NFT は形成されるがそれに先立ってスフェロイド様病理に伴う軸索の変性が起こるため、神経変性との結びつきを明らかにするのが難しかった⁽³⁷⁾。しかし、このマウスを APP Tg マウスとかけ合わせると、前述のようにタウ病変が増強され、海馬や嗅内野などヒトのタウオパチーと同様の部位で、スフェロイドを伴わず NFT 病変が認められた⁽³⁾。これは、AD の病理形成過程を知る上で重要な所見であるが、このマウスでは NFT 形成が神経細胞の構造と機能に与える影響について未だ詳細な解析がなされていない。その後報告された変異型タウ Tg マウスで

は、発現プロモーターの選択などが奏功し、大脳皮質や海馬でも神経原線維変化が見いだされている。特に、日本の研究グループが作製した Tg マウスにおいては、微小管構造の崩壊・電気生理学的な変化・行動異常など、神経原線維変化が神経細胞の構造や機能に障害をもたらすことが証明されてきている^(38,39)。

これまで NFT 病変出現が報告された変異型タウ Tg マウスは、タウ蛋白質の微小管への結合能を低下させたり、自己凝集性を増加させたりすることが *in vitro* で示されてきた突然変異を用いたものである。突然変異によって微小管に結合しにくくなれば、タウ蛋白質は細胞体に蓄積することになり、自己凝集の機会は増加する。

これらの Tg マウスで起こっている現象は、タウ蛋白質が細胞体内で自己凝集し、その際細胞体への毒性を発揮する、といった病的変化である。ヒトのタウオパチーでは、これに加えて軸索におけるタウ蛋白質の機能喪失が生じるが、Tg マウスの場合、内因性タウ蛋白質が正常に機能し続ける限りはこのような変化は起こらない。また、タウ蛋白質が細胞体に蓄積し凝集する際に、モノマーやオリゴマーのタウ蛋白質が細胞毒性をもつのか、それとも長い線維を形成したタウ蛋白質が毒性を発揮するのか、今のところ定かではない。ただし、細胞体内にタウ蛋白質が蓄積しても NFT 形成には至らないような Tg マウスでは神経変性も見られないことから、少なくともモノマーのものが毒性を発揮する可能性は高くないと考えられる。FTDP-17 ではこの他に、タウ蛋白質アイソフォームの存在比が変化するタイプの突然変異が存在するが、それをきっちりと再現したモデルマウスはまだ報告されていない。

先述のように、AD 以外のタウオパチーにおいては、神経細胞のみならずグリア細胞にも異常なタウ蛋白質が蓄積する。筆者らは、神経細胞とグリア細胞の両方に発現をもたらすプロモーターを用いてタウ Tg マウスを作製した。このマウスでは、グリア細胞においてタウオパチーに特徴的な線維状タウ蛋白質の蓄積が生じ（図 2-D, E）、加齢に伴うグリア細胞の減少も観察され、さらには運動機能異常も認められた⁽⁴⁰⁾。神経原線維変化は出現せず、神経変性も軽度であることから、運動機能異常はグリア細胞の変性によって起こると推察される。このことは、タウオパチーにおいてグリア細胞のタウ病変が中枢神経系の機能低下に強く関与していることを示している。

タウ蛋白質のリン酸化が病理形成に果たす役割については、マウスモデルでにおいても未だ結論が出ていない。タウ蛋白質のリン酸化酵素としては、GSK3 β (glycogen

synthase kinase 3 β) や CDK5 (cyclin-dependent kinase 5) などのキナーゼが知られている。GSK3 β の Tg マウスや CDK5 を活性化する蛋白質である p 25 の Tg マウスをタウ Tg マウスとかけ合わせ、タウ病変が強まるかどうかを調べた研究では、強まるという報告があれば、不変もしくは弱まるという報告もあり、残念ながら今のところ一定の見解が得られていない^(41,42)。

タウオパチーの診断法・治療法の開発のために

タウオパチーでは中枢神経系の細胞内にタウ蛋白質が蓄積するが、これが細胞外に容易に分泌されるとは考えにくい。しかし、細胞が変性して主要構造が脱落した状態では、細胞間質や脳脊髄液中に運ばれる可能性がある。このような理論をもとに、AD をはじめとするタウオパチー患者で脳脊髄液中のタウ蛋白質量を ELISA 法で測定し、同年齢正常人に比べ蛋白質量が顕著に増加していることが確かめられた⁽⁴³⁾。このタウ蛋白質定量は、AD の診断において現時点では満足のいく感度、特異性、再現性を有する唯一の生物学的診断法である。しかし、たとえば脳梗塞急性期などで一度に多数の神経細胞が変性をきたすと、そこから脱落したタウ蛋白質が脳脊髄液中に移動し、蛋白質量が増加する。こうした現象は、タウオパチーの診断特異性を下げる原因となり得る。そこで、タウオパチーで蓄積するタウ蛋白質が高度にリン酸化されていることを利用して、脳脊髄液中のリン酸化タウ蛋白質を定量する試みがなされ、タウオパチー診断の特異性がさらに高まることが示されている⁽⁴⁴⁾。

