



展 TENBO 望

生体脳タウイメージング



佐原 成彦

Sahara Naruhiko

(独)放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター

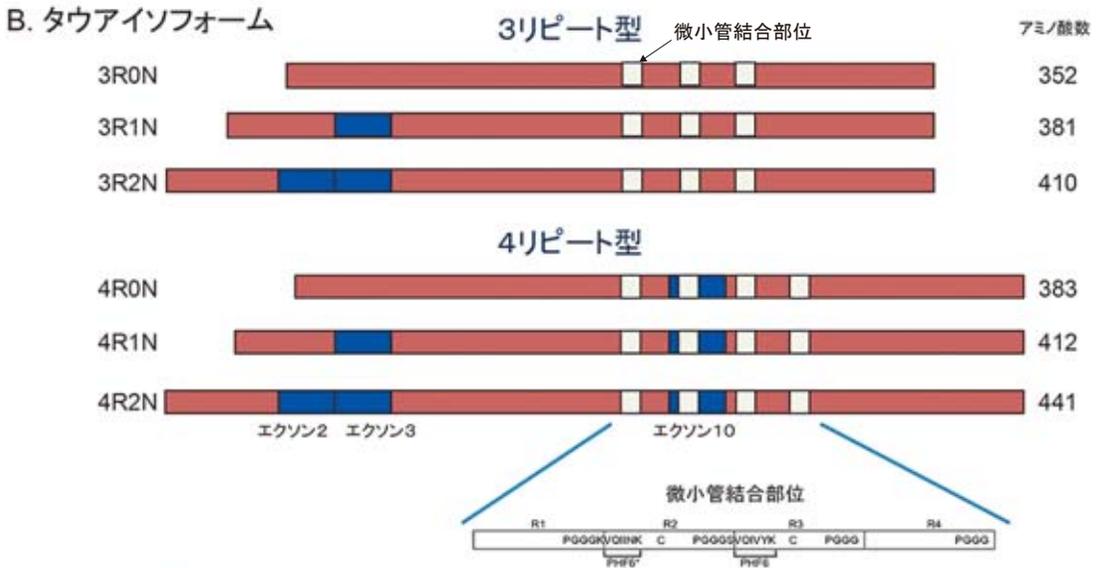
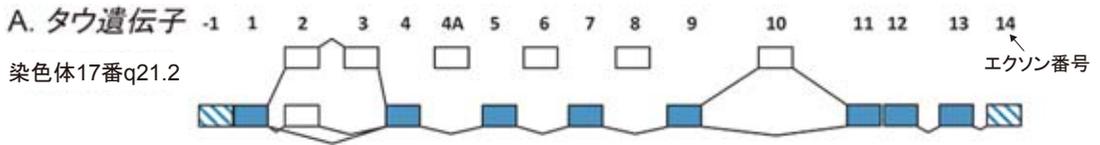
1 はじめに

認知症とは、後天的な脳の障害により、いったん発達した認知機能が低下し、日常生活や社会生活に支障を来すようになった状態をいう。アルツハイマー病は認知症の中でも最も知られている病気であり、発症の原因はまだ不明であるが、脳内で起こる色々な変化によって脳細胞の質が変わってしまうために起こると考えられている。神経病理学的には、細胞外に蓄積するシミのような老人斑、神経細胞内で検出される線維の束のような神経原線維変化、細胞死に伴う脳萎縮がアルツハイマー病の3大所見として特徴付けられている¹⁾。発症前の無症候期を行う早期診断が、予防や適切な治療の介入を行う先制医療の実施には必須であること²⁾から、近年、アルツハイマー病の早期診断はますます重要性を増している。現在、老人斑のPositron Emission Tomography (PET)による脳画像診断がPittsburgh Compound B (PiB)の開発³⁾を契機に、その実用化に向けて着々と進行している。老人斑を標的としたアルツハイマー病の脳画像診断技術に追随して、今回、神経原線維変化を標的としたPET薬剤であるPBB3の開発に成功した⁴⁾。その結果、アルツハイマー病の

みならず、前頭側頭型認知症などの非アルツハイマー型認知症の脳画像診断の可能性がより現実的となった。神経原線維変化の主要タンパク質成分がタウであり、PBB3は凝集性のタウタンパク質に選択的に結合し得ることからPET薬剤としての開発が進められ、今回の成果につながったといえる。

