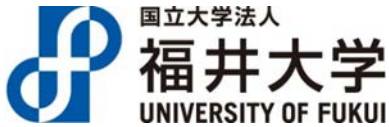


令和 2 年 3 月 24 日



国立大学法人 福井大学  
TEL:0776-27-9733 (広報室)

## アルツハイマー病の原因物質を抑える阻害薬を発見

### 本研究成果のポイント：

- ◆アルツハイマー病を起こす脳内のタウたんぱくの異常を「ROCK 阻害薬」が抑制することを動物実験などで明らかにした
- ◆ROCK 阻害薬は緑内障、くも膜下出血後の治療で既に使われており、今回の成果を基にアルツハイマー病の予防・治療薬として実用化を目指し、臨床試験を計画している

超高齢社会の進行とともに認知症患者の増加は医学的のみならず社会的に重要な問題である。認知症の大半を占めるアルツハイマー病は、脳の神経細胞の働きに必須であるタウたんぱく（図2参照）が異常にリン酸化<sup>(注1)</sup>することによりかたまり「オリゴマー」を作り、さらに長くつなるとタウ線維「神経原線維変化<sup>(注2)</sup>」が形成され、神経細胞死がおこることが主な原因である。

我々はこれまでに、高脂血症の治療薬、ピタバスタチンがタウたんぱくのリン酸化を抑えることを証明し、さらにピタバスタチンの効果は細胞内のスイッチ役のたんぱく質（Rho<sup>(注3)</sup>）の働きに作用することと関係することを突き止めている（2012年）。今回、Rhoに直接作用するROCK阻害薬の効果につき実験したところ、本剤の投与によって、タウたんぱくのリン酸化が低下し、オリゴマーが減少することを培養神経系細胞で確認した。さらには、アルツハイマー病のモデルマウスの実験でもオリゴマーが減少し、細胞内でタウたんぱくを分解するオートファジーが活性化することを明らかにした。また、使用したROCK阻害薬に動物などへの毒性は認められなかった。

以上の結果から、ROCK阻害薬がアルツハイマー病の治療薬、進行予防薬として有望であることが示唆され、今後は創薬を含めた実用化に向けて、臨床試験を計画している。

## 〈研究の背景と経緯〉

超高齢社会の進行とともに認知症、特にアルツハイマー病の患者数の増加は医学的のみならず、社会的にも重大な課題となっている。アルツハイマー病の脳内には、主要な原因である「老人斑」と「神経原線維変化」というゴミが多数みとめられる。このうち老人斑はアミロイドβたんぱくより構成され、一方、神経原線維変化は高度にリン酸化し、重合したタウたんぱくから構成される。神経原線維変化が形成されると神経細胞死が生ずるため、アミロイドβたんぱくに比べ、よりアルツハイマー病の病態に直結しているものと考えられる（図1）。

タウたんぱくは通常の脳内では神経細胞の軸索<sup>（注4）</sup>と呼ばれる突起内に存在する。おなじく軸索内にある微小管<sup>（注5）</sup>に結合し、神経細胞の構造を安定化させる重要な役割を担っている。さらに軸索内の栄養分の輸送にも大きな役割をはたしている（図2a）。しかし、ひとたびリン酸化するとタウは微小管に結合することができず、遊離した状態となる（図2b）。そしてこのフリーになったタウは各々が集まって重合体を作る。これがタウオリゴマーである。タウオリゴマーは特に神経細胞に対する毒性が強く、オリゴマーがさらに大きなかたまりを作るとタウ線維、すなわち神経原線維変化となる（図2c）。以上により、**タウたんぱくのリン酸化を抑えること**がアルツハイマー病の予防、治療に直結することは明らかである。

我々はタウたんぱくを発現する神経系細胞モデルを用い、多くの薬物の効果を検討してきた。これまでの検討結果より、高脂血症の治療薬であるピタバスタチンがタウたんぱくのリン酸化を抑えることを証明した。また、その効果はコレステロール代謝経路の下流に存在し、細胞の働きのスイッチとなっている Rho-ROCK 経路を抑えることを介するものであることを突き止めた（2012年）。しかし、スタチン系薬剤はコレステロール値が低い患者さんには投与しにくい、筋肉痛などの副作用が高頻度に起こる、という問題点があった。そこで我々は、Rho-ROCK 経路に直接作用する ROCK 阻害薬を用いた重点的な検討をおこない、本剤がタウたんぱくのリン酸化、およびオリゴマー形成を抑えるかどうかの検討を行った。

