

タウ蛋白質蓄積による脳血管性認知症の病態制御

金澤雅人

新潟大学 脳研究所 脳神経内科学分野

【研究の背景】

高齢化の進行により、2040年には本邦において約584万人が認知症に罹患すると推定され、これは早急に取り組むべき重大な社会問題である。特に、脳血管障害による認知症 (poststroke cognitive impairment, PSCI) は、全認知症の4割を占めることが本邦の大規模コホート久山町研究で示されている。複数の基礎研究により、脳虚血モデル動物¹⁾や脳梗塞後のPET検査²⁾、剖検脳解析³⁾において、タウ蛋白質の異常蓄積(特に異常にリン酸化されたタウ蛋白質が神経細胞内に蓄積し、神経障害に関与)と認知機能低下の関連性が報告されている。アルツハイマー病でも脳血管障害によるタウ蛋白質の蓄積が注目され、さらに外傷後の脳内タウ蛋白質蓄積と認知機能低下も示唆されている⁴⁾。しかし、これまでの研究は脳梗塞や外傷後のタウ蛋白質の蓄積の観察にとどまり、その詳細な蓄積機序については十分には解明されていない。

ストレス応答後生じるタウ蛋白質発現は、過剰となることで認知症の発症機序に関与する⁵⁾。タウ蛋白質の強制発現モデルマウスにおける認知機能低下は、この仮説を裏付けている。

タウ蛋白質の異常発現には、脳内の炎症性細胞であるミクログリアが重要な役割を果たしている。アルツハイマー病研究では、タウ蛋白質病変周囲へのミクログリアの集積、タウ蛋白質の貪食、細胞外への排泄、さらなる伝播と蓄積のメカニズムが示唆されている⁶⁾。重要な知見として、ミクログリアは脳梗塞後に経時的にその性質を変化させることが明らかになっている⁷⁾。つまり、適切な状態のミクログリアが存在しない場合、タウ蛋白質が蓄積し、認知機能障害を引き起こす可能性が高い。これらの背景から、本研究ではミクログリアの除去にて、認知機能が変化するか検討し、PSCIの予防及び治療法の開発を目指す。

【目 的】

1. タウ蛋白質過剰発現から認知機能低下までの時空間的変化の包括的解析
2. ミクログリアによるタウ蛋白質蓄積の病態機序の解明と治療戦略の探索

【方 法】

ラット塞栓系モデルを用いて、in vivoでの脳梗塞後のタウ蛋白質動態と認知機能変化を評価した⁸⁻¹¹⁾。

1. 脳梗塞後のタウ蓄積、ミクログリアの経時変化の検討は、各種抗体を一次抗体とした蛍光二重染色にて評価した。90日までの標本作製し、630倍一視野あたりの陽性細胞数を数え、各7視野評価した。
2. PLX3397含有餌(25g/日)を2週間後投与し、ミクログリアの脳内除去を行う。除去の時期を変えることで、タウ発現の違いを評価した。
3. タウ発現による認知機能評価を評価するため、Y maze試験を行った。また、組み換えタウ蛋白質を定位脳手術で脳室内に投与することでの認知機能障害も評価した。

【結 果】

1. 脳梗塞後のタウ蛋白質経時的蓄積

タウ発現の確認として、リン酸化タウ蛋白質を標識する AT8 抗体を用いた蛍光免疫染色を行った。表 1 に示すように、当初発現がなかった AT8 陽性細胞数が増加することが分かった。なお、陽性細胞は神経細胞、ミクログリアなどであった。

	虚血 0 日	10 日後	28 日後	90 日後
陽性細胞数(平均) %	0	45.8	63.1	80.2

表 1 AT8 陽性細胞数の経時変化

なお、組み換えタウ蛋白質を脳室内に投与した群では、投与 28 日後に空間作業記憶が低下し、その低下率は 40%に達していた。

2. ミクログリア除去によるタウ蛋白質発現と認知機能への影響

ミクログリアを除去するために CSF1 受容体阻害薬である PLX3397 を添加した飼料をラットに投与したところ、ミクログリア除去後に脳虚血を誘導したラット群では、通常飼料ラット群より AT8 陽性細胞数の増加が早期から生じた(表 2)。

