

アルツハイマー病の進行期を反映するタウ蛋白翻訳後修飾の同定と バイオマーカー開発

大阪大学大学院医学系研究科 老年・総合内科学
中嶋 恒男

1. 諸言

超高齢化により認知症患者が急増しており、大きな社会問題となっている。認知症の中で最も頻度の高いアルツハイマー病は進行性の神経変性疾患であり、時間の経過とともに脳内病理が進展し認知機能障害が重症化する。現在、アルツハイマー病の診断バイオマーカーとして髄液中 $A\beta_{42}$ 濃度やリン酸化タウ濃度の測定が用いられており、脳内アルツハイマー病神経病理（老人斑： $A\beta$ 、神経原繊維変化：タウ）の存在を高い精度で予測することが可能になっている。しかしながら、これらは診断バイオマーカーとしては有用であるものの、認知機能障害の重症度や進行度（病期）とは相関しないことが知られており、病態の経時的フォローアップや治療効果の判定には適していない。今後アルツハイマー病に対する疾患修飾薬が実用化された場合、重症度や進行度を反映するバイオマーカーを用いた病態評価や、より詳細な患者の層別化が重要となることが予想される。

本研究では、アルツハイマー病の重症度や進行度（病期）を反映するバイオマーカーを開発することを目的とする。特に、神経細胞死と関連の深いアルツハイマー病タウ病理に着目し、生体液中タウの生化学的特徴の変化に着目したバイオマーカーの探索を行う。近年、髄液中のリン酸化タウに関して、複数のリン酸化エピトープをそれぞれ特異的に定量することが可能となり、従来診断バイオマーカーとして利用されてきた pT181 リン酸化タウとは異なる挙動や経時変化を示す、リン酸化タウが髄液中に存在することが明らかにされてきている。

申請者らのグループではこれまでに、アルツハイマー病タウ病理の進展過程に関与する特殊な病的タウ（伝播タウ）¹⁾の生化学的特徴や、病期の進行に伴うタウ翻訳後修飾の変化²⁾を明らかにしてきている。本研究では、病的タウの生化学的特徴や、翻訳後修飾の変化と認知症の重症度および進行度（病期）との関連を解析するため、単一のマウスから高品質の髄液を多量に回収するためのプラットフォームとして、覚醒自由行動下で髄液持続回収可能とするような新規の髄腔アクセスポートの確立を目的とした。

2.方法

従来のマウス髄液回収法はサンプル容量に限られるため（約 10 μ L/個体）、髄液中の複数のタウ分子種を測定し比較することが困難であった。この問題を解決するため、自由行動覚醒下のマウスから持続的に髄液を回収することが可能な手法を開発し、病態マウスモデルから大量の髄液を回収し、また経時的に回収を繰り返すことが可能な系を確立する。これを用いて、マウス髄液中タウ分子種の網羅的な解析を行うため、測定に必要な髄液量や回収条件（髄液回収速度や回収チューブ等）の最適化を行う。

3.結果

マウス大槽上の髄膜を切開し、細径チューブを独自の手法で固定して髄腔への持続アクセス可能なポート（Chronic dural port ; CDP）を作成した。CDP 法を用いて、覚醒自由行動下で多量のマウス髄液を 4 週間以上の長期にわたって安定的に採取可能であった（図 1）。回収された髄液の品質確認に血液混入および組成を評価した結果、血液混入は 0.001%未満であり、電解質組成やアルブミン、ApoE、タウ濃度は従来の単回収法で回収された髄液と比較して有意な差は認めなかった（図 2）。生理的な条件で髄液回収可能であることの確認に、自由行動下で持続髄液採取を行い、マウス活動量、脳組織を評価したところ、CDP 法はマウスの基本活動量や脳組織構築に影響を与えなかった（図 2）。