## 〈研究の内容〉

遺伝子発現を制御する方法（TetOff 誘導系）によりタウたんぱくを過剰に発現する神経系細胞モデルに対し、ROCK 阻害薬を投与しタウたんぱくのリン酸化、および重合におよぼす影響を検討した（図3）。その結果、

▽タウたんぱくのリン酸化の程度が著しく低下（図3a）

▽タウたんぱくのリン酸化酵素・GSK3βの活性が著しく低下（図3b,c）

▽毒性の強いタウオリゴマーが減少（図4ab）

が明らかになった。

また、アルツハイマー病マウスモデルを用いた動物実験でも、くも膜下出血後の治療に使われている ROCK 阻害薬（ファスジル）を投与したマウスでは、タウたんぱく全体量に占めるオリゴマータウの量が著しく減少していた（図4c）。

さらに、我々のこれまでの検討結果（2008年）から、タウたんぱくを分解することが明らかになっているオートファジー（図5）の活性が高まっていることが明らかとなった。また、細胞やマウスに対する毒性は認められなかった。

## 〈今後の展開〉

本研究では、ROCK 阻害薬がアルツハイマー病の主な原因の一つであるタウたんぱくのリン酸化、および重合を抑え、毒性の強いオリゴマー形成を食い止めることが証明された。さらに、オートファジーを活性化することによりタウたんぱくの分解を促進

することを証明した。

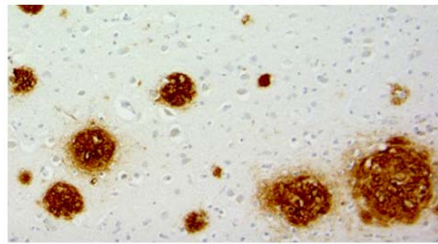
ROCK 阻害薬は既に緑内障やくも膜下出血後の治療薬として臨床応用されていることから、本研究成果がアルツハイマー病の発症進行予防薬として応用できる可能性が示唆された。今後は本剤を臨床試験に応用することを予定している。

〈参考図〉

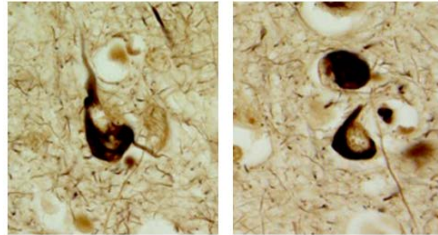
図 1 :

アルツハイマー病の病理所見

老人斑  
アミロイドβ蛋白  
(Aβ)



神経原線維変化  
タウ蛋白



↓  
神経細胞死

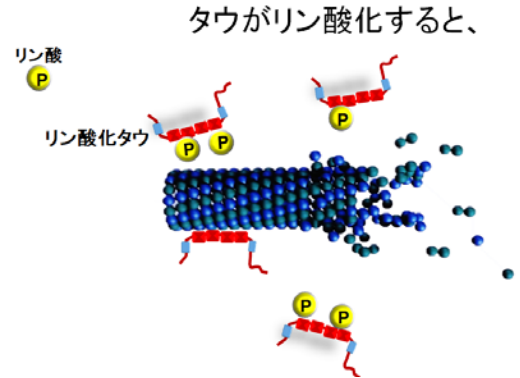
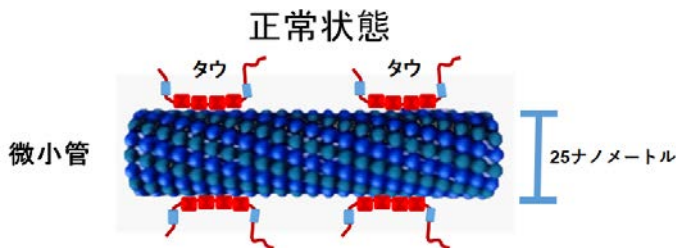
アルツハイマー病の特徴的な病理所見は老人斑と神経原線維変化である。老人斑はアミロイドβたんぱくより構成され、主に神経細胞の外にたまる。一方神経原線維変化は高度にリン酸化されたタウたんぱくより構成され、神経細胞内に蓄積し、神経細胞死と直結している。

