

## 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（超早期アルツハイマー病における画像診断を用いた鍵神経回路の同定と、タウ病理進展機構の解明）	
機関名	国立大学法人東京大学	
研究開発 担当者	所属 役職	大学院薬学系研究科 教授
	氏名	富田 泰輔

## 2. 研究開発成果の内容

## ①超早期アルツハイマー病における画像診断を用いた鍵神経回路の同定と、タウ病理進展機構の解明

MCI due to AD とプレクリニカル AD を含む認知機能健常高齢者を対象に、3 テスラ高磁場 MRI を用いた構造的 MRI, 安静時機能的 MRI, 拡散テンソル画像法、動脈スピララベル法などの MRI 画像データ、ならびにアミロイド PET 画像、認知機能データを取得し、脳萎縮、脳領域の機能的結合の障害と認知機能低下の関連を解析し、AD における認知症症状の鍵神経回路を同定するための臨床研究体制を、新・ヒト医学研究に関する倫理指針に沿った形で立ち上げ、被験者募集を開始し、初例として MCI 例の検査を完遂することができた。平成 28 年度に向けて、6 名の被験者候補も選定し、間断なく臨床研究が継続発展する体制を構築することができた。

## ②タウトランスジェニックマウス脳間質液中の異常な多量体タウ分子を検出する実験系の確立

平成 27 年度の達成目標としていた、タウ病変のシナプス伝搬に関与すると予測される、細胞外の異常タウタンパク質を検出する実験系の確立に関し、加齢依存的にタウを蓄積する P301S 変異型タウトランスジェニックマウス及びコントロールの野生型マウスにおいてマイクロダイアリシス法を用い脳間質液 (ISF) 中のタウを回収した。その結果 P301S 変異型タウトランスジェニックマウスの ISF では野生型マウスで見られない高分子量型タウが存在していることを見出した。またこのような高分子量型タウは、組織学的に明確なタウ蓄積の見られない若齢の P301S 変異型タウトランスジェニックマウスにおいても検出されることを明らかにした。さらにタウタンパク質の脳間質液中への放出が、神経細胞の活動依存的に生じていることを、picrotoxin の reverse microdialysis により検証した。またアルツハイマー病で早期にタウが蓄積する嗅内皮質から海馬への投射経路 perforant path に着目し、異常タウ分泌と回路依存的なタウ病理蓄積との関連を明らかにする目的で、嗅内皮質における Stabilized step function opsin (SSFO) 発現を用いたオプトジェネティクスにより、perforant path の光刺激により、海馬での活動依存的なタウ分泌を検出可能な実験系を立ち上げた。

アルツハイマー病の遺伝的リスク因子 (CALM, BIN1 など) の A $\beta$  およびタウ病態への影響を解析するため、それぞれの遺伝子改変マウスと AD モデルマウス (APP トランスジェニックマウス、タウトランスジェニックマウス) の交配によりコンジェニック AD モデルマウスの作出を進めた。PICALM

については、発現が半減したヘテロノックアウトマウスと APP トランスジェニックマウスの解析から、A $\beta$ に関しては Piriform cortex における病態形成が認められること、またそのメカニズムとして BACE1 や CALM の発現が高いことが観察された。一方内因性タウ発現には変動が見られなかったことを受けて、タウトランスジェニックマウスとの交配を開始した。同時に CALM による A $\beta$  病態への影響に関するメカニズム解析として、主に培養細胞を用いて CALM とホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸 (PI(4,5)P2) 結合が重要であることを見出した。さらに PI(4,5)P2 結合ドメイン中にアミノ酸残基置換 (Ile34Met) を起こす Rare variant rs146840505 (アレル頻度 0.001638) が存在することに着目し解析を進め、その Variant が PICALM と PI(4,5)P2 結合を抑制し A $\beta$  産生を低下させることを見出した。すなわち、rs146840505 はアルツハイマー病を予防する遺伝子アレルの可能性が示唆された。一方、BIN1 については神経細胞特異的なノックアウトマウス作出の目的で Nestin-Cre (発生初期からのノックアウト) および CamKII-Cre マウス (発生終了後からのノックアウト) との交配を行った。得られたマウスと AD モデルマウスを交配し、神経特異的 BIN1 ノックアウトを遺伝学的背景とする AD モデルコンジェニックマウスの作出を行う予定であったが、CamKII-Cre マウスでは Cre の発現が確認できなかったため交配を中止した。一方、Nestin-Cre を用いたマウスではコンジェニックマウスを得ることに成功したことから、平成 28 年度以降の解析を目指して繁殖を進めた。メカニズム解析としては、BIN1 の BAR ドメインが BACE1 の細胞質内ドメインに直接結合してエンドソームからリソソームへの輸送を制御していることを見出した。一般的に BAR ドメインはリン脂質と結合し脂質二重膜の屈曲率変化を引き起こすことが知られているが、BIN1 においてはカーゴタンパク質との結合にも使われるという新しい機能の解明に成功した。