

平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

| | | |
|-------------|-------|--|
| 事業名 | | 脳科学研究戦略推進プログラム |
| 研究開発課題名 | | 前頭側頭葉変性症の病態解明に基づく disease-modifying therapy の開発 |
| 機関名 | | 国立大学法人名古屋大学 |
| 研究開発 担当者 | 所属 役職 | 大学院医学系研究科 特任教授 |
| | 氏名 | 祖父江 元 |

2. 研究開発成果の内容

① FTLD のマウスモデルの作成と解析

FTLD マウスモデルの作成については、AAV を用いた shRNA の海馬特異的ノックダウンモデルを FUS および TDP-43 について平成 26 年度までに完了し解析もほぼ終了している。海馬特異的 FUS 抑制マウスモデルについて論文化を達成した。TDP-43 抑制モデルについて投稿準備中である。Camk2/Cre を用いた conditional KO マウスについて TDP-43 については平成 26 年度までに完了し病態解析を進めているが、長期記憶障害や電気生理学的な変化については抑制モデルよりも軽度であり、抑制モデルを中心に解析を進め論文投稿準備中である。FUS の conditional KO マウスについては flox-FUS のバッククロスが完了し、背景が統一された FUS-CKO マウスの作出を行った。これを用いて高次機能解析を行ったところ、FUS 抑制モデルと同様に情動を中心とした高次機能障害を認めることを見出した。これについても投稿準備中である。

② FTLD における神経変性を抑止する治療法の探索

平成 26 年度までの解析より FUS のターゲットとして、タウ isoform、GluA1 の発現、TDP-43 のターゲットとしてシナプス関連分子を複数同定した。これらは治療法のターゲット分子として有力であり、平成 27 年度は FUS が GluA1 の mRNA 安定化を通じて発現を制御していることを明らかにし、これらについて論文化した。また核内において FUS は SFPQ と結合しており、これらの RNA タンパク質が Mapt exon10 に結合して skipping をさせることを明らかにした。このことは FUS と SFPQ が選択的スプライシングの制御を通じて tau isoform (3R-tau、4R-tau) の比率の制御を行っていることを示しており、実際に海馬特異的ノックダウンマウスモデルを用いて FUS KD および SFPQ KD により 4R-tau/3R-tau 比率が増加することを示し、これらの高次機能障害、成体神経新生、脳萎縮・神経細胞脱落、リン酸化タウの蓄積が 4R-tau 特異的抑制を行うことで改善されることを明らかにした。また FTLD 患者剖検脳においても FUS と SFPQ の結合性が低下していることも明らかにした（現在投稿中）。

③ FTLD 初代培養神経細胞モデルを用いた治療薬探索

平成 26 年度までに判明した FUS ノックダウン初代培養グリア細胞におけるグリア由来の分泌因子の神経保護作用を in vivo において確認する予定であったが、治療ターゲット分子として GluA1 および

tau isoformを見出し、これらに研究資源を集中させたため pending とした。プロジェクト終了後に引き続き、in vivo での検討を行う予定である。

④ TDP-43 過剰発現マウスモデルにおける低分子化合物による治療

平成26年度までに繁殖を行った TDP-43 を大脳特異的に発現するマウスについて、表現型が明確でないことが明らかになった。平成27年度はこのマウスの表現型について検討を継続したが、TDP-43 が細胞質に核から局在変化すること以外に症状が乏しく、単独で治療薬投与の対象とすることが難しいと判断した。以上から本プロジェクトの期間内において永井グループで得られた治療薬候補 Tubastatin A を症状の変化を指標に完了することは困難であると判断した。引き続き行う脳プロ融合脳の課題の中で病理像を指標に治療の試みを行う予定である。

⑤ FTLD のバイオマーカーの開発

平成26年度までに尾状核とその周辺組織での特異的な萎縮や白質線維の障害が初期の認知機能低下や行動異常を検出可能なバイオマーカーとなりうるということを MRI 脳容積画像および拡散テンソル画像を用いて示し、病理学的にも尾状核において早期より神経細胞脱落が生ずることを示した。平成27年度はこれの論文化を進め、現在論文投稿中である。また尾状核の神経細胞脱落は、striosome が主体であることを見出し、併せて投稿準備中である。また、TDP-43、FUS、Tau (4-repeat および 3-repeat) の発現解析について、FUS と PSF との結合能と 4-repeat および 3-repeat 比の変化についても有意な差が存在することを見出しており、現在論文投稿中である。

⑥ FTLD の自然歴の解析

平成26年までに剖検例で確定した FTLD において大脳から脊髄への進行様式、および筋萎縮性側索硬化症との関係に連続性があることを見出し、これを論文化した。平成27年度は平成26年までに整備してきた前方向視的自然歴を剖検例で確定した症例の自然歴と対比し、病理学的確定例で後方視的に見出した筋萎縮性側角硬化症病変の合併が FTLD の強い予後不良因子であること、死因として肺炎が多いことを確認するとともに、臨床病型による入所や予後の違いを見出した。最終的な自然歴解析を完了させ、現在論文投稿準備中である。

⑦ プロジェクトの総合的推進

モデル動物を用いた研究では FUS と GluA1 について論文化を完了した。FUS と Tau isoform については論文投稿を完了し、リバイス中である。TDP-43 KD/KO モデルについての解析の論文化を基礎分野の共同研究者との連携のもと強力に推進し、臨床研究においては尾状核が FTLD の特異的病変部意である知見についての論文投稿を完了し、リバイス中である。