

氏名	大西 智裕		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 7743 号		
学位授与年月日	平成 28年 3月 25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on Relationship between a Microtubule-associated Protein Tau and Alzheimer's Disease Progression and Drug Discovery Targeting Tau (微小管結合タンパク質tauのアルツハイマー病への関与とtauを標的とした治療薬の研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	沼田 治
副査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	中田 和人
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	中野 賢太郎

## 論 文 の 要 旨

アルツハイマー病 (AD) は、老人斑と神経原線維変化 (NFT) を病理学的な特徴とし、認知機能の著しい低下や人格の変化を主症状とした神経変性疾患である。tau は微小管結合タンパク質で、NFT の主要構成成分である。患者脳の tau は高度にリン酸化されており、tau のリン酸化亢進が AD の病因のひとつであると考えられている。また、tau 遺伝子 (*MAPT*) の変異は AD 類似の家族性前頭側頭葉変性症 (FTDP-17) を引き起こすので、tau の機能異常が神経変性の進展に関わることが示唆される。tau は、微小管と結合し軸索機能を助けるが、高度のリン酸化が tau の構造変化をもたらし、微小管からの乖離および細胞内蓄積を促進する。そこで本研究では、tau のリン酸化亢進が AD の病因の一つであることを明らかにするため、tau に異常を持つ神経変性疾患モデルの作製と、tau リン酸化を阻害する薬品の探索とその薬剤の AD 発症への効果を検証した。

tau に異常を持つ神経変性疾患モデル動物を作製するために、FTDP-17 で最も頻度の高い原因変異である、P301S 変異を有すヒト型 tau 遺伝子トランスジェニックマウス (TPR50 マウス) を作製した。TPR50 マウスは脳内にヒト型 tau を高発現しており、海馬において tau リン酸化が認められた。また、S202/T205 リン酸化において加齢依存的な上昇が見られた。tau の不溶化および細胞内蓄積は 9 ヶ月齢までに確認された。神経細胞マーカー calbindin は、6 ヶ月齢および 9 ヶ月齢マウスで低下しており、神経細胞の減少を示唆している。これらの表現形は神経変性の初期兆候を反映する。さらに、5 ヶ月齢 TPR50 マウスは、Y 迷路試験および新奇物体認知試験での早発性の認知機能低下を呈した。5 ヶ月齢では、海馬での細胞内 tau 蓄積は確認されないが、 $\alpha$ -tubulin、アセチル化 tubulin、kinesin heavy chain などの微小管関連タンパク質の異常な増加や微小管ダイナミクスの亢進、中隔野・海馬経路における軸索輸送障害が観察された。

そのため、TPR50 マウスの認知機能異常は、tau のリン酸化亢進によって引き起こされた微小管機能異常および軸索輸送障害と関連する可能性が示唆された。これらの結果は、TPR50 マウスが神経変性疾患治療を目指した治療薬の創製や、神経変性疾患の病因解明に有用であることを示す。

次に、tau リン酸化を阻害する薬品探索のために、AD 病変部位で発現亢進しており、tau リン酸化に寄与することが報告されている、グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 (GSK-3) に着目した。GSK-3 を阻害する薬品の探索のために、ハイスループットスクリーニングを実施し、ヒット化合物の誘導体の合成展開を実施した。その結果、キナーゼ選択性および薬物動態プロファイルが良好な GSK-3 阻害剤として、2-methyl-5-(3-{4-[(S)-methylsulfinyl]phenyl}-1-benzofuran-5-yl)-1,3,4-oxadiazole (MMBO)を見出した。MMBO はラット初代神経細胞において、tau リン酸化を抑制し、また経口投与で有効性を示した。AD モデル動物である 3xTg-AD マウスに MMBO を投与したところ、海馬において GSK-3 阻害に基づくリン酸化 tau 低下作用を確認した。次に、3xTg-AD マウスへの MMBO の反復投与を行い、Y 迷路および新奇物体認知試験を実施したところ、MMBO による認知・記憶障害改善作用が確認できた。以上より、GSK-3 阻害による tau リン酸化抑制が、AD モデルマウスにおける認知改善作用を有することが明らかとなり、AD 治療に有効である可能性が示唆された。

以上の知見から、AD などの神経変性疾患において、tau の機能異常に基づく軸索機能障害を回復させることが新たな AD 治療コンセプトであり、tau リン酸化阻害は当該コンセプトに基づいた有望な治療ターゲット例であることが明らかになった。

## 審 査 の 要 旨

大西氏は本研究で、tauのリン酸化亢進を引き起こすヒト変異型tau遺伝子トランスジェニックマウスを作製し、AD様神経変性を引き起こす疾患モデルマウスの作製に成功した。さらに、tauリン酸化を阻害する薬品の探索をおこない、GSK-3を阻害するMMBOがAD発症を抑制することを明らかにした。微小管細胞骨格の調節タンパク質であるtauのリン酸化亢進がADの病因の一つであることを明らかにした本論文は、ADの発症メカニズム解明に大きく貢献する優れた研究である。審査では本研究の生物学的意義と応用について質疑が行われた。大西氏は、論理的に議論を進め、適切に回答した。その結果、本学位論文が学術的に優れた内容であることが確認された。

平成28年2月1日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(生物科学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。