脳脊髄液中のタウ蛋白質は、AD の早期もしくは前段階より増加がみられ、その後は増加したままほぼ一定のレベルを保ち、さらなる増減はない⁽⁴⁴⁾。これは、脳脊髄液中のタウ蛋白質量が脳内タウ蛋白質の総蓄積量を反映するのでなく、その時点で変性しつつある神経細胞の量を反映するためと推測される。山火事の煙の量が、焼失面積を表わすのではなく現在燃えている木の数を反映するのと同様の理屈である。このような理論が正しいかどうかは、タウ Tg マウスのようなモデル動物で検証を重ねれば明らかになるはずである。

しかし大きな問題として、脳のどの部位にどの程度タウ病変が存在するかを調べられないことがある。山火事のたとえで言えば、煙は見えるがどの場所がどれだけ焼けたのかわからないということになる。そこで近年、 β シート構造を認識する放射性トレーサーと、ポジトロン CT などの脳画像撮影装置を用いて、脳内の病的線維蓄

積を画像化する診断法が開発されてきている。本稿の始めの方で紹介した BSB という薬剤も、ラジオアイソトープで標識すればこうしたトレーサーとして利用可能であるが⁽⁴⁵⁾、最近はさらに優れた特性をもつ薬剤が合成されている⁽⁴⁶⁾。興味深いのは、このようなトレーサーの中で、老人斑よりも神経原線維変化への結合能が高い薬剤が見いだされてきていることである。これらはタウオパチーの画像診断薬となる可能性が高い。タウオパチーモデルマウスを利用すれば、薬剤が *in vivo* で脳内のタウ病変に集積するのかどうかを評価することができるので、トレーサー開発が容易になると考えられる。

AD の治療について詳細は省くが、タウ病変よりも $A\beta$ 病変を標的とした方法が数多く開発されてきている⁽⁴⁷⁾。しかし、これらの治療法が最終的にタウ病変を減少させられなければ、神経変性をくい止めることは難しい。タウ病変や神経変性に対する治療効果を正しく評価するためには、やはり AD のモデルマウスが有用になる。理想的には、 $A\beta$ 病変が引き金となってタウ病変が出現し神経変性をきたすマウスが作製され、AD の治療評価に使用されることである。AD 以外のタウオパチーに関しては、際立った治療法の開発はまだ進んでいないが、この場合はタウ Tg マウスなどを用いて評価可能と推測される。大事なことは、もしタウ蛋白質の異常を直接的にくい止められる方法が確立されれば、AD も含めたタウオパチー全般に対する治療法になり得るということである。

治療的アプローチで最も試みやすいのは、タウ蛋白質のリン酸化を制御することである。リン酸化がタウ病変の形成にどの程度本質的なのか議論の余地があるかは、これまで何度か述べてきた通りであるが、リン酸化酵素である GSK3 β や CDK5 の特異的阻害剤を開発し、タウオパチーのモデルマウスに投与して病理変化への影響を調べる価値は十分にある⁽⁴⁸⁾。ただし注意すべきは、GSK3 β や CDK5 の基質はタウ蛋白質の他にも多数存在し、これらの酵素の活性を阻害すると細胞の基本的な機能にも影響を及ぼしかねないということである。治療の副作用を少なくするためには、たとえばタウ蛋白質とこれらの酵素の結合を選択的に阻害する薬剤を開発するなど、タウ蛋白質のリン酸化阻害に標的を絞り込む工夫が必要になる。

*

これまで行なわれてきた *in vitro* の解析や、タウオパチーモデルマウスの研究成果に基づけば、タウ病変形成は $A\beta$ の異常蓄積が引き金となって起こったり、タウ

蛋白質の微小管への結合能低下・微小管重合能低下・自己凝集性増加・アイソフォーム存在比の変化が原因となって起こったりすると考えられる。これによって軸索で正常に機能するタウ蛋白質が減少すると同時に、細胞体や樹状突起で自己凝集したタウ蛋白質が細胞毒性を発揮し、機能喪失と毒性増加という二重の障害を受ける形で、神経細胞は変性に陥る。したがって、タウ病変を防ぐ治療法を開発するためには、タウ蛋白質が正常な機能を維持するのに必要な分子メカニズムと、凝集した異常なタウ蛋白質が細胞を変性に至らしめる分子メカニズムの両方を明らかにすることが今後ますます重要になる。

