

---

---

# タウからの創薬

## Drug discovery focused on the pathological mechanisms of tauopathy

同志社大学生命医科学部神経病理学研究室／准教授

宮坂知宏\*

---

---

### 1. はじめに

2015年に厚生労働省、世界アルツハイマー病協会から相次いで発表されたレポートによると、現在日本の認知症患者は400万人以上、全世界では4000万人を超えると想定されている。認知症の大半はアルツハイマー病であるとされ、その対策が急務となっている。現在、アルツハイマー病の治療薬として認可されているのはドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン、メマンチンに限られる。これらはすべて対症療法であり、認知症の症状を一時的に和らげることができるが、疾患の進行を止めるものではない。求められるべきは認知症の進行を阻止できる疾患修飾薬となる。

### 2. アルツハイマー病根本治療薬開発の現状

アルツハイマー病の病理学的特徴として、アミロイド $\beta$ が凝集蓄積した老人斑、タウが凝集蓄積した神経原線維変化、および広範な神経脱落が挙げられる。アルツハイマー病の発症機構は明らかになっているとは言い難いが、遺伝学的解析からアミロイド $\beta$ のステップが上流でその下流にタウのステップが関与し、やがて神経変性が起こると考えられている。これはアミロイドカスケード仮説とよばれている<sup>1)</sup>。この仮説に従えば、アミロイド $\beta$ の産生、蓄積を抑えれば、その下流にあるアルツハイマー病の病態形成を根本的に止める事ができると考えられる。これまでにアミロイドの除去を目指した治療法が多数提案され、一部は第2相試験を突破し、非常に期待された。しかし、これまでに第3相試験を経て承認まで至った治療法はない<sup>2)</sup>。この最大の理由は、アミロイド産生蓄積の過程が神経機能障害よりも大きく

先行するため、症状を呈するよりもはるか早期に治療を開始する必要があるためと解釈されている。

一方、タウのステップに対しての創薬は長く注目されてこなかったが、2008年 Wischik らにより、タウ凝集阻害剤として同定されたメチレンブルーがアルツハイマー病の進行を抑制することが報告された<sup>3)</sup>。多くの抗認知症薬の治験が頓挫する中でのこの発表は、世界の研究者や臨床家の注目を一気に“タウ”にシフトさせるのに十分なものであった。

### 3. タウオパチー神経変性

タウの凝集蓄積を伴う神経変性疾患はタウオパチーと総称されている<sup>4)</sup>。正常なタウは神経細胞の軸索に局在し、微小管に結合、その安定化に寄与しているとされている<sup>5)</sup>。しかし、タウオパチー神経では正常神経細胞では認められない数々の“異常性”が同定されている。通常タウは可溶性の高いタンパク質である。しかし、細胞体や樹状突起において凝集、線維形成したタウは、サルコシルなどの界面活性剤に対する不溶性を獲得する。また、異常に蓄積したタウの生化学解析から、高リン酸化、ユビキチン化、アセチル化、イソ化、糖化などの異常タンパク質修飾が同定されている<sup>6)</sup>。さらに、このような異常タウは微小管安定化の機能が消失し、実際タウオパチー変性神経では微小管が減少していること等が知られている(図1)。基礎研究において各異常性と神経変性の関連性を主張した論文は多いものの、これらの異常性のうちどれが厳密にアルツハイマー病における神経障害に直結しているのか？どの異常を標的に創薬を進めれば確実にアルツハイマー病の進行を抑えられるのか？といった問いへの解答は未

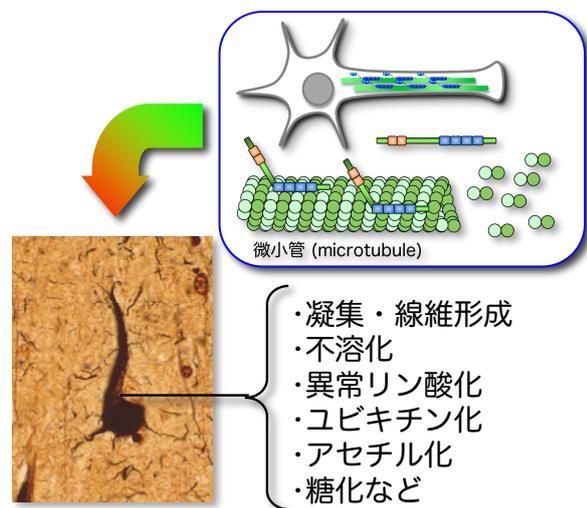
---

\* Tomohiro Miyasaka, PhD: associate professor, Doshisha University, Faculty of Life and Medical Sciences, Neuropathology