図 2 : タウたんぱく

脳内では神経細胞の軸索という突起に存在する微小管という構造物に結合し、その機能を安定化させたり、軸索内の栄養の輸送に重要な役割を果たす (図 2 a)。しかしひとたびタウがリン酸化すると、タウの立体構造が変化することにより微小管に結合することができなくなり、微小管の機能が損なわれ、神経細胞が弱くなる (図 2 b)。さらに微小管から離れてフリーとなったタウ同士がかたまりを作る。最初にタウオリゴマーが形成され、最終的にタウ線維が形成される。これが神経原線維変化である (図 2 c)。

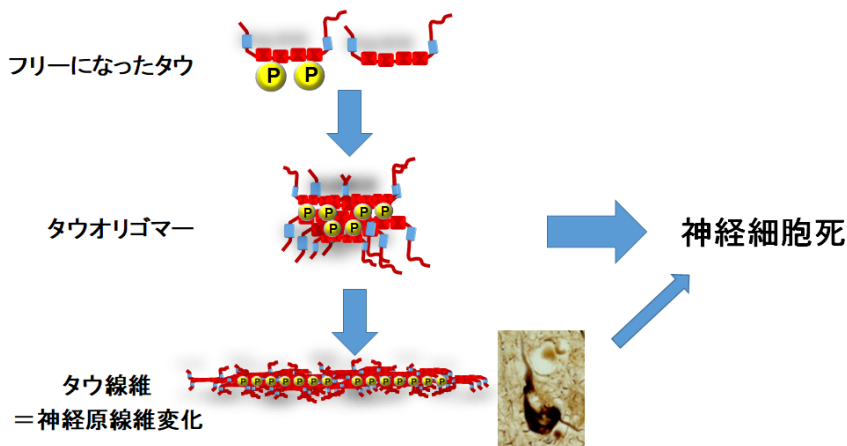
(図 2a)

(図 2b)



(図 2c)

微小管から離れたタウは各々がかたまりを作る！

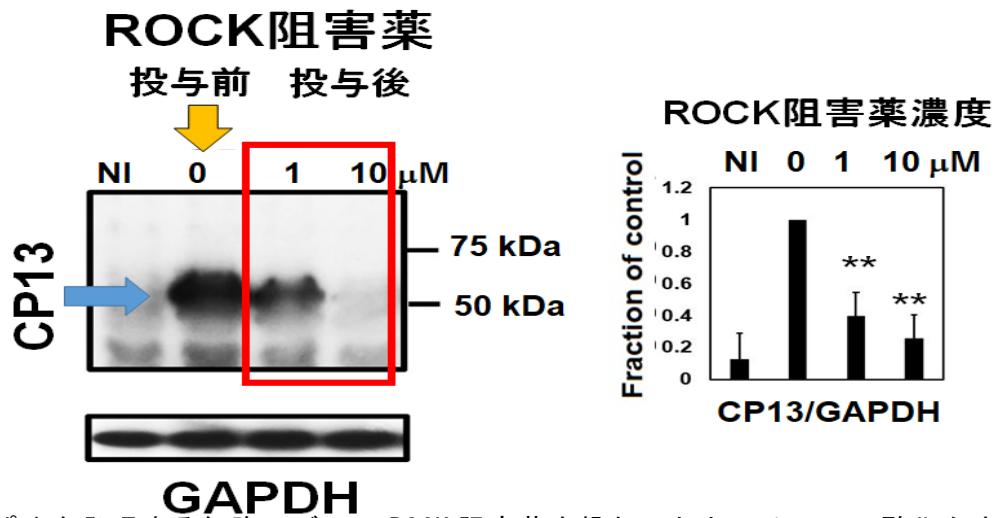


以上より、タウたんぱくのリン酸化を防ぐことがアルツハイマー病の（進行）予防につながるのである。

図 3 : ROCK 阻害薬により、リン酸化タウが減少、リン酸化酵素の活性が低下した

(図 3 a)

