

「アルツハイマー型認知症における Tau タンパク質の構造機能解析」

大阪薬科大学大学院 薬学研究科 修士1年 須佐 匡樹

日本にはアルツハイマー型認知症 (AD) の患者は 100 万人以上もいると考えられています。AD は主に初老期から老年期にかけて進行する神経変性疾患であり、少子高齢化が進み、長寿国である日本においてその病態の解明と治療薬の発明は大きな課題です。当研究室では AD の発症に関係すると推測されている Tau タンパク質に着目し、AD の発症機構の解明とその治療薬開発に向けた研究を行っております。

Tau タンパク質は、脳の神経軸索内に多く存在する微小管結合タンパク質の一種であり、微小管の重合促進と安定化に寄与しています。しかし、この Tau が異常にリン酸化されると微小管との結合能を失い、正常の細胞骨格には見られない特異な繊維の束を形成して神経細胞内に蓄積します。これは神経原繊維変化と呼ばれ、アルツハイマー病患者の脳内に確認される病理学的所見の一つであります。

Tau 分子中には、微小管結合ドメイン(MBD)と呼ばれる、類似した 31~32 個のアミノ酸残基が下図のように 3~4 回繰り返すという特徴的な配列(R1~R4)を有する領域が存在します。このうち 3 回繰り返すものを 3 リピート Tau、4 回繰り返すものは 4 リピート Tau と呼び、その遺伝子発現はヒトの成長段階により異なり、ヒト胎児期の脳では 3 リピート Tau のみが発現していることが確認されています。先に記した Tau の異常リン酸化による自己凝集は、この MBD 領域を介する反応で有ることが判りました。よって、この MBD に関する凝集能の解析や、凝集阻害物質の探索は、AD 研究において極めて重要な研究課題であります。

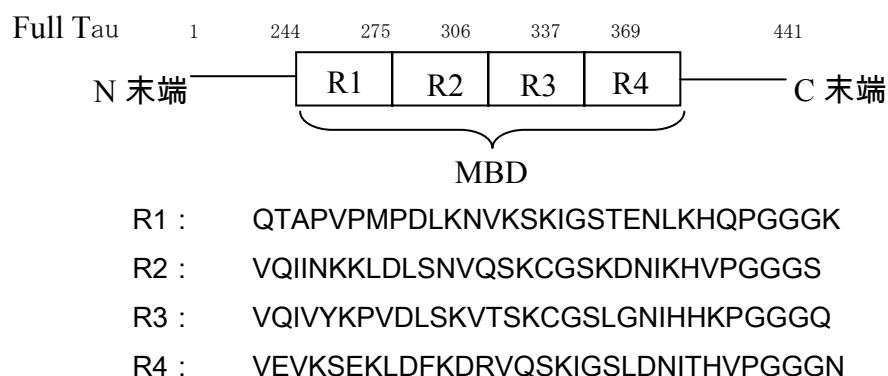


Fig. Tauタンパク質におけるMBDのアミノ酸配列

現在の AD 治療薬開発として、アミロイド β が異常蓄積するプロセス (アミロイド β 仮説) をターゲットとした治療薬やワクチンの開発が主流です。その中でも抗体を利用した治療薬研究は特に注目され、抗体のもつ特異性を利用して副作用の少ない薬を作ることが期待されています。そこで私は Tau の特異的抗体を用いることが、MBD の自己凝集を抑制する有効な手段となり得ると考え、MBD 認識抗体の構造化学的研究に着手しました。

Tau 分子中の MBD の中でも特に凝集に関与していると考えられている R2 リピートと R3 リピートのうち、R2 リピートの特定アミノ酸配列を特異的に認識して作用する抗体を作製し、様々な物理化学的手法を用いて Tau の凝集抑制効果について検討しました。抗体はマウスハイブリドーマ細胞の上清を大量培養し、ProteinG カラム等を用いた精製により高純度の抗体を作製しました。また Tau は大腸菌による大量発現後、種々のクロマトグラフィーを用いて精製することにより、高純度のサンプルが得られました。そしてその抗体と種々の Tau を混合し、蛍光実験や表面プラズモン解析等により得られたデータから抗体が Tau の自己凝集を効果的に抑制させることが確認されました。

さらにその MBD の認識部位における凝集抑制メカニズムを原子レベルで解明するため、抗体分子中の Fab フラグメントと MBD との複合体の立体構造解析に取り組みました。抗体をパイン処理・イオン交換クロマトグラフィー等を行うことで Fab フラグメントへと精製し、Fab フラグメントと種々の MBD と混合させ、純度の高い Fab-MBD の複合体を作製し、X 線構造解析を行うための結晶化を試みました。スクリーニングによる多くの結晶化条件の検討の結果、Fab-Tau 複合体での結晶化に成功しました。現在、その構造解析を進めております。

以上の研究より、抗体による Tau の自己凝集抑制効果の定量評価、また X 線構造解析による凝集抑制メカニズムの原子レベルでの解明はアルツハイマー型認知症の治療薬開発に繋がることを期待でき、本研究成果が活かされることを切望して日々研究に打ち込んでいます。