だ得られていないのが現状である。

#### 4. タウを標的とした創薬戦略

タウの異常性については盛んに研究されているものの、神経変性との関係は未だ不明である。このようなタウオパチーに対する創薬として、我々は2つの異なる創薬戦略をとった(図2)。一つは、特定のメカニズムを標的とし *in vitro* のスクリーニング法で候補化合物を絞り込み、*in vivo* の薬理効果、安全性を求めてゆく方法である。これは reverse pharmacology とよばれ、現在の一般的な創薬手法と言える。一方、タウオパチーの神経変性機序について特定の標的を決めず *in vivo* のモデルで直接タウによる神経症状を緩和させる化合物をスクリーニングする戦略である。これは forward pharmacology とよばれ、民間薬や漢方など、人類史上長い時間をかけて生き残ってきた有用植物、化合物がそれにあたる。現在市販されている薬にはいずれかの方法により見出された化合物があり、どちらかの戦略が優れていると言う事ではない。タウオパチーのような未知の疾患を相手とするにはその両方の戦略を平行して開発を進める必要がある。



タウオパチー神経

図1 タウオパチー神経でみられるタウの異常性

正常なタウは神経細胞の軸索に局在し、微小管に結合、その安定化に寄与している。タウオパチー神経ではタウが凝集している。このように蓄積したタウは高リン酸化などの異常タンパク質修飾が同定されている。

#### 5. Forward pharmacology による抗タウオパチー薬の創出

はじめに forward pharmacology による抗タウオパチー薬の創出を試みた。タウによる神経機能異常の改善を簡便に評価し、化合物のスクリーニングに耐えうる個体数、解析速度が実現できる *in vivo* モデルとして我々が選択したのは線虫 (*C. elegans*) である。線虫は神経ネットワークが同定されており、多彩な行動実験や、遺伝子導入等により様々な変異体を作成することが可能である。また、そのゲノムにはヒトの神経機能、疾患に関連する遺伝子が多数保存されている。線虫は、ふ化から僅か3日で成虫となり、約300個程度産卵する。寒天培地上で大腸菌を餌として飼育するため、実験にかかる費用は僅かである<sup>7)</sup>。我々は、野生型タウ、FTDP-17変異型タウを発現させた線虫を複数ライン作成した。これらの線虫ではタウの発現量依存的、変異依存的な神経機能障害が現れ、この機能障害は線虫の運動異常 (uncoordinated movement) として検出、定量化が可能であった<sup>8)</sup>。この線虫モデルを、様々な天然物由来の化合物または既存の薬物を添加した飼育培地上で一定期間飼育し、線虫の運動障害の程度について評価した。プロジェクト3年ほどで200種を超える化合物を解析しており、仮にヒトで同様のプロジェクトを計画すると数千年の歳月を要するものである。

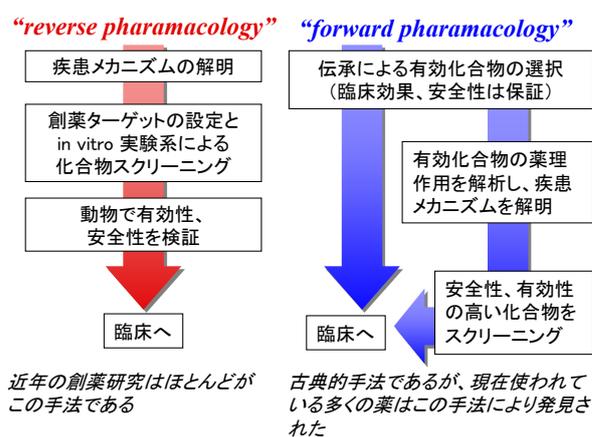


図2 創薬における2つの戦略

近年の創薬は解明された疾患メカニズムを標的として化合物をスクリーニングし、開発に供する reverse pharmacology で行なわれる。しかし、民間薬などは特定のメカニズムを想定する事無く、直接 *in vivo* での有効性、安全性を指標に発見される。これは forward pharmacology とよばれる。

その結果、ウコンの色素成分であるクルクミンにタウによる神経機能障害を軽減させる効果がある事を見出した<sup>8)</sup>。クルクミンはこれまでも様々な実験系において抗アルツハイマー病化合物としてのポテンシャルが報告されてきたが、我々の系においてもその有効性が示されたことになる。このような創薬のシードが発見されると、その骨格を改変する事でさらに構造を最適化する事ができる。様々なクルクミン誘導体をスクリーニングした結果、実際にクルクミンを上回る抗タウオパチー効果を有するものも見出されている。将来的にはこのような解析をもとに新たな有効化合物が生み出される可能性がある。