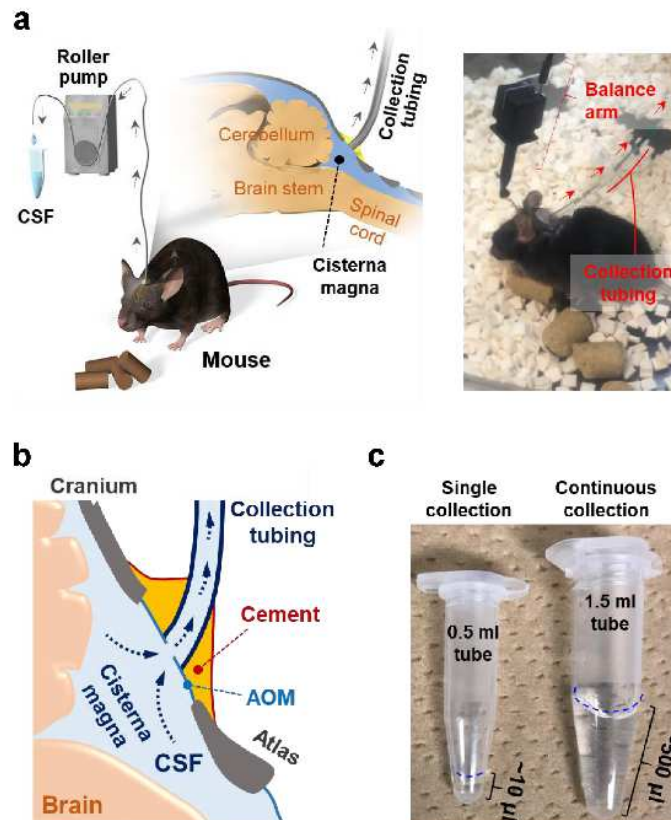


図 1 多量の髄液を持続回収

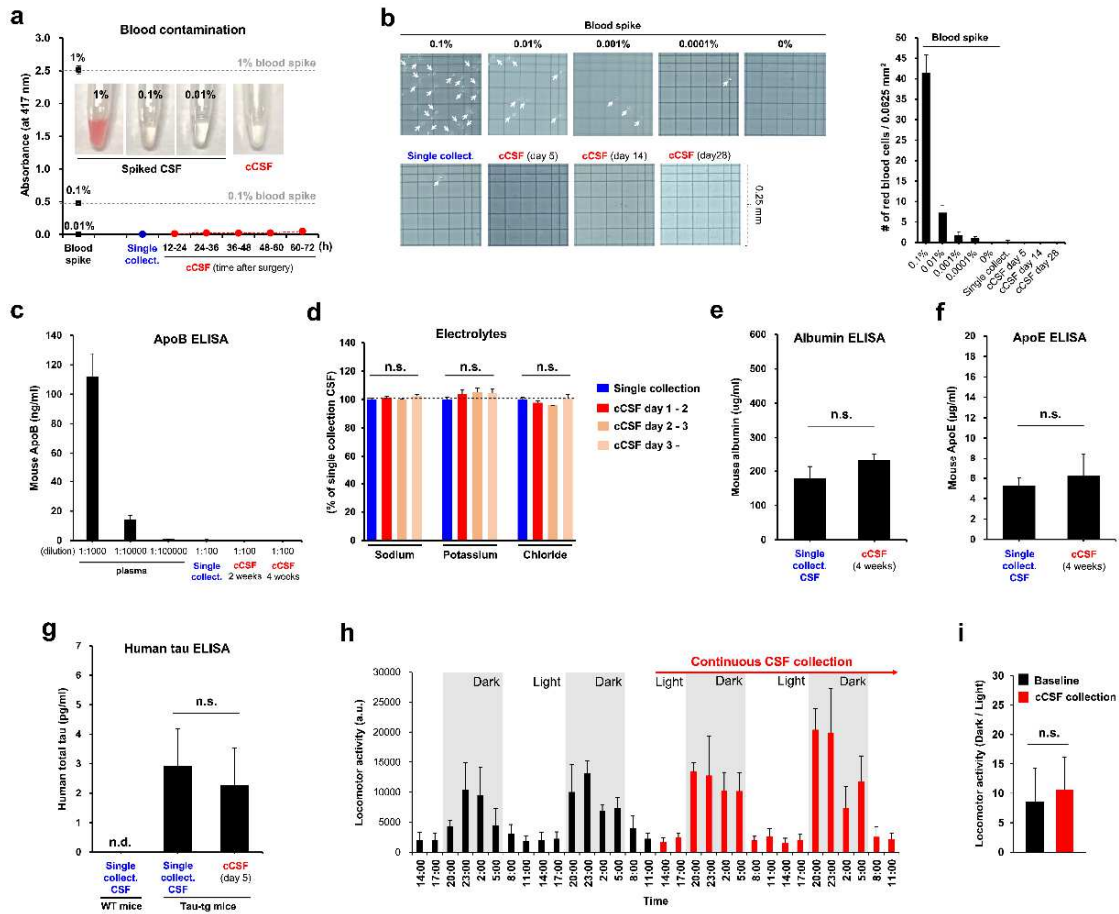


図2 持続回収髄液の品質評価

また、バイオセンサーにより持続回収髄液中の糖・乳酸値の動的変化を、持続回収髄液の1秒ごとの分解能で評価可能であった(図3)。さらに、髄腔投与におけるアクセスポイントの機能評価に、投与薬物の時空間分布および薬効を評価した。CDPから髄腔投与された薬剤は、各脳領域で異なる代謝動態を示した(図4)。髄腔投与された薬剤の中中枢神経系への薬効評価にマウス活動量を評価し、高時間分解能での中枢神経系へ薬効評価が可能であることを確認した(図5)。