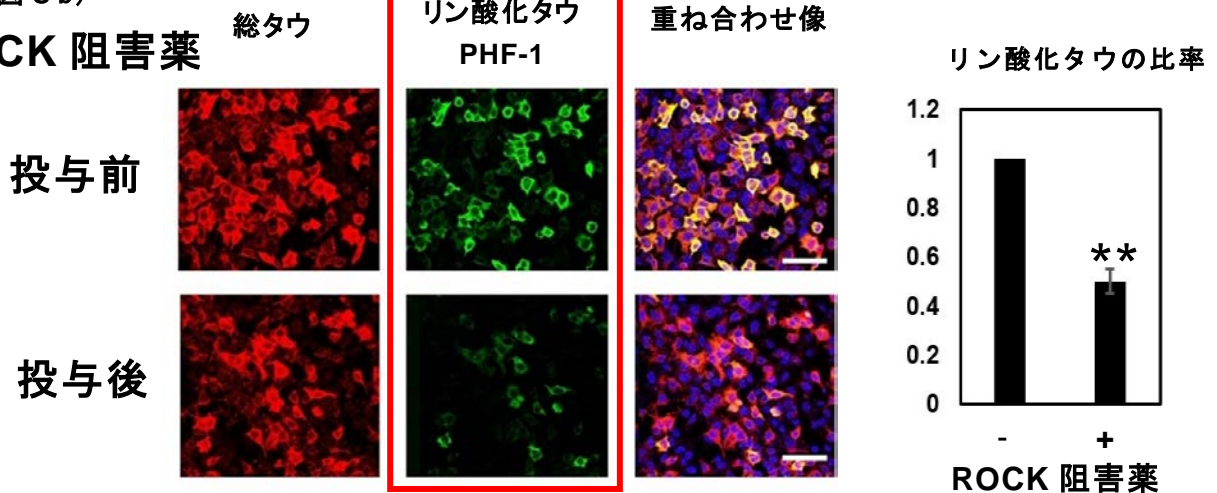
## リン酸化タウ



タウたんぱくを発現する細胞モデルに ROCK 阻害薬を投与したところ、リン酸化タウが著しく減少したことがウエスタンブロット法 (注6) により証明された。

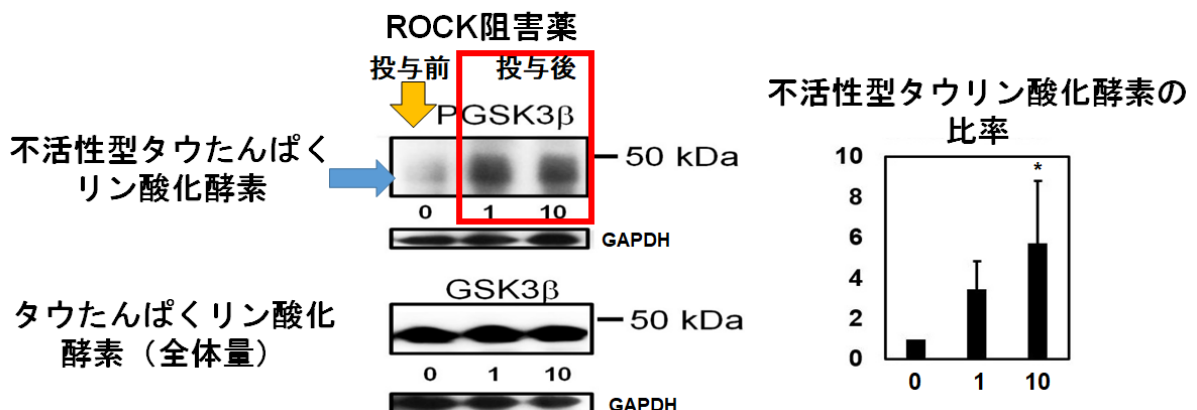
(図 3 b)

## ROCK 阻害薬



免疫組織学的検討でもリン酸化タウ (緑) が ROCK 阻害薬投与により減少したことが証明された。

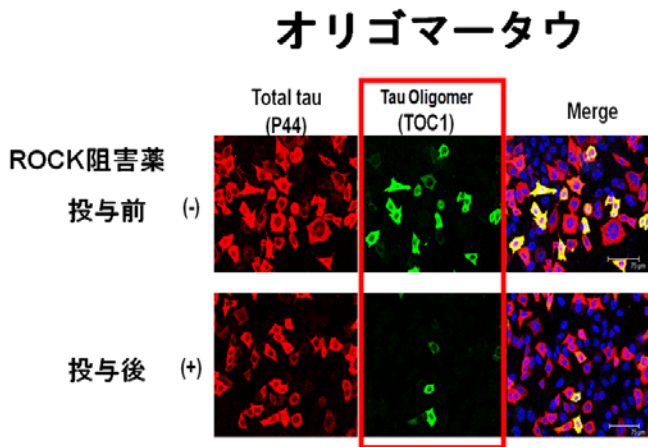
(図 3 c) ROCK 阻害薬によりタウたんぱくリン酸化酵素 (GSK3 $\beta$ ) の活性が低下した  
ROCK 阻害薬によりタウたんぱくリン酸化酵素 (GSK3 $\beta$ ) の活性が低下する



