

## 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	革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト	
研究開発課題名	変性性認知症による脳機能ネットワーク異常の全容解明	
機関名	国立大学法人東京医科歯科大学	
研究開発 担当者	所属 役職	難治疾患研究所・脳統合機能研究センター 教授
	氏名	岡澤 均

## 2. 研究開発成果の内容

## ①マウスモデルとヒト脳を用いた新規トランスレータブル指標開発と分子病態解明

ヒトとマウスでアルツハイマー病態においてトランスレータブルな分子、アルツハイマー病態と FTLD 病態でトランスレータブルな分子についての平成 26 年度までの成果を踏まえて、平成 27 年度は、マウス＝ヒト共通かつアルツハイマー病と FTLD の病態で共通して変化する MARCKS リン酸化部位に対する抗体 (specific site-phospho-MARCKS 抗体) を作成し、抗体の特異性を確認したのちに、アルツハイマー病モデルマウス(5xFAD マウスならびに理研 APP ノックインマウス)及びヒトアルツハイマー病患者の脳組織の免疫染色を行った。その結果、すべての対象について、MARCKS 特定部位リン酸化がアミロイド凝集斑周囲の構造物に生じていることを発見した。老人斑周囲には変性神経突起が集積していることが古くから知られており、本抗体は変性神経突起を特異的に認識するものと考えられる。次に、神経細胞から活動依存的もしくは細胞死に伴って放出される HMGB1 が MARCKS 特定部位の異常リン酸化を引き起こしていることを確認した。さらに、特定部位リン酸化が MARCKS とアクチンの結合を弱め、シナプス後部の不安定性につながることを確認した。続いて、HMGB1 のモノクローナル抗体を企業 A と共同研究のもとに作成し、これを 5xFAD マウスに皮下注射を発症前に行ったところ、認知機能の有意な改善、MARCKS 特定部位異常リン酸化の減少、2 光子顕微鏡観察でのスパイン減少からの回復を認めた。これらの成果をまとめて、年度をまたいで 4 月初旬に論文投稿と特許申請手続きを行った。

また、アルツハイマー病態と FTLD 病態でトランスレータブルな braf 変化を踏まえて、B-raf 阻害剤の個体レベルの効果検証を行った。b-raf インヒビター vemurafenib の経口投与により、5xFAD マウスの 5 ヶ月齢の Y-maze において認知機能の有意な改善を認めた。このことは、アルツハイマー病と FTLD の共通病態をターゲットにすることにより治療法開発が可能であることを示唆している。

中核拠点で AD ならびに FTLD マーモセットが作成された際には、上記のトランスレータブル分子のマイクロ回路病態への関与について、共同研究を行う予定であるが、平成 27 年度の国立研究開発法人理化学研究所の岡野 PL グループとの事前打ち合わせでは、マーモセットモデルがまだ作成完了していない状況 (アミロイド沈着が見られないことも含めて) である。

一方、アルツハイマー病と FTLD のマイクロ回路病態を差別化する特異的病態についても多くの知見を得た。SRRM2 特定部位リン酸化はアルツハイマー病で生じるが FTLD では認めない。このリン酸化に関連すると予想されるスプライシング変化のターゲット候補分子を同定した。また、PKCalpha

の2つのリン酸化部位の変化は、重症型のアルツハイマー病モデル 5xFAD と APP マウスの2種類のみ変化し、他の軽症型のアルツハイマー病モデルと FTLD モデルマウス4種類では変化しないことを発見した。

#### ②遺伝子制御ウィルスベクター作成

回路病態を誘導する『鍵分子』候補である APP, PS1, tau, TDP43, MARCKS, SRRM2, GAPDH についてウィルスあるいはプラスミドベクター作成を平成27年度に作成を完了した。

#### ③マーモセットモデルの認知機能測定

動物実験施設に、認知機能測定装置を搬入し、その運用について、研究員を国立大学法人京都大学・霊長類研究所中村教授のもとに派遣し、研修を行っている。

#### ④マーモセットを用いた MARCKS リン酸化の上流解析

平成27年度は、中核拠点連携機関との共同研究の元に、MARCKS リン酸化の上流分子と考えられる①の HMGB1 についてマーモセット脳内へのインジェクションを行った。

#### ⑤プロジェクトの総合的推進

チーム会議および臨床グループ分科会において、プロジェクトの全体の融合を図るとともに、チーム内連携、中核機関との連携の促進を図った。