2 タウとは

タウは微小管(細胞内に見いだされる直径25 nmの管状の構造)結合タンパク質ファミリーの1つであり、主に中枢神経系の神経細胞に多く発現している。タウはチューブリン(真核生物の細胞内にあるタンパク質)と結合することによって細胞骨格である微小管の安定化を調節する(図1)。微小管との結合性はリン酸化を受けることで変化し、リン酸化されたタウは神経細胞内での局在が軸索から細胞体、樹状突起へと変化することが知られている⁵⁾(図1C)。ヒトの中枢神経系では6つのタンパク質アイソフォーム(構造は異なるが同じ機能を持つタンパク質)が発現している(図1B)⁶⁾。これらのアイソフォームは染色体17番上の単一の遺伝子からN末端側のエクソン2, 3とC末端側の



C. タウの生理機能

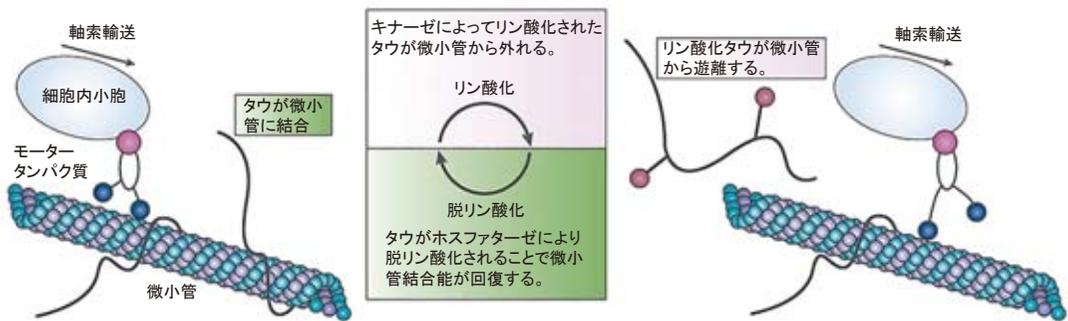


図1 タウタンパク質アイソフォームの発現とタウの生理機能 (文献5, 7) より改変)

エクソン10の選択的スプライシング（ある直鎖状ポリマーから一部を取り除き、残りの部分を結合すること）によって作り出される（図1A）⁷⁾。エクソン10の有無で微小管結合部位の数が3つの3リピートアイソフォームか4つの4リピートアイソフォームに分別される（図1B）。ヒト胎生期では最短の3リピートア

イソフォームのみ発現するが成人では6つのアイソフォーム全てが発現する⁸⁾。これには、微小管ネットワークのダイナミクスを保つ上で3リピートタウによる微小管形成が必要であり、安定な微小管ネットワークを保持するには4リピートタウによる微小管形成が必要であると推測される。

3 タウオパチーとは

アルツハイマー病をはじめ多くの神経変性疾患では、病理学的特徴として、神経細胞やグリア細胞に線維化したタウタンパク質の封入体が観察される⁹⁾。このような特徴を持つ疾患を総称してタウオパチーと呼んでいる¹⁰⁾。細胞内線維状封入体を形成するタウのアイソフォームは各疾患によって異なり主に3リピート型、主に4リピート型、あるいは3リピート、4リピート両者が同じ比率で含まれるタイプに分類される。3リピート型にはピック病、4リピート型には進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症など、両者を持つ封入体を形成する疾患にはアルツハイマー病などがある。また、前述した前頭側頭型認知症の中にはタウ遺伝子の突然変異を持つ家族性のもの (FTDP-17-tau) が知られており^{11,12)}、現在までに40以上のタウ変異が報告されている。FTDP-17-tauの存在は、タウ変異自体が認知症発症の主要原因であることを証明している。FTDP-17-tauの発症メカニズムは、タウ遺伝子の突然変異部位に依存していると考えられる。突然変異は、大半が微小管結合部位の含まれるC末端領域に存在している。ある変異は、アミノ酸置換による自己凝集性を獲得することでタウの異常凝集を促進する作用を持っている。また、エクソン10とエクソン11の間にあるイントロン(転写はされるが、最終的に機能する転写産物からスプライシング反応によって除去される塩基配列)上に存在している変異などは、おそらくスプライシングに影響を与え、3リピートと4リピートタウの発現比率が変化すると考えられる。実は、アイソフォームの存在比を変化させる変異のほとんどが4リピートタウを増やすものであり、タウタンパク質が正常な状態より微小管に結合しやすくなるはずだが、おそらく、過剰な微小管への結合がキネシンと呼ばれるモータータンパク質による軸索輸送が妨げられることによって細胞の正常機能が障害を受けるのではないかと考えられて