文献

- 1) M. Higuchi, J.Q. Trojanowski & V.M.-Y. Lee : *Int. Congr. Ser.*, **1260**, 69 (2004).
- 2) J. Hardy & D.J. Selkoe : *Science*, **297**, 353 (2002).
- 3) J. Lewis, D.W. Dickson, W.L. Lin *et al.* : *Science*, **293**, 1487 (2001).
- 4) A.C. McKee, K.S. Kosik & N.W. Kowall : *Ann. Neurol.*, **30**, 156 (1991).
- 5) B.I. Giasson, M.S. Forman, M. Higuchi *et al.* : *Science*, **300**, 636 (2003).
- 6) M. Higuchi, V.M.-Y. Lee & J.Q. Trojanowski : *Neuro-molec. Med.*, **2**, 131 (2002).
- 7) M. Goedert, C.M. Wischik, R.A. Crowther *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 4051 (1988).
- 8) M. Goedert & R. Jakes : *EMBO J.*, **9**, 4225 (1990).
- 9) M. Goedert, M.G. Spillantini, R. Jakes *et al.* : *Neuron*, **3**, 519 (1989).
- 10) T. Hagestedt, B. Lichtenberg, H. Wille *et al.* : *J. Cell Biol.*, **109**, 1643 (1989).
- 11) G.T. Bramblett, M. Goedert, R. Jakes *et al.* : *Neuron*, **10**, 1089 (1993).
- 12) K.S. Kosik, L.D. Orecchio, S. Bakalis & R.L. Neve : *Neuron*, **2**, 1389 (1989).
- 13) V.M.-Y. Lee, B.J. Balin, L. Otvos Jr. & J.Q. Trojanowski : *Science*, **251**, 675 (1991).
- 14) M. Goedert, R. Jakes, M.G. Spillantini *et al.* : *Nature*, **383**, 550 (1996).
- 15) A. Schneider, J. Biernat, M. Von Bergen *et al.* : *Biochemistry*, **38**, 3549 (1999).
- 16) J.Q. Trojanowski, T. Schuck, M.L. Schmidt & V.M.-Y. Lee : *J. Neurosci. Methods*, **29**, 171 (1989).
- 17) P. Litman, J. Barg, L. Rindzooni & I. Ginzburg : *Neuron*, **10**, 627 (1993).
- 18) M. Mercken, I. Fisher, K.S. Kosik & R.A. Nixon : *J. Neurosci.*, **15**, 8259 (1995).
- 19) S. Okabe & N. Hirokawa : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 4127 (1989).
- 20) N. Hirokawa, T. Funakoshi, R. Sato-Harada & Y. Kanai : *J. Cell Biol.*, **132**, 667 (1996).
- 21) J.M. Litersky & G.V. Johnson : *J. Neurochem.*, **65**, 903 (1995).
- 22) A. Caceres & K.S. Kosik : *Nature*, **343**, 461 (1990).
- 23) A. Harada, K. Oguchi, S. Okabe *et al.* : *Nature*, **369**, 488 (1994).
- 24) M. Hong, V. Zhukareva, V. Vogelsberg-Ragaglia *et al.* : *Science*, **282**, 1914 (1998).
- 25) M. Goedert, R. Jakes & R.A. Crowther : *FEBS Lett.*, **450**,