**図 4 : ROCK 阻害薬によりオリゴマータウが減少した**

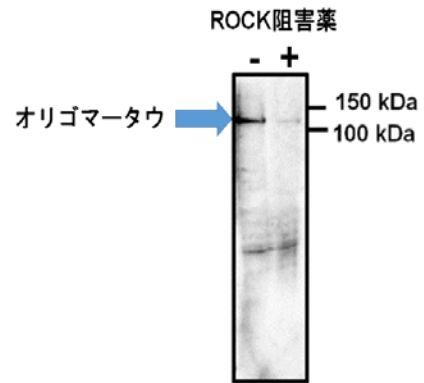
タウたんぱく全体量（赤色）には大きな変化はないが、オリゴマータウ（緑色）が ROCK 阻害薬を加えることで著しく減少した（図 4 a）。ウエスタンブロット法でも、ROCK 阻害薬により高分子量のオリゴマータウが減少した（図 4 b）。またアルツハイマー病マウスモデルでも ROCK 阻害薬を投与するとオリゴマータウが著しく減少した。特にオリゴマータウがタウたんぱく全体量に占める割合が低下した。

(図 4 a)



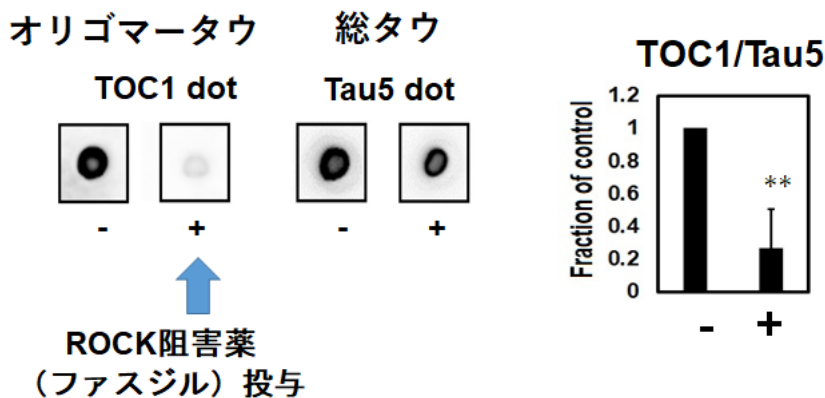
(図 4 b)

ROCK 阻害薬により高分子のオリゴマータウが減少する



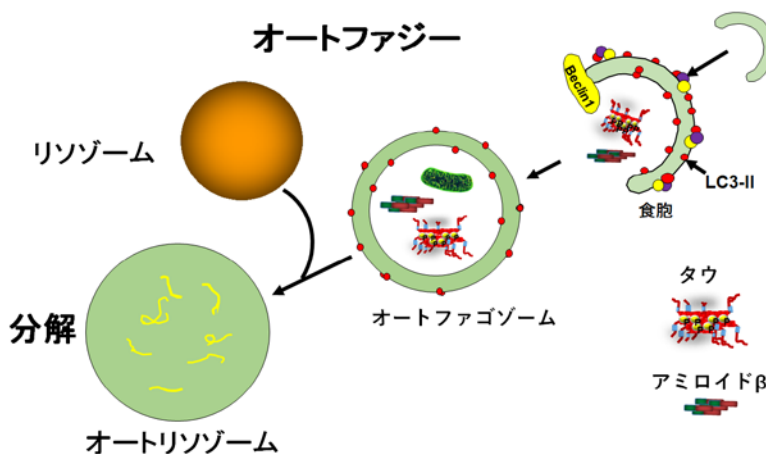
(図 4 c) ROCK 阻害薬（ファスジル）によりアルツハイマー病マウスモデルでのオリゴマータウが著しく減少した。