いる¹³⁾。

タウオパチーで見られる細胞内線維状封入体を構成しているタウの特徴の1つとして、異常リン酸化が挙げられる。タウタンパク質を構成するアミノ酸にはセリン・スレオニン・チロシンなどのリン酸化され得るアミノ酸残基が多く含まれており、リン酸化・脱リン酸化が生理的条件下でダイナミックに制御されていると考えられる¹⁴⁾。このタウタンパク質が、ひとたび凝集・線維化すると、過剰にリン酸化された不溶性タウタンパク質となる。今のところ、この異常リン酸化がタウオパチー発症の原因なのか2次的なものなのか不明であるが、異常リン酸化タウは細胞体や樹状突起に見られることから、タウの軸索における機能が障害を受けた結果を反映しているとも考えられる。リン酸化の制御が治療薬の標的として扱いやすいことから、リン酸化阻害剤の研究開発は現在も継続的に進められている。

4 タウ PET 薬剤の開発

老人斑を構成する β アミロイドペプチドや神経原線維変化を構成する線維状のタウタンパク質は安定な β シート構造を持つことが特徴である。 β アミロイドペプチドに対しては、 β シート構造に結合する既存のアミロイド標識色素thioflavine Tの誘導体であるPiB(図2参照)が開発され、現在、¹¹C標識した [¹¹C]PiB生体アミロイドイメージング臨床研究のスタンダードとして用いられている。一方でタウの凝集体に対しては、東北大学のTHK薬剤^{15,16)}、Eli Lilly (Avid Radiopharmaceuticals)社のT807¹⁷⁾、T808¹⁸⁾、そして放医研のPBB薬剤の開発が次々と報告された。ここではPBB3開発の経緯を紹介する。まず、第一にタウ薬剤として評価されるためには、タウ凝集体に対する結合選択性が β アミロイド線維に対するそれよりも高いことが要求される。筆者らは、タウ凝集体を構成するタウ線維と β アミロイド線維に何らかの

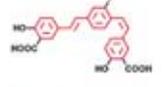
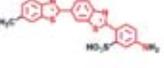
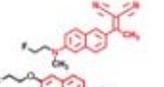
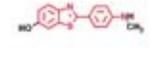
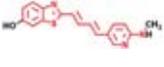
化学構造	分子量	基本骨格長(A)	名称	AD神経原線維変化		ピック球		トランスジェニックマウス	
				薬剤	タウ抗体	薬剤	タウ抗体	薬剤	タウ抗体
	239.3	15.6	Curcumin						
	264.2	16.6	FSB						
	346.4	17.3	Thioflavin-S						
	201.2	11.7	FDDNP						
	217.3	11.1	THK523						
	216.2	10.9	PiB						
	266.3	15.6	PBB3						

図2 PBB3と代表的なβシート標識蛍光化合物の比較
(文献4)より改変)

構造上の違いがあると考え、PiB薬剤から基本骨格の長さを変えた化合物をデザインし、タウ線維とβアミロイド線維との結合選択性を検討した。まず、始めにPiB由来の化合物が蛍光特性を有していることから、認知症モデルマウスやヒト脳組織切片を用いて、化合物の結合性を脳病理として評価した(図2)。その結果、基本骨格長が約15.5 nmのPBB薬剤がタウ線維への選択性が高いことを見だし、5種類のPBB薬剤の中で、脳移行性、タウ病変への選択性、生体内での安定性の最も優れていたのがPBB3(図2参照)であり、この薬剤を¹¹Cで標識し、PETイメージングに応用した。

5 ¹¹C]PBB3-PET イメージング

認知症モデルマウスを用いた¹¹C]PBB3-PETの成果を手掛かりとして、放医研の研究倫理審査委員会より承認を得た上で、アルツハイマー病患者3名と、認知機能が正常な高齢者3名を

対象とした探索的なPETイメージング臨床研究を行った。この臨床研究では、同一の被験者において¹¹C]PBB3と¹¹C]PiBのイメージングを行い、それぞれのPET薬剤の集積を比較した(図3)。その結果、¹¹C]PBB3は海馬領域にシグナルが強く現れるのに対し、¹¹C]PiBは海馬以外の大脳皮質などに強いシグナルが認められた(図3矢印)。¹¹C]PBB3の標識部位は、海馬傍回から始まる神経原線維変化の分布に非常によく一致しており、タウ病変を選択的に標識していることを強く示唆していた。一方で、¹¹C]PiBの結果を¹¹C]PBB3と対比させることで、¹¹C]PiBが老人斑を選択的に標識することを再評価したと言える。

