

# 脳内アミロイドおよびタウ蛋白の拡散抑制による認知症治療法の開発

大阪公立大学大学院医学研究科脳神経内科学

特任講師 長谷川 樹

(共同研究者)

大阪公立大学大学院医学研究科脳神経内科学	教授	伊藤 義彰
大阪公立大学大学院医学研究科脳神経内科学	講師	武田 景敏
大阪公立大学大学院医学研究科脳神経内科学	講師	三野 俊和
大阪公立大学大学院医学研究科脳神経内科学	病院講師	岡本 光佑
大阪公立大学大学院医学研究科脳神経内科学	医員	田中 眞梨江
大阪公立大学大学院医学研究科脳神経内科学	研究員	平良 庸子
大阪公立大学大学院医学研究科脳神経内科学	研究員	皆谷 忍

## はじめに

日本における認知症患者は高齢化に伴って増加の一途を辿っており、2025年には700万人を超えると予測されている。アルツハイマー型認知症は、認知症患者の過半数を占めているが、発症には脳内のアミロイド $\beta$ およびタウ蛋白が関わっている。近年、アルツハイマー型認知症の治療薬として注目されているアデュカヌマブや、臨床試験で有意な治療効果が確認されたレカネマブは、すでに蓄積したアミロイド $\beta$ を除去することで認知機能の低下を抑制する。タウ蛋白を標的とした治療薬の開発も進められているが、確立されていないのが現状である。一方で、そもそもアミロイド $\beta$ やタウ蛋白といった異常蛋白が脳内でどのように蓄積・伝播・排出されているかについては未だ不明な点が多い。これまでの研究から、血管周囲の間隙（血管周囲腔）がアミロイドの排出に関わっていることが示唆されており、血管周囲腔における異常蛋白の伝播を阻害あるいは排出を促進することが出来れば、認知症の発症予防および進展抑制に繋がることが期待できる。

当研究室はこれまで、マウスでの頭窓法を用いたin vivoライブイメージング研究を行い、二光子顕微鏡を用いたグリンパティック系の動態解明に取り組んできた。2017年には、多光子顕微鏡にて血管周囲腔にあるグリンパティック系の画像化に成功し、学会にて成果を報告した（平良ら、脳循環代謝学会2017）。加えて、マウスでの頭窓法を用いたin vivoライブイメージング研究を行い、二光子顕微鏡によるグリンパティック系の動態解明に取り組んだ。2022年には脳血管周囲腔におけるアミロイドオリゴマー・ポリマーの輸送形態について報告した<sup>(1)</sup>。同研究では、アミロイドベータ蛋白の重合を制御し、in vivoでの挙動がオリゴマーとポリマーで異なることを示した。本研究は、脳表に滴下したアミロイドベータが血管周囲の間隙を介して脳実質に移行することをin vivo画像にて初めて報告した。また、

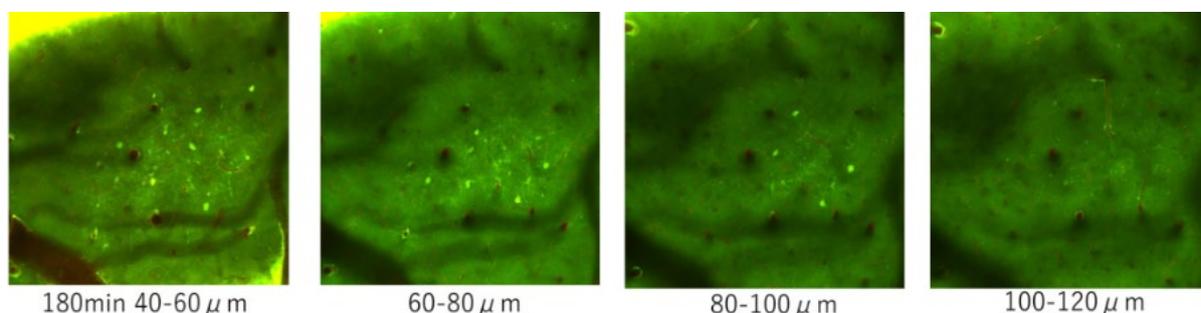
グリッパティック系の輸送において分子量に依存して挙動が変化することを報告した<sup>(2)</sup>。

本研究では、アミロイド $\beta$ およびタウ蛋白といった脳内異常蛋白の蓄積、伝播および排出における血管系の果たす役割について二光子顕微鏡を用いた動物モデルにて評価する。アルツハイマー病やパーキンソン病などの認知症疾患、神経変性疾患の原因となるアミロイド $\beta$ やタウ蛋白の蓄積・伝播・排出メカニズムの解明は、異常蛋白の蓄積阻害や排出を促進する新たな治療法の開発につながると期待されることから、本研究の社会的意義は非常に大きいと考える。