Forward pharmacology のもう一つの利点は、同定された化合物の作用機序を解析することにより、抗タウオパチー薬創出のための有効な標的を見出すことである。我々はクルクミンの抗タウオパチー効果について詳細に解析した結果、微小管の構成タンパク質であるチューブリンのアセチル化を促進している事実を突き止めた<sup>8)</sup>。チューブリンのアセチル化は安定型微小管のマーカーであることから、クルクミンは神経細胞の微小管を安定化させ、抗タウオパチー効果を発揮するものと考えている(図3)。タウの生理機能が微小管の安定化であるため、微小管安定化の方策は抗タウオパチー薬の標的の一つであった<sup>9)</sup>。今回の forward pharmacology によるスクリーニングで微小管安定化作用が同定されたことにより、その方針の妥当性は大きく高められたと考えている。

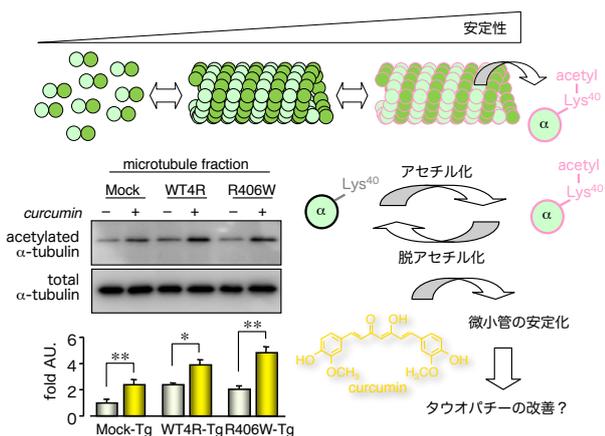


図3 クルクミンの抗タウオパチー作用

クルクミン投与により、タウオパチーモデル線虫の神経機能障害が緩和されるとともにチューブリンアセチル化の亢進が認められる。微小管安定化の方策はタウオパチーの創薬ターゲットとなりうる。(一部文献8より改変)

## 6. Reverse pharmacology による抗タウオパチー薬の創出

我々は同時に reverse pharmacology による創薬も進めた。タウオパチー変性神経細胞における異常性については様々想定されているものの、薬理作用の特異性や予想される副作用の軽減を考えると、やはりタウの凝集を標的にすべきだと考えた。現在、厳密な意味での神経障害性タウは同定されていないものの、多くの研究者が少なくともオリゴマー以上のタウ凝集体形成がその鍵を握っていると考えている<sup>10)</sup>。

我々は *in vitro* のスクリーニング系によりタウ凝集阻害活性を有する化合物をスクリーニングした。その結果、カテコール骨格を有する化合物群にその活性がある事を突き止めた<sup>11)</sup>。カテコール核を有する化合物は生体内の小分子をはじめ自然界に多く存在し、また現時点で臨床応用されている薬にも多数存在する。これらの候補化合物から、既に臨床応用され細胞膜への透過性が見込める化合物としてイソプロテレノールを選択した。タウトランスジェニックマウスを用いた *in vivo* 薬理試験の結果、不溶性タウの減少、神経細胞死の抑制が認められた<sup>11)</sup>。また、*in vitro* の解析から、イソプロテレノールはタウのシステイン残基を修飾する事によりタウ凝集、オリゴマー形成を阻害する事を見出している<sup>11)</sup>。

イソプロテレノールは既存薬であるため、現行の用法に限り通常創薬で必須とされる膨大な非臨床試験、安全性試験の多くをパスし、臨床応用へとつなげる事が出来る。これはドラッグリポジショニングとよばれ、迅速な臨床応用が求められる創薬分野にとっては重要な戦略となる。しかし、イソプロテレノールは $\beta$ 受容体作動薬であり、高齢者への長期投与が強いられる抗認知症薬としては副作用の面で不安がある。現在、構造活性相関からタウ凝集阻害以外の副作用を大きく軽減させ、脳移行性などの体内動態にすぐれた化合物、さらにはカテコール核とは異なるよりタウ凝集効果の強い化合物を同定している。これらの化合物にはドラッグリポジショニングに相当する化合物だけでなく新規化合物も含まれ、近い将来に予定される臨床試験を通しその有効性が検証される事を期待している。

## 7. タウ凝集阻害剤の臨床研究

新薬の臨床試験を行なう際、安全且つ標的部位における薬物濃度がコントロールできる事とともに、薬物が目的に薬理作用を発揮した (proof of mechanism; POM) ことを確認した上で、実際の臨床

効果 (proof of concept; POC) が検証される必要がある。認知症のようにゆっくりと進行する疾患ではとくに POM の取得が重要視されるが、抗高リン酸化薬や微小管安定化薬の POM を患者でモニタリングする事は現時点で不可能である。POM が取れない化合物の臨床研究は、仮に効果が認められたとしてもその治療法としての評価は曖昧となる。