オリゴマータウがタウたんぱく全体量に占める割合



**図 5 : オートファジー**

オートファジーはアミノ酸飢餓状態やウイルス感染のようなストレス条件下で細胞内物質をリソソームにより分解する経路。生体内の不要物を分解する際にも重要な経路である。我々のグループはオートファジーによりタウが分解されることを発見した（2008年）。



## 〈用語解説〉

### （注1）リン酸化

たんぱく質などにリン酸基が付加される化学反応で、リン酸化によってさまざまなたんぱく質などで性質や機能が変化する。生命における重要な化学反応の一つ。

### （注2）神経原線維変化

神経細胞内にリン酸化したタウたんぱく質同士が結合して重合体を形成し、蓄積した塊をオリゴマーと呼ぶ。さらに重合体が蓄積して連なるとタウ線維となり、「神経原線維変化」と呼ばれる。オリゴマーや神経原線維変化が形成されると神経細胞死を起こす。

### （注3）Rho-ROCK、ROCK 阻害薬

Rho は、細胞の形の変化、細胞の運動性、増殖など様々な活動のスイッチ役をしている一群のたんぱく質で、ROCK(rho associated protein kinase)は Rho の下流に位置し、Rho の機能を実行するたんぱく質リン酸化酵素。Rho-ROCK の作用として血管などの筋肉収縮、神経突起の伸張、細胞のサイズ調整など多様な働きがある。ROCK は、ROCK1 と ROCK2 の 2 つのアイソフォームが存在し、ROCK2 は脳と脊髄に多く存在し加齢とともに増加する。喫煙でも増加することが知られている。ROCK 阻害薬は ROCK の機能を止める薬剤で、くも膜下出血、緑内障では症状改善薬として使われている。

### （注4）軸索

神経細胞の細胞体から伸びる神経線維であり、神経細胞が興奮して活性化するとき発生する電気パルスを送達する為の電線のように機能する。

### （注5）微小管

細胞中に存在する直径約 25 nm の管状の構造であり、主にチューブリンと呼ばれるタンパク質からなる。細胞骨格の一種。

### （注6）ウェスタンブロット法

電気泳動によって分離したタンパク質を膜に転写し、任意のタンパク質に対する抗体でそのタンパク質の存在を検出する生化学的研究手法。

## 〈論文タイトル〉

“Rho-kinase ROCK inhibitors reduce oligomeric tau protein”

(日本語タイトル:「Rho キナーゼ ROCK 阻害薬はタウたんぱくのオリゴマーを減少させる」)

## 〈著者〉

Tadanori Hamano, Norimichi Shirafuji, Shu-Hui Yen, Hiroataka Yoshida,  
Nicholas M. Kanaan, Kouji Hayashi, Masamichi Ikawa, Osamu Yamamura,  
Youshi Fujita, Masaru Kuriyama, Yasunari Nakamoto

濱野忠則 福井大学 医学部医学科 病態制御医学講座内科学(2)領域/認知症医学推進講座 准教授

白藤法道 福井大学 医学部医学科 病態制御医学講座内科学(2)領域/認知症医学推進講座 助教

Yen Shu-Hui Mayo Clinic Jacksonville 名誉教授

吉田裕孝 東京都健康長寿医療センター 客員研究員

Kanaan M Nicholas ミシガン州立大学 准教授

林 浩嗣 福井大学医学部医学科 病態制御医学講座 内科学(2)領域 客員教授

井川正道 福井大学医学部医学科 地域高度医療推進講座 講師

山村 修 福井大学医学部医学科 地域医療推進講座 講師

藤田祐之 藤田神経内科病院 院長

栗山 勝 大田記念病院 名誉院長

中本安成 福井大学医学部医学科 病態制御医学講座内科学(2)領域 教授

## 〈発表雑誌〉

「Neurobiology of Aging」(ニューロバイオロジー オブ エイジング)

(2019年12月16日 Web掲載)

アブストラクト URL : <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.12.009>

## 〈お問い合わせ先〉 (注) メールアドレスの※マークは半角@に置き換えてください。

(研究に関すること)

濱野 忠則 (はまの ただのり)

国立大学法人 福井大学 医学部 内科学(2)領域

〒910-1193 吉田郡永平寺町松岡下合月23号3番地

(報道担当)

国立大学法人 福井大学 広報センター

〒910-8507 福井市文京3丁目9番1号

TEL : 0776-27-9733 E-mail : sskoho-k ※ ad.u-fukui.ac.jp