## 結 果

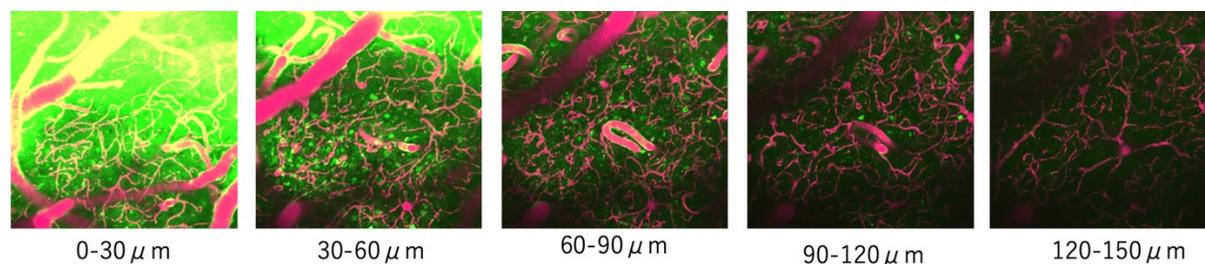
異常蛋白の伝播は、すでに内在している蛋白質の異常化が連鎖することで促進される可能性が示唆されていることから、タウ蓄積モデルマウスと非蓄積マウスとの比較を行うことで評価する計画とした。タウ蓄積モデルマウスでは月齢に伴って内在タウ蛋白量が増大する。すでに当研究室で保有している上記マウスを用い、内在タウ蛋白量と伝播速度の関連について、蛍光標識化されたタウを用いてin vivo観測を行った。血管およびアストロサイトを可視化するSR101試薬を用いることで、異常蛋白の注入部位周辺のグリア細胞と異常蛋白の挙動との関連についても検討した。マウス脳内における異常蛋白のin vivoによる動態観察は、当研究室で保有しているニコン社製多光子顕微鏡、Coherent社製パルスレーザー装置を用い、解析はニコン社製NIS-Elementソフトウェアにて行なった。

$\alpha$ シヌクレインの脳表滴下後の挙動を観察するため、BL6マウス(8~14週齢、n=22)を用いて条件検討を行った。二光子顕微鏡で可視化するため、Hylite-488で蛍光ラベルした $\alpha$ シヌクレインを用い、溶解直後に凍結保存し使用した。撮像時SR101試薬を腹腔内投与し、同時にグリア細胞、血管走行を評価した。開始後10例ほどは滴下数時間以内での死亡が見られたため、滴下条件、二光子顕微鏡での撮像条件、照射条件などを調整し、その後安定した撮像が可能となった。連続的に経時変化を評価すると、滴下後90~180分ほどでミクログリアにおいて $\alpha$ シヌクレインの蓄積が確認された(下図)。



現在タウ蓄積モデルマウス (rTg4510 マウス、30 ~ 90 週例、n=7) にて脳表滴下実験を開始しており、やはりミクログリアへの $\alpha$ シヌクレインの蓄積を認めた。(下図)

現在順次画像解析を進めている。



## 考 察

現在継続中のタウの脳表滴下実験では、従前検討していたアミロイドの脳表滴下実験と異なり血管周囲腔での貯留は限定的であるものの、時間経過後にミクログリアの貪食されている状況が観察された。今回の実験に用いたタウ溶液は溶解直後に保存した検体であり、monomer ~ low-n oligomer程度であれば速やかに拡散、脳内で貪食された結果、ミクログリア内で集合したタウを描出できるようになったと考えられた。今後は拡散の状況をより短時間、高解像で画像化を試み、更に長期的にはタウモデルマウスにおいて滴下タウが凝集を促進させるか否かを検証すべく実験系を構築することを検討している。

## 要 約

二光子顕微鏡を用いて、蛍光ラベルしたタウの挙動をin vivoで画像化し得た。その特徴はこれまで検討していたアミロイド $\beta$ の挙動と異なる可能性があり、より詳細な検討が必要である。

## 文 献

1. Itsuki Hasegawa, Yoko Hirayoshi, Shinobu Minatani, Toshikazu Mino, Akitoshi Takeda and Yoshiaki Itoh, In Vivo Dynamic Movement of Polymerized Amyloid  $\beta$  in the Perivascular Space of the Cerebral Cortex in Mice, 23 (12) , 6422, 2022
2. Marie Tanaka, Yoko Hirayoshi, Shinobu Minatani, Istuki Hasegawa, Yoshiaki Itoh, Diffusion Mediates Molecular Transport through the Perivascular Space in the Brain, 25 (5) , 2480, 2024