陽性細胞数(平均) %	10 日後	28 日後
コントロール群	45.8	63.1
ミクログリア除去群	68.9	78.6
P 値	0.09	0.017

表 2 ミクログリア除去による AT8 陽性細胞数の変化

さらに、作業記憶低下もミクログリア除去にて、コントロール群と比べて 50%の低下増悪を認めた。

3. ミクログリア除去の時期の検討

ミクログリア除去の経時的な影響を評価するため、PLX3397 を添加した飼料を脳虚血 1 週と 3 週目に行った。しかし、脳虚血後 1 週間と 3 週間でミクログリアを除去しても、通常飼料ラット群に比べてタウ蛋白質蓄積と作業記憶低下に違いはなかった。

【考 察】

本研究は、脳梗塞後の認知機能障害におけるタウ蛋白質蓄積の病態メカニズムを解明する上で、以下の重要な知見を明らかにした。1. 脳梗塞後にリン酸化タウが蓄積し、認知機能低下に関係すること、2. ミクログリアが直接リン酸化タウの蓄積に関係すること、3. 脳梗塞後早期のミクログリアが関与し、発症 7 日後以降のミクログリアはリン酸化タウ蓄積、認知機能低下には関係しないことを明らかにした。ミクログリアは経時的にその性質が drastic に変化することが示されている⁷⁾。現在、そのミクログリア由来のプロテオミクス、トランスクリプトーム解析を行い、治療標的を検討しており、治療標的となることがわかっている。

私たちは、低酸素低糖刺激を施したミクログリアの潜在的な治療効果を示してきた⁸⁾。糖尿病薬メトホルミンを脳梗塞後に投与すると炎症が軽減し、齧歯類の脳虚血モデルで症状が軽減することが示されている⁹⁾。さらに、私たちはメトホルミン内服している例では、臨床的に脳梗塞後炎症性サイトカイン IL-6 上昇が抑えられ、3 か月後の重症度が軽いことも示した¹⁰⁾。脳内ミクログリアを修飾することが、タウ蛋白質蓄積を軽減し、PSCI 軽減につながる可能性がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、脳梗塞後にリン酸化タウが経時的に増えること、タウの増加で認知機能障害が増悪することが分かった。さらに、適切なミクログリアの存在が認知機能障害には重要である。適切なミクログリアを増やす薬剤の開発が進行している。

【参考・引用文献】

1. Fujii H, Takahashi T, et al. Modifications of tau protein after cerebral ischemia and reperfusion in rats are similar to those occurring in Alzheimer's disease - Hyperphosphorylation and cleavage of 4- and 3-repeat tau. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017;37:2441-2457.
2. Michiels L, Thijs L, et al. In Vivo Detection of Neurofibrillary Tangles by ¹⁸F-MK-6240 PET/MR in Patients With Ischemic Stroke. *Neurology.* 2023;100:e62-e71.
3. Hatsuta H, Takao M, et al. Tau and TDP-43 accumulation of the basal nucleus of Meynert in individuals with cerebral lobar infarcts or hemorrhage. *Acta Neuropathol Commun.* 2019;7:49.
4. Adams JW, Kirsch D, et al. Substantia Nigra Pathology, Contact Sports Play, and Parkinsonism in Chronic Traumatic Encephalopathy. *JAMA Neurol.* 2024;81:916-924.
5. Ramsden M, Kotilinek L, et al. Age-dependent neurofibrillary tangle formation, neuron loss, and memory impairment in a mouse model of human tauopathy (P301L). *J Neurosci.* 2005;25:10637-47.
6. Leyns CEG, Gratuze M, et al. TREM2 function impedes tau seeding in neuritic plaques. *Nat Neurosci.* 2019;22:1217-22.
7. Kanazawa M, Ninomiya I, et al. Microglia and Monocytes/Macrophages Polarization Reveal Novel Therapeutic Mechanism against Stroke. *Int J Mol Sci.* 2017;18:2135.
8. Kanazawa M, Miura M, et al. Microglia preconditioned by oxygen-glucose deprivation promote functional recovery in ischemic rats. *Sci Rep* 2017;7:42582.
9. Jin Q, Cheng J, et al. Improvement of functional recovery by chronic metformin treatment is associated with enhanced alternative activation of microglia/macrophages and increased angiogenesis and neurogenesis following experimental stroke. *Brain Behav Immun.* 2014;40:131-42.
10. Akiyama N, Kanazawa M, et al. Neuroprotective effects of oral metformin before stroke on cerebral small-vessel disease. *J Neurol Sci.* 2024;456:122812. doi: 10.1016/j.jns.2023.122812. Epub 2023 Nov 30. PMID: 38043334.