

アルツハイマー病の早期診断・治療の新たなアプローチ

長崎大学薬学部薬学科 6年 中谷勲男

Proline isomer-specific antibodies reveal the early pathogenic tau conformation in Alzheimer's disease

Kazuhiro Nakamura, Alex Greenwood, Lester Binder, Eileen H. Bigio, Sarah Denial, Linda Nicholson, Xiao Zhen Zhou, Kun Ping Lu

Cell, **149**, 232–244 (2012)

リン酸化タンパク質の *cis-trans* 異性化が多数のシグナル分子の生理作用を制御していることが提唱されており、アルツハイマー病 (AD) の病理形成と関連があると考えられているが、その直接的なエビデンスは明らかではない。これまでに以下のことが明らかにされている。

① AD 脳においてタウの Ser/Thr-Pro モチーフのリン酸化は、タウの微小管結合能を低下させ、神経変性を促進する。② ペプチドのリン酸化部位における pSer/Thr-Pro モチーフは *cis-trans* コンフォメーションに影響を与える。③ *In vitro* において peptidyl-prolyl isomerase (PPlase) である Pin1 はタウの pThr231-Pro モチーフに結合し異性化する。④ ヒト脳の神経細胞で Pin1 は高発現しているが、軽度認知機能障害者 (MCI) や AD 患者の神経細胞では発現が低下している。そこで著者らは、リン酸化タウのこれらの異性体に特異的な抗体を産生し、*cis* 体が認知症の初期脳から観察され、変性神経 (特に、変性突起) に特異的に蓄積することや、Pin1 が *cis* 体から *trans* 体に異性化することを明らかにした。この発見は AD の早期診断や治療の新しいアプローチになると考えられ、興味深いので紹介する。

まず著者らは、リン酸化タウ pThr231-Pro のコンフォメーションを識別する抗体の産生を試みた。pThr231-Pro モチーフを含む合成タウは NMR を用いて解析すると *cis* 体は 9% しか存在しなかったため、proline 残基を 6 員環に置き換えた pThr231-Pip、proline 残基の 5 位にメチル基を 2 つ付加した pThr231-Dmp、proline を alanine に置換した pThr231-Ala を作製した。*Cis* 体の存在量はそれぞれ 74%、96%、0% であった。著者は pThr231-Pip を用いてウサギを免疫化した後、pThr231-Dmp と pThr231-Ala で精製したものを *cis* 特異的抗体、pThr231-Pro と pThr231-Dmp で精製したものを *trans* 特異的抗体とした。得られた抗体の立体特異性を pThr231-Pro、pThr231-Dmp、pThr231-Ala、Thr231-Pro を用いて確認すると、これらの抗体はそれぞれ *cis* 体、*trans* 体に立体選択性があり、またこの部位でのリン酸化を認識することがわかった。SH-SY5Y 細胞、タウ Tg マウス、AD 患者の前頭皮質においても同様の結果が得られ、リン酸化タウの立体特異的抗体の産生に成功した。次に著者らは、認知症症状の進行に伴う *cis* 型および *trans* 型リン酸化タウの増加およびそれらの存在比を確認するために、健常者、MCI(III)、MCI(IV)、AD の脳を得られた抗体で免疫染色した。*Cis* 体も *trans* 体も健常者の脳で微量ながら観察されたが、*cis* 体は MCI(III)、MCI(IV)、AD と症状

の進行に伴い増加していた。ウエスタンブロット法でも同様の結果が得られたため、*cis* 体がタウ病理の形成に関与していると著者は考え、リン酸化タウのコンフォメーション変化による生化学的機能の相違や制御機構についてさらに詳しい解析を進めた。*In vitro* で Pin1 を加えると *cis* 体の量が減少し、*trans* 体の量が増加した。リン酸化タウの *cis* 体および *trans* 体の微小管結合能を調べると、*cis* 体は結合能が低下し、Pin1 を加えると微小管結合能が回復した。また、神経細胞でのリン酸化タウの安定性をシクロヘキサミド処理した神経細胞で調べたところ、*cis* 体は *trans* 体に比べて半減期が約 4 倍長く、凝集性が高かった。次に、Pin1 がリン酸化タウの異性化の制御に関わるか否かを明らかにする目的で AD 剖検脳の海馬を用いて組織化学的に解析した。海馬 CA2 領域では Pin1 は多く発現していたが、CA1 領域では劇的に発現が減少していた。また、CA2 領域に比べて CA1 領域の *trans* 体に対する *cis* 体の量が多く、神経原線維変化の量も CA2 領域に比べて CA1 領域で多量に観察された。これらの結果は、AD 脳において Pin1 がリン酸化タウの異性化を制御する可能性を示唆している。最後に、著者らは Pin1 がリン酸化タウ *cis* 体の凝集を阻止できるかをタウ Tg マウス由来初代培養神経細胞を用いて生化学的に解析した。神経細胞に Pin1 を遺伝子導入すると、*cis* 体の量は減少し、逆に *trans* 体の量は増加した。また、Pin1 をノックダウンすると *cis* 体は増加し、*trans* 体は減少した。これらの結果は、免疫染色によっても確認された。以上のことより、MCI や AD においてリン酸化タウの *cis* 体が病原性を有するコンフォメーションであり、Pin1 により非病原性 *trans* 体に変換されることが明らかになった。

著者らは、今回の結果は AD の早期診断、早期治療に対する新しいアプローチになると述べている。例えば、Thr231 のリン酸化は AD において最初に検出可能なリン酸化であり、MCI において *cis* 体のリン酸化タウは上昇しているため、*cis* 体と *trans* 体の比は早期のバイオマーカーになりうる。また、*cis* 体に特異的な抗体を用いることで早期の段階で AD 進行を防ぐことが可能になると提案している。AD では、臨床症状(認知障害)が出現する頃には、原因とされるタウやアミロイド β が蓄積、凝集しており、早期診断可能なバイオマーカーの発見は極めて重要である。*Cis* 体に特異的なワクチンや抗体のような新薬の開発や、他のバイオマーカーと組み合わせた早期診断法の確立を期待したい。