さらに、PBB3はアルツハイマー病以外の認知症で蓄積するタウ病変にも結合することが、ヒト脳組織切片を用いた解析で明らかになっており、実際に皮質基底核変性症患者でもタウ蓄積を画像化することに成功した(図4)。皮質基底核変性症は運動障害と認知機能障害を主

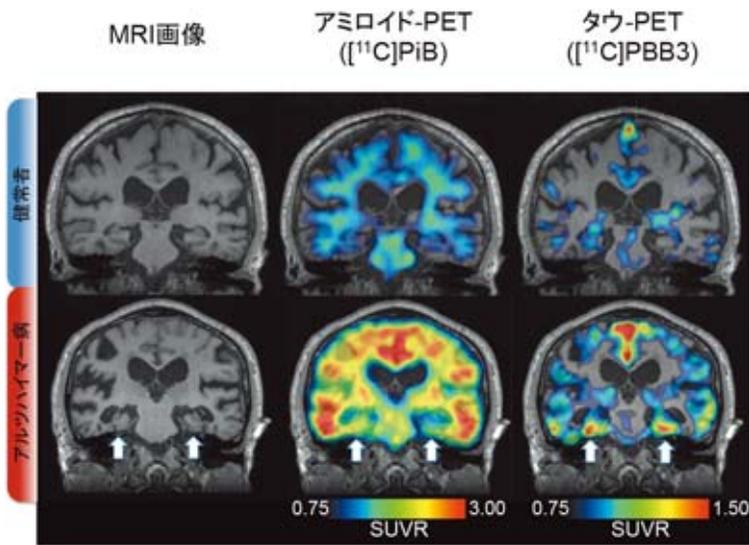


図3 健常者とアルツハイマー病患者におけるPET画像
同一被験者でアミロイドPET、タウPETの画像を比較している。矢印は海馬領域(文献4)より改変)

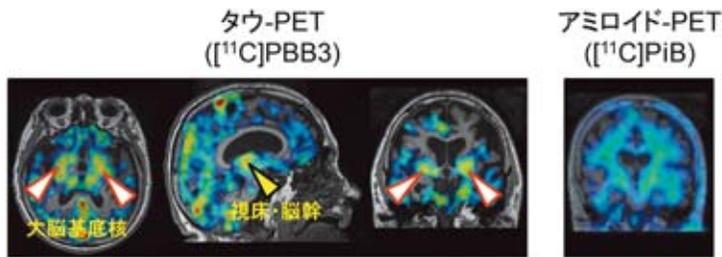


図4 大脳基底核変性症候群患者におけるタウPET画像
右端は同一被験者のアミロイドPET画像。矢頭はそれぞれ $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ が集積している脳領域(大脳基底核、視床、脳幹)(文献4)より改変)

症状としており、 $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ のシグナルは大脳皮質、基底核、脳幹で強くみとめられていた(図4矢印)。これらの領域はこの疾患特有にタウ病変が現れる領域であった。この皮質基底核変性症患者では $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ の集積が認められなかったこと(図4)から、老人斑蓄積の起こらない非アルツハイマー型認知症において $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ -PETイメージングが有効な診断ツールとなり得ることを実証したと言える。

6 今後の展望

アルツハイマー病の発症メカニズムは、まだ解明されていない。老人斑がアルツハイマー病の中核病理であることは疑う余地はないが、アミロイドの形成と蓄積がアルツハイマー病発症過程の中心にあるという仮説(アミロイド・カスケード仮説^{19,20})はいまだに仮説の域を出ていない。これまでのところ、アミロイド抗体療法を含めた抗アミロイド医薬の開発はことごとく失敗に終わっている。認知機能の障害が現れる10数年前から抗アミロイド医薬を処方すれば少なくともアミロイド依存性のアルツハイマー病は防げるという説もあるが、アミロイドの蓄積が認められる高齢者でも認知症を発症しない人たちが一定の頻度で存在することから、アルツハイマー病の発症予測をアミロイドの蓄積だけで予期できるかどうかは疑問の残るところ

