

学術交流・研究推進プロジェクト 成果報告書

研究代表者 所属 薬物治療学Ⅱ研究室
職・氏名 教授・福森 亮雄

研究テーマ：

「 $A\beta$ に対する防御反応「 $A\beta$ の貪食能」を評価するアルツハイマー病の早期病態バイオマーカーの開発」

研究期間：

2023 年 4 月 1 日 ～ 2025 年 3 月 31 日

研究担当者：

<本学>

研究代表者	福森 亮雄	(大阪医科薬科大学・薬学部・薬物治療学Ⅱ研究室・教授)
研究分担者	柳田 寛太	(大阪医科薬科大学・薬学部・薬物治療学Ⅱ研究室・講師)
研究代表者	山口 敬子	(大阪医科薬科大学・薬学部・薬物治療学Ⅱ研究室・講師)
研究分担者	岡田 健	(大阪医科薬科大学・薬学部・薬物治療学Ⅱ研究室・特任研究員)

<共同研究機関>

研究代表者 数井 裕光 (高知大学・医学部・神経精神科学講座・教授)

研究目的：

アルツハイマー病 (AD) は、認知機能障害を主徴とする進行性神経変性疾患であり、高齢化社会における重要な医療課題の一つである。近年、アミロイド β ($A\beta$) を標的とした抗体療法レカネマブの登場により、 $A\beta$ の除去が治療効果をもたらす可能性が注目されている。一方で、 $A\beta$ は蓄積開始から認知機能障害が出現するまでに長い無症候性期間が存在することが明らかとなっており、その間に生じる脳内の防御的あるいは病的な変化を分子レベルで捉えることが新たなバイオマーカー開発において重要である。特に、ミクログリアによる $A\beta$ の貪食過程に関わる TAM 受容体の動態に着目した解析は、 $A\beta$ 処理能力の指標となりうる。本研究では、TAM 受容体の段階的切断機構およびその断片の動態を明らかにし、 $A\beta$ 蓄積の初期から反映される生体応答としてのバイオマーカーの候補を同定することを目的とする。

研究内容および研究成果：

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) は、アミロイド β ($A\beta$) タンパク質の脳内蓄積を発端とし、神経細胞死や血管障害、さらには炎症反応を伴いながら進行する代表的な神経変性疾患である。 $A\beta$ はその凝集体が神経毒性を示すことから、AD 発症の中心的因子として広く認識されてお

り、 $A\beta$ を標的とした治療法の開発が進められている。近年では、 $A\beta$ 除去を目的とした抗体療法（例：レカネマブ）が臨床応用されるようになったが、AD の病態には依然として不明な点が多く、 $A\beta$ 蓄積以降に生じる多段階の病理過程を分子レベルで明らかにすることが求められている。

本研究では、 $A\beta$ の受容体候補として報告されている TAM 受容体ファミリー（Tyro3, Axl, Mer）のうち、Tyro3 に着目し、その段階的な切断機構と、それに伴って生じる小ペプチドの解明を目指した。まず、Tyro3 の C 末端に FLAG タグを付加した Tyro3-FLAG を作製し、HEK293 細胞に発現させた。その結果、Western blot 解析において全長 Tyro3 は約 105 kDa に検出された。さらに、プロテアーゼ阻害剤を用いた解析により、細胞外領域が α セクレターゼ様酵素によって切断され、約 55 kDa の C 末端断片（Tyro3-CTF）が生成されることを確認した。続いて、この CTF が γ セクレターゼ活性によりさらに切断され、細胞内ドメイン（Tyro3-ICD）が形成されることが明らかとなった。

興味深いことに、Tyro3-ICD は単一の分子種ではなく、質量分析および Western blot 解析により、複数の異なるサイズの断片として検出された。これらの違いは、切断位置の多様性や翻訳後修飾に起因する可能性があり、それぞれ異なる機能的特性やシグナル伝達活性を持つ可能性が示唆された。こうした段階的かつ多様な切断機構は、TAM 受容体の機能的多様性と、AD におけるシグナル制御の複雑性を示す重要な知見であると考えられる。

このような細胞レベルでの分子解析に加えて、共同研究機関である高知大学より提供を受けた約 90 例の認知症患者からの脳脊髄液（CSF）サンプルを用いた臨床データの解析も行った。CSF 中の $A\beta$ 40 および $A\beta$ 42 を ELISA 法により定量し、その比率（ $A\beta$ 42/ $A\beta$ 40）を指標として病態分類の妥当性を評価した。 $A\beta$ 測定は良好な再現性が得られ、今後のバイオマーカー評価における信頼性の高い指標となり得ることが示された。一方で、タウタンパク質（t-tau および p-tau）の測定については、測定間でのばらつきが大きく、安定した傾向を示すことが難しかった。このことから、前処理条件や抗体選択などの実験系の最適化が今後の課題として浮かび上がった。

さらに、本研究では Tyro3 の異なる領域を抗原としたポリクローナル抗体の作製も行った。この抗体群は、Tyro3 の全長体、CTF、ICD といった複数の切断産物を検出するために設計されており、今後の組織レベルでの局在解析や in vivo での発現動態の評価において、有用なツールとなることが期待される。

以上の研究から、TAM 受容体の一つである Tyro3 が段階的な切断を受けること、そしてその切断産物が多様であることが明らかとなった。これらの知見は、 $A\beta$ に対するミクログリアの食食応答や、AD におけるシグナル変化の解明に新たな視点を提供するものであり、今後のバイオマーカー開発や治療標的探索における基盤情報となると考えられる。細胞レベルの基礎的知見と臨床サンプルに基づくデータの双方を統合した本研究の成果は、AD の早期診断や病態評価への応用が期待される。

成果発表：

<原著論文>

- ・
- ・

＜学会発表＞

- ・ミクログリアが $A\beta$ を認識し貪食する際に利用するタンパク質である AXL の γ セクレターゼによる切断、長谷 萌花、柳田 寛太、新宮 愛、山口 敬子、岡田 健、福森 亮雄：30P-pm454、日本薬学会第 144 年会（横浜）、2024 年 3 月
- ・TAM 受容体 Tyro3 の段階的切断とその代謝機構の解析、柿原 光希、高嶋 結衣、山口 敬子、金宗 潤、柳田 寛太、福森 亮雄：29PB-429S、日本薬学会第 145 年会（福岡）、2025 年 3 月
- ・ミクログリアの増殖や生存に重要な分子である CSF1R の切断と細胞内局在、水田 梨穂、柳田 寛太、新宮 愛、山口 奈央、山口 敬子、金宗 潤、徳山 聖祐、福永 幸祐、村上 至仁、岡田 健、福森 亮雄：29PB-435S、日本薬学会第 145 年会（福岡）、2025 年 3 月

＜その他＞