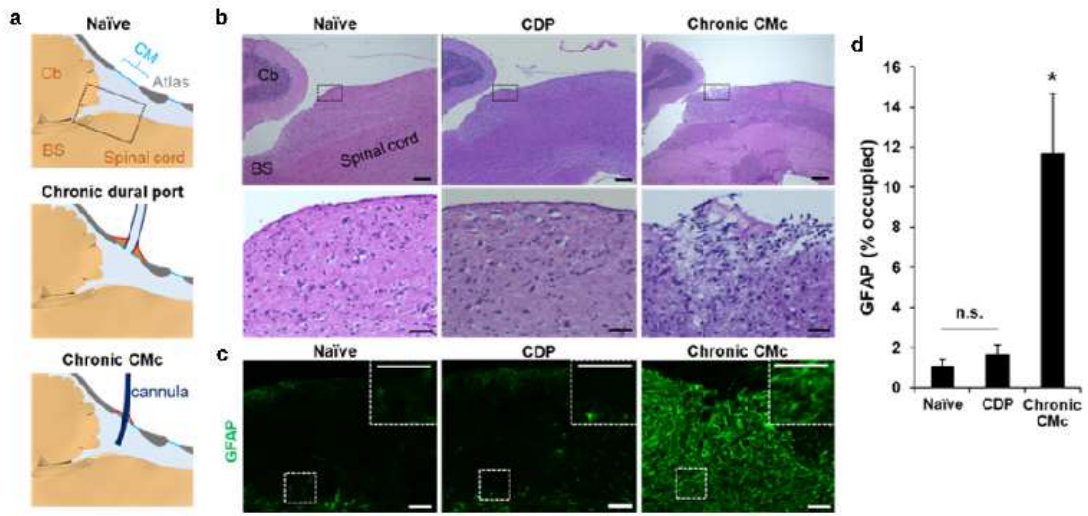


図3 脳損傷の評価

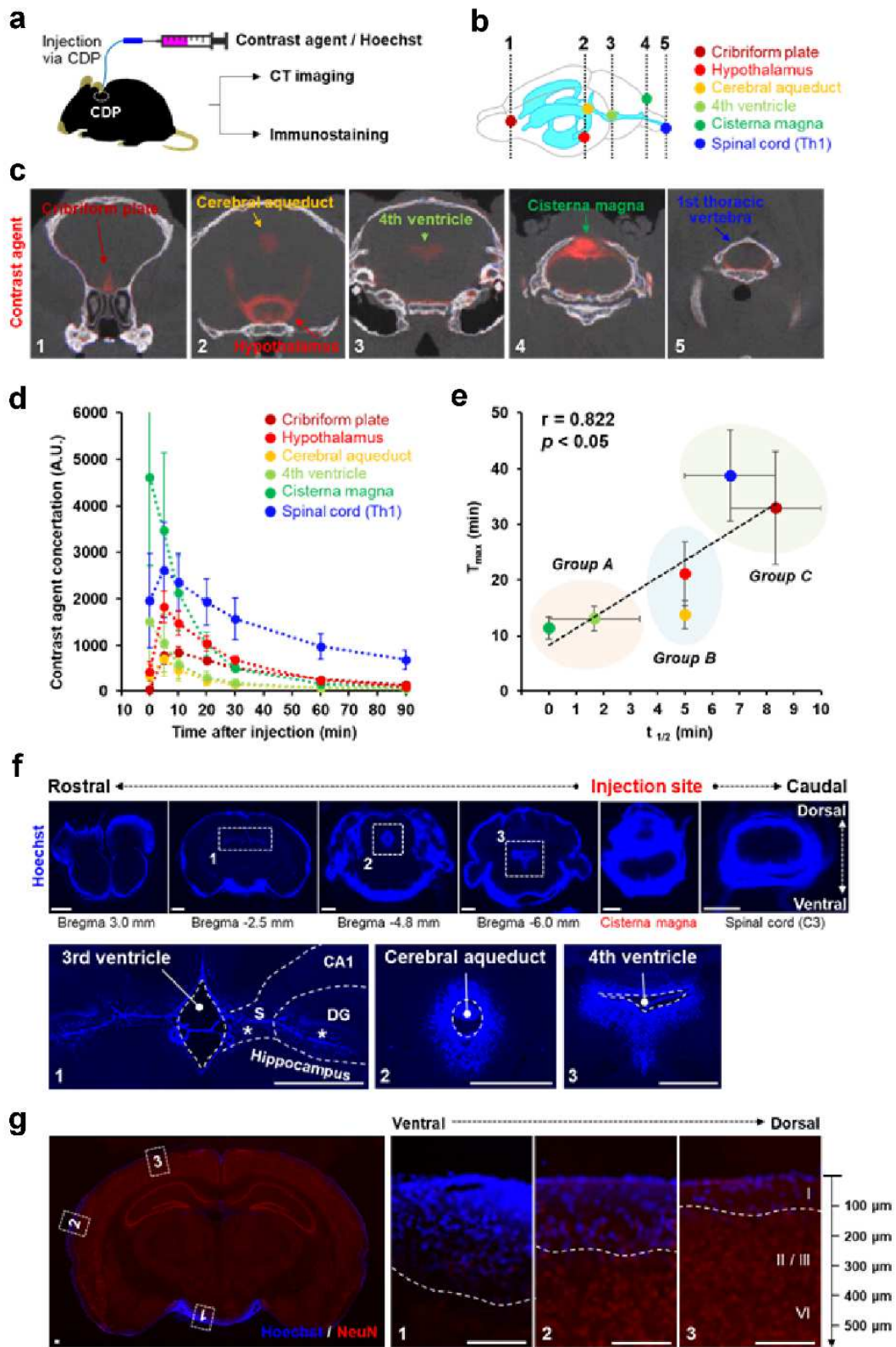


図4 髄腔投与薬剤の時空間分布

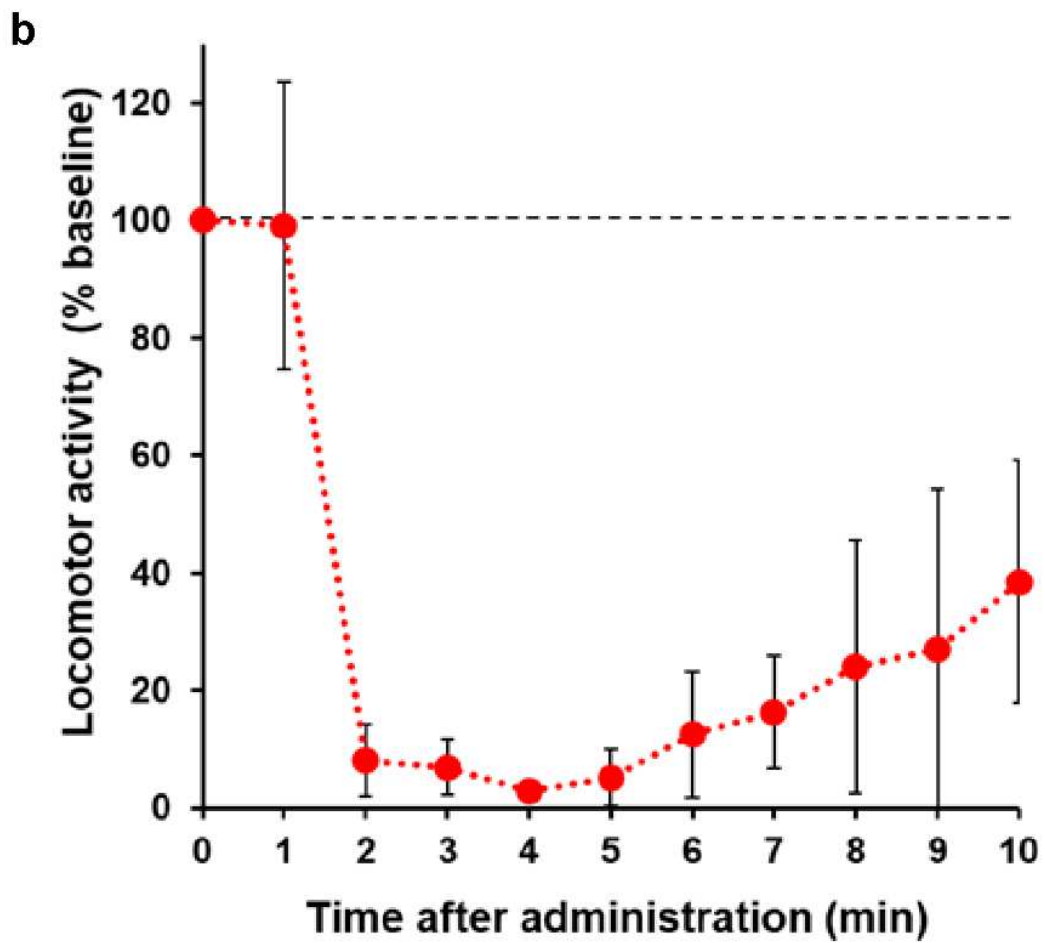
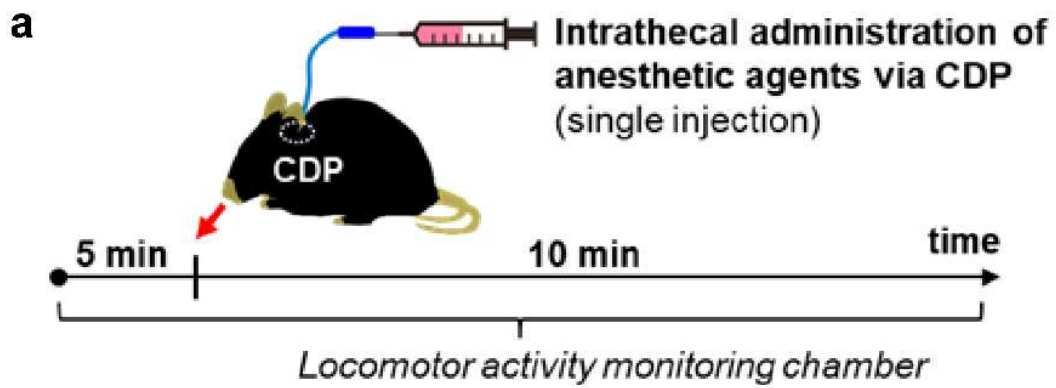


図5 髄腔投与薬剤の薬効評価

4.考察

CDP法は、大量かつ良質なマウス髄液の採取を可能とし、自由行動下マウスの中枢薬剤投与ルートとしても利用することが可能であった。従来は困難であったが、単一マウスから多量の髄液検体が採取可能となることで神経疾患マウスモデルにおけるバイオマーカーや

疾患修飾薬研究のための有用なプラットフォームとなると考えられる。また、末梢投与された薬剤は血液脳関門により一部しか中枢神経系に到達しないため、薬効評価が不十分であったり、全身への副作用が問題となったりしていたが、CDPを用いることで高時間分解能での中枢神経系への直接的な薬効評価が可能になった。

5.結語

マウスから大量の高品質髄液を回収するためのCDP法を確立した。本法により、従来は技術的に困難であった多量の髄液を用いた網羅的解析が可能となることが期待される。また、血液脳関門の通過性に依存せずに、中枢神経への高時間分解能での薬効評価が可能となり、新規の中枢神経薬の開発に有用であると考えられる。

6.文献

- 1) Takeda S, Wegmann S, Cho H, DeVos SL, Commins C, Roe AD et al. Neuronal uptake and propagation of a rare phosphorylated high-molecular-weight tau derived from Alzheimer's disease brain. *Nature Commun.* 2015;6:8490.
- 2) Wesseling H, Mair W, Kumar M, Schlaffner CN, Tang S, Beerepoot P et al. Tau PTM Profiles Identify Patient Heterogeneity and Stages of Alzheimer's Disease. *Cell.* 2020;183(6):1699-1713.e13.

7.成果発表

雑誌論文

Nakajima T, Takeda S, Ito Y, Oyama A, Takami Y, Takeya Y et al. A novel chronic dural port platform for continuous collection of cerebrospinal fluid and intrathecal drug delivery in free-moving mice. *Fluids Barriers CNS.* 2022;19(1):31