現在世界レベルでタウ病変 (凝集タウ) の PET による画像診断法が開発されている。日本は間違えなく世界の tau-PET 開発のトップを独走しており、既に縦断研究からタウ病変の進行を捉える事に成功している<sup>12)</sup>。タウ凝集阻害剤であれば、この tau-PET と組み合わせることにより POM を確実にした上で、MRI による脳萎縮の程度さらには心理検査による認知機能への影響を評価できる。タウ凝集阻害剤の臨床に於ける有効性は未知数であるが、タウの凝集阻害が臨床上どの程度有効なのか? 言い換えればタウの凝集がどの程度神経細胞死にかかわっているのか? この問いに対する明確な結論が出せるような臨床研究プランを整える必要があるだろう。

## 8. おわりに

現在基礎研究レベルでは抗アルツハイマー病として期待される創薬ターゲットが沢山提唱されている。認知症克服に向けた創薬研究は多角的に行なわれるべきであり、そのなかでもタウのステップに対する創薬は重要な位置を占めている。世界的な開発競争が進められているなかで、日本はタウの基礎研究から髄液、画像診断、臨床、病理、さらには製薬企業に至るまで豊富な人材が揃っている希有な国である。ALL JAPAN の協力体制を構築する事で、より戦略的な創薬開発が可能となる。近い将来、世界一の長寿国である日本から認知症疾患修飾薬が創出される事を期待したい。

## 謝 辞

本研究の一部は国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の【脳科学研究戦略推進プログラム (課題 F) 脳老化】の支援によって行われたものである。プログラムの共同研究者である井原康夫、高島明彦、杉本八郎、添田義行、謝策、久保厚子、高見真子、井上善一諸氏に感謝する。

## 参考文献

- 1) Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 297:353-356. 2002
- 2) Mangialasche F, Solomon A, Winblad B, Mecocci P, Kivipelto M. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurol*. 9:702-716. 2010
- 3) Wischik C, Bentham P, Wischik D, Seng K. Tau aggregation inhibitor (TAI) therapy with rember arrests disease progression in mild and moderate Alzheimer's disease over 50 weeks. *Alzheimer's and Dementia* 4: T167. 2008
- 4) Spillantini MG, Goedert M. Tau pathology and neurodegeneration. *Lancet Neurol*. 12:609-622. 2013
- 5) Mandelkow EM, Mandelkow E. Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2: a006247. 2012
- 6) 宮坂知宏, 高島明彦 タウ蛋白の分子修飾. *Brain and Nerve* 54:753-766. 2002
- 7) Markaki M, Tavernarakis N. Modeling human diseases in *Caenorhabditis elegans*. *Biotechnol. J*. 5, 1261-1276. 2010
- 8) Miyasaka T, Xie C, Yoshimura S, Yoshina S, Kage-Nakadai E, Mitani S, Ihara Y. Curcumin improves tau-induced neuronal dysfunction of nematodes. *Neurobiol Aging*. in press. 2015
- 9) Lou K, Yao Y, Hoye AT, James MJ, Cornec AS, Hyde E, Gay B, Lee VM, Trojanowski JQ, Smith AB 3rd, Brunden KR, Ballatore C. Brain-penetrant, orally bioavailable microtubule-stabilizing small molecules are potential candidate therapeutics for Alzheimer's disease and related tauopathies. *J Med Chem*. 57:6116-6127. 2014
- 10) Sahara N, Ren Y, Ward S, Binder LI, Suhara T, Higuchi M. Tau oligomers as potential targets for early diagnosis of tauopathy. *J Alzheimers Dis. Suppl* 1:S91-96. 2014
- 11) Soeda Y, Yoshikawa M, Almeida OFX, Sumioka A, Maeda S, Osada H, Kondoh Y, Saito A, Miyasaka T, Kimura T, Suzuki M, Koyama H, Yoshiike Y, Sugimoto H, Ihara Y, and Takashima A. Toxic tau oligomer formation blocked by capping of cysteine residues with 1,2-dihydroxybenzene groups. *Nature Communications*. in press. 2015

- 12) Ishiki A, Okamura N, Furukawa K, Furumoto S, Harada R, Tomita N, Hiraoka K, Watanuki S, Ishikawa Y, Tago T, Funaki Y, Iwata R, Tashiro M, Yanai K, Kudo Y, Arai H. Longitudinal Assessment of Tau Pathology in Patients with Alzheimer's Disease

Using [18F]THK-5117 Positron Emission Tomography. PLoS One. 10:e0140311. 2015

この論文は、平成 27 年 11 月 21 日（土）第 21 回東北老年期認知症研究会で発表された内容です。