である。とは言え、アミロイドイメージングの有効性が実証され、さらにタウイメージングが可能になったことによって、アルツハイマー病の早期診断はより現実的なものになったと言える。

アルツハイマー病の進行過程を評価する研究は、神経病理学者 Braak 博士による2,661検体にも及ぶ死後脳の解析が有名である^{21,22})。その研究で、老人斑、神経原線維変化の加齢に伴う脳内分布の変化が詳細に検討されている。特

A. タウイメージングと認知機能評価との相関

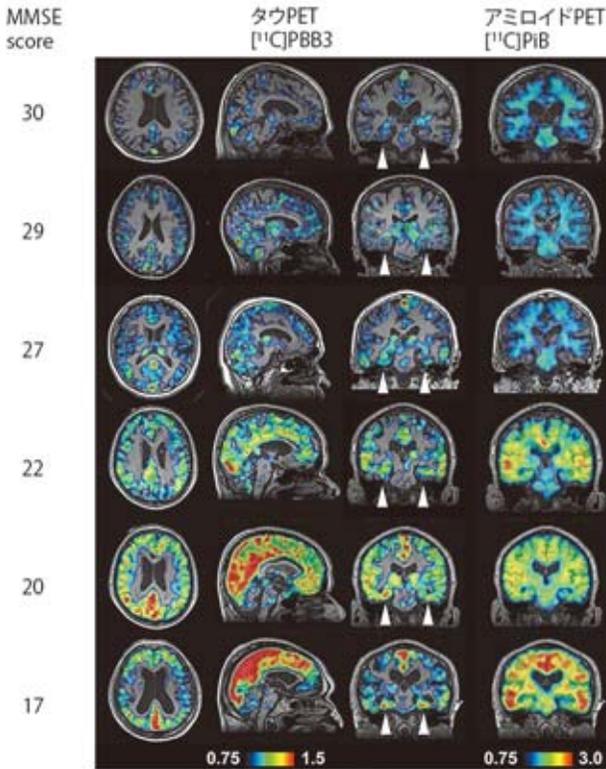
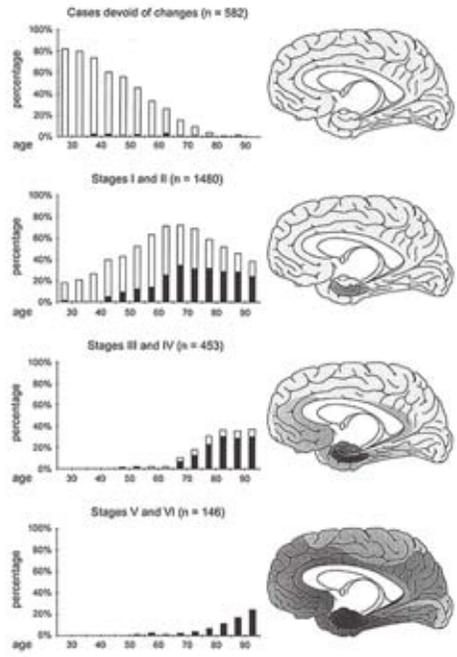


図5 タウ病変のステージ分類

A. タウ画像と認知機能評価との相関。6例のPET画像をMMSE（Mini-Mental State Examinationと呼ばれる認知機能評価用の心理検査）スコアと比較した。右列の画像はアミロイドPET画像。B. 死後脳における神経原線維変化のステージ分類。全2,661例のタウ病理を剖検時死亡年齢と比較した。最上段のグラフは各年齢で神経原線維変化の認められない個体群の比率を表している。2, 3, 4段目のグラフは各ステージに分類された各年齢における個体群の比率であり、棒グラフの黒部分は老人斑をもつ個体群の比率を表している。白部分は老人斑は認められないが神経原線維変化をもつ個体群の比率を表している（文献4, 22）より改変）

B. 死後脳における神経原線維変化のステージ分類



に、神経原線維変化が嗅内野/海馬から始まり大脳皮質辺縁系、新皮質へと拡大する変化を死後脳の解析により明瞭に表現している（図5B）。放医研では、認知症、軽度認知障害、健常者の $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ -PETイメージングを用いた生体タウイメージング実証研究を精力的に行っており、将来的な認知症診断への応用を目指している。特筆すべきことは、 $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ の集積画像が神経原線維変化の病理像と極めて一致しているということである（図5）。また、 $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ -PETイメージングと組み合わせること