- 306 (1999).
- 26) E. Ebner, R. Godemann, K. Stamer *et al.* : *J. Cell Biol.*, **143**, 777 (1998).
 - 27) G.V. Johnson, R.S. Jope & L.I. Binder : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **163**, 1505 (1989).
 - 28) T.C. Gamblin, F. Chen, F. Zambrano *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 10032 (2003).
 - 29) S. Yen, C. Easson, P. Nacharaju *et al.* : *FEBS Lett.*, **461**, 91 (1999).
 - 30) M. Hutton : personal communication.
 - 31) S. Taniguchi, Y. Fujita, S. Hayashi *et al.* : *FEBS Lett.*, **489**, 46 (2001).
 - 32) M.S. Forman, V.M.-Y. Lee & J.Q. Trojanowski : *J. Chem. Neuroanat.*, **20**, 225 (2000).
 - 33) D.W. Dickson, M.B. Feany, S.H. Yen *et al.* : *J. Neural Transm.*, **S47**, 31 (1996).
 - 34) J. Götz, A. Probst, M.G. Spillantini *et al.* : *EMBO J.*, **14**, 1304 (1995).
 - 35) T. Ishihara, M. Hong, B. Zhang *et al.* : *Neuron*, **24**, 751 (1999).
 - 36) T. Ishihara, B. Zhang, M. Higuchi *et al.* : *Am.J. Pathol.*, **158**, 555 (2001).
 - 37) J. Lewis, E. McGowan, J. Rockwood *et al.* : *Nature Genet.*, **25**, 402 (2000).
 - 38) K. Tanemura, M. Murayama, T. Akagi *et al.* : *J. Neurosci.*, **22**, 133 (2002).
 - 39) Y. Tatebayashi, T. Miyasaka, D.H. Chui *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 13896 (2002).
 - 40) M. Higuchi, T. Ishihara, B. Zhang *et al.* : *Neuron*, **35**, 433 (2002).
 - 41) K. Spittaels, C. Van den Haute, J. Van Dorpe *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **275**, 41340 (2000).
 - 42) W. Noble, V. Olm, K. Tanaka *et al.* : *Neuron*, **38**, 555 (2003).
 - 43) H. Arai, M. Terajima, M. Miura *et al.* : *Ann. Neurol.*, **38**, 649 (1995).
 - 44) N. Itoh, H. Arai, K. Urakami *et al.* : *Ann. Neurol.*, **50**, 150 (2001).
 - 45) D.M. Skovronsky, B. Zhang, M.P. Kung *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 7609 (2000).
 - 46) N. Okamura, T. Suemoto, H. Shimadzu *et al.* : *J. Neurosci.*, **24**, 2535 (2004).
 - 47) J.Q. Trojanowski : *Neurobiol. Aging*, **23**, 985 (2002).
 - 48) H.M. Roder : *J. Mol. Neurosci.*, **20**, 195 (2003).

プロフィール

樋口 真人 (Makoto Higuchi) 昭和43年4月14日生<略歴>平成5年東北大学医学部卒業/9年同大学大学院医学研究科博士課程修了/同年同大学医学部老年内科医員/11年同助手/同年米国ペンシルバニア大学医学部研究員/15年理化学研究所脳科学総合研究センター研究員, 現在にいたる<研究テーマと抱負>アルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患の分子機構の解明および診断・治療法の開発<趣味>サイクリング

福井 清 (Kiyoshi Fukui) 昭和29年1月12日生<略歴>1979年京都大学医学部医学科卒業, ワシントン大学医学部客員研究員/1984年京都大学大学院医学研究科修了, 国立循環器センター研究所生化学部研究員/1987年同研究所生化学部室長/1995年徳島大学酵素科学研究センター教授/1997年同大学分子酵素学研究センター教授, 現在にいたる<研究テーマと抱負>神経系D-アミノ酸バイオシステムの分子酵素学, 細胞死制御に関する細胞内情報伝達制御機構<趣味>硬式テニス

福井 充 (Mitsuru Fukui) 昭和53年3月23日生<略歴>平成12年静岡大学農学部人間環境科学科卒業/15年同大学大学院農学研究科人間環境科学専攻修士課程修了, 現在, 岐阜大学大学院連合農学研究科在学中<研究テーマと抱負>土壌細菌の合成有機物分解能獲得機構の解明<趣味>邦楽

堀 一之 (Kazuyuki Hori) Vol. 41, No. 12, p. 841 参照

松下 一信 (Kazunobu Matsushita) 昭和24年3月15日生<略歴>1976年名古屋大学大学院農学研究科博士課程修了/同年山口大学農学部農芸化学科助手/1990年同助教授/1995年同大学農学部生物機能科学科教授, 現在にいたる<研究テーマと抱負>微生物のエネルギー生成系の解析とその利用<趣味>ピッチング, 古代史

八木澤 仁 (Hitoshi Yagisawa) 昭和28年9月18日生<略歴>1982年東京大学大学院理学研究科博士課程修了/1986年自治医科大学講師/1991年兵庫

県立大学(旧 姫路工業大学)大学院生命理学研究科助教授, 現在にいたる. この間, 1982~84年日本学術振興会奨励研究員, 84~86年日本学術振興会海外特別研究員(英国ノッティンガム大学)<研究テーマと抱負>イノシトールリン脂質とコレステロールに注目し, 脂質タンパク質間相互作用の分子基盤の解明を目指している<趣味>映画, 演劇

横田 明穂 (Akiho Yokota) 昭和23年6月25日生<略歴>1977年大阪府立大学大学院農学研究科博士課程単位取得退学/1978年同大学農学部助手/1993年同講師/同年同助教授, (財)地球環境産業技術研究機構主席研究員/1996年奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科教授, 現在にいたる. この間, 1983年~84年カナダ・クイーンズ大学生物学教室留学. 1978年農博<研究テーマと抱負> RuBisCOの反応基礎機構解明と機能改良および野生スイカの環境応答機構, 奈良先端大学・近畿大学・RITEから最近立ち上げた植物ベンチャー「(株)植物ハイテック研究所」の成功を目指している<趣味>音楽鑑賞