で、生体脳イメージングによってアルツハイマー病の進行過程の評価が可能となったと言える。

PBB3はアルツハイマー病だけでなく非アルツハイマー型の認知症におけるタウ病変も検出し得る（図4）。老人斑の沈着が見られない認知症の場合、臨床診断とタウイメージングを組み合わせることによって、物忘れや感情の変化といった認知症の症状が脳のどの部位で（タウ病変と神経細胞の脱落が一致する）異常が起きているかを突き止めることができる。タウ病変を抑制する薬剤は神経細胞死の進行を食い止

め、認知症の重症化を防ぐことが可能になると考えられる。治療薬を臨床試験で評価する際にモデルマウスとヒトでPBB3を利用できることから、治療薬開発の基礎と臨床を緊密につなげられ、診断と治療薬開発の両面で貢献することが期待される。

参考文献

- 1) Dickson, D.W., Neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease: a perspective from longitudinal clinicopathological studies. *Neurobiol Aging*, **18**, S21-26 (1997)
- 2) Karran, E., *et al.*, The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*, **10**, 698-712 (2011), doi: 10.1038/nrd3505
- 3) Klunk, W.E., *et al.*, Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol*, **55**, 306-319 (2004), doi: 10.1002/ana.20009
- 4) Maruyama, M., *et al.*, Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls. *Neuron*, **79**, 1094-1108 (2013), doi: 10.1016/j.neuron.2013.07.037
- 5) Ballatore, C., *et al.*, Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nat Rev Neurosci*, **8**, 663-672 (2007), doi: 10.1038/nrn2194
- 6) Goedert, M., *et al.*, Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*, **3**, 519-526 (1989)
- 7) Hutton, M., Molecular genetics of chromosome 17 tauopathies. *Ann NY Acad Sci*, **920**, 63-73 (2000)
- 8) Kosik, K.S., *et al.*, Developmentally regulated expression of specific tau sequences. *Neuron*, **2**, 1389-1397 (1989)
- 9) Dickson, D.W., *et al.*, Neuropathology of frontotemporal lobar degeneration-tau (FTLD-tau). *J Mol Neurosci*, **45**, 384-389 (2011), doi: 10.1007/s12031-011-9589-0
- 10) Lee, V.M., *et al.*, Neurodegenerative tauopathies. *Annu Rev Neurosci*, **24**, 1121-1159 (2001)
- 11) Hutton, M., *et al.*, Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*, **393**, 702-705 (1998)
- 12) Poorkaj, P., *et al.*, Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Ann Neurol*, **43**, 815-825 (1998)
- 13) Ebner, A., *et al.*, Overexpression of tau protein inhibits kinesin-dependent trafficking of vesicles, mitochondria, and endoplasmic reticulum: implications for Alzheimer's disease. *J Cell Biol*, **143**, 777-794 (1998)
- 14) Noble, W., *et al.*, The importance of tau phosphorylation for neurodegenerative diseases. *Front Neurol*, **4**, 83 (2013), doi: 10.3389/fneur.2013.00083
- 15) Harada, R., *et al.*, Use of a Benzimidazole Derivative BF-188 in Fluorescence Multispectral Imaging for Selective Visualization of Tau Protein Fibrils in the Alzheimer's Disease Brain. *Mol Imaging Biol*, (2013), doi: 10.1007/s11307-013-0667-2
- 16) Okamura, N., *et al.*, Novel 18F-labeled arylquinoline derivatives for noninvasive imaging of tau pathology in Alzheimer disease. *J Nucl Med*, **54**, 1420-1427 (2013), doi: 10.2967/jnumed.112.117341
- 17) Chien, D.T., *et al.*, Early clinical PET imaging results with the novel PHF-tau radioligand [F-18]-T807. *J Alzheimers Dis*, **34**, 457-468 (2013), doi: 10.3233/JAD-122059
- 18) Chien, D.T., *et al.*, Early Clinical PET Imaging Results with the Novel PHF-Tau Radioligand [F18]-T808. *J Alzheimers Dis*, **38**, 171-184 (2014), doi: 10.3233/JAD-130098
- 19) Selkoe, D.J., The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, **6**, 487-498 (1991)
- 20) Hardy, J., and Selkoe, D.J., The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, **297**, 353-356 (2002)
- 21) Braak, H., and Braak, E., Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*, **82**, 239-259 (1991)
- 22) Braak, H., and Braak, E., Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging*, **18**, 351-357 (1997)