

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名：(日本語) 創薬基盤推進研究事業  
(英語) Research on Development of New Drugs
- 研究開発課題名：(日本語) 神経変性疾患に対する革新的創薬研究のための新たな霊長類モデルの確立  
(英語) Establishment of a transgenic monkey model of the neurodegenerative diseases contributing new drug discovery
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター 神経研究所モデル動物開発研究部 部長 関和彦
- 所属 役職 氏名：(英語) National Center of Neurology and Psychiatry, National Institute of Neuroscience, Department of Neurophysiology, Director, Kazuhiko SEKI
- 実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) I.遺伝子改変マーマーモセットを用いた神経変性疾患研究の総合的推進と II.行動バイオマーカー検索
- 開発課題名：(英語) Project administration and behavioral phenotyping
- 研究開発代表者 (日本語) 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター 神経研究所モデル動物開発研究部 部長 関和彦
- 所属 役職 氏名：(英語) National Center of Neurology and Psychiatry, National Institute of Neuroscience, Department of Neurophysiology, Director, Kazuhiko SEKI
- 分担研究 (日本語) 神経変性疾患モデルマーマーモセットの作出
- 開発課題名：(英語) Generation of transgenic marmoset model for neurodegenerative diseases.
- 研究開発分担者 (日本語) 信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所 助教 富岡 郁夫
- 所属 役職 氏名：(英語) Institute for Biomedical Sciences, Interdisciplinary Cluster for Cutting Edge Research, Shinshu University, Assistant Professor, Ikuo TOMIOKA.

分担研究 (日本語) 生化学バイオマーカーの検索  
開発課題名: (英語) Development of Biochemical Disease Markers

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター TMC センター長 和田圭司  
所属 役職 氏名: (英語) National Center of Neurology and Psychiatry, Translational Medical Center, Director General, Keiji WADA

分担研究 (日本語) 非侵襲イメージングによるバイオマーカー検索  
開発課題名: (英語) Development of imaging biomarkers for transgenic marmoset

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター 脳病態統合イメージングセンター部長 花川 隆  
所属 役職 氏名: (英語) Integrative Brain Imaging Center, National Center of Neurology and Psychiatry, Director, Takashi HANAKAWA

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

中枢神経系疾患に対する創薬における大きなハードルが動物実験からヒト臨床試験への移行 (translation) である。これまで多くの前臨床試験はラットやマウスなどの齧歯類を用いて行われてきた。齧歯類は小型で繁殖効率がよく、遺伝子改変技術により作出された動物を容易にライン化できるため一般的には優れたモデル動物である。しかし、齧歯類の脳の構造や機能は解剖学的・生理学的観点からヒトと大きく異なる。従って、中枢神経系を対象とした細胞治療のモデル動物としては最適とは言い難く、そのため動物実験での実験結果がヒト臨床で制限されないリスクが充分考えられる。例えば、フリーラジカル除去剤である NXY-059 は動物モデルでは脳梗塞の治療に有効性が示されていたが、大規模臨床試験では治療効果が示されず、薬剤自体の開発も中止され大きな失望がもたらされた。そして、理由の一つに前臨床試験で用いられた動物モデルが不適切であった事が上げられている (New E J Med. 2007)。他の疾患、例えば神経変性疾患などでも齧歯類では効果の確認された薬剤が臨床試験では効果が示されなかった例は多い。ES・iPS 細胞技術などを用いて革新的な創薬が期待される現在、適切な動物モデルの必要性は過去にないほど高まっている。コモンマーモセットは霊長類の中では珍しく多産で、性成熟までの期間や妊娠期間、出産間隔が短い。そのため、マカク類と比較して圧倒的に繁殖効率がよく、さらに小型 (3-400g) のため高いスループットでの治療効果の検証が可能である。また前頭葉の割合がヒト同様に大きい・高い社会性を有するなど齧歯類に比べて脳構造・機能がヒトに近似しているという利点を有する。従って、コモンマーモセットによる疾患モデルの確立は、今後の創薬研究の臨床応用を飛躍的に促進する可能性がある。

NCNP では小型霊長類であるコモンマーモセットを対象に遺伝子改変技術を用いた疾患モデル確立のための技術開発を行い、世界で初めて出生後に発症するヒト疾患遺伝子を導入したトランスジェニックマーモセット (ポリグルタミン病) の作出に成功した (Tomioaka et al 2017)。本研究では、和田圭司センター長 (国立精神・神経医療研究センター TMC)、富岡郁夫助教 (信州大学先鋭領域融合研究群バイ

オメディカル研究所)、花川隆部長(国立精神・神経医療研究センター・脳病態統合イメージングセンター)らのグループとともに、この世界初の疾患モデルマウスセットのヒト疾患モデルとしての妥当性の検証を行う。そのために、当該モデル動物の病理解析及びライン化を行い、さらに発症時期を人為的に制御できるシステム(TET-on システム)を導入して、創薬研究などに利用しやすく改良を行なった。また、開発されたモデル動物を対象とした当該疾患の化学・脳イメージング・行動バイオマーカー検索を行なった。研究結果から、当該モデルによってポリグルタミン病を対象とした新たな創薬研究に有効であることが示された。

## 英文

Modeling human diseases in experimental animals via genetic engineering is an indispensable step in studying the pathomechanisms of and in developing therapies for intractable neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD), Huntington's disease (HD), and the spinocerebellar ataxias (SCAs). Indeed, various transgenic and knock-out/in mouse models of these neurodegenerative diseases have been developed, and have substantially contributed to the understanding of basic disease mechanisms. However, rodent models have limitations in translational research in terms of evaluating the therapeutic efficacy and metabolic profiles of drug candidates, as well as in developing disease biomarkers, mainly because of the differences in metabolism between humans and rodents. Furthermore, differences between humans and rodents in the structure and physiological functions of the brain have resulted in difficulties in reproducing the selective vulnerability of specific neurons or circuits in these mouse models. In addition, the small-sized brains of rodents are difficult to be analyzed anatomically or functionally in detail by *in vivo* imaging techniques such as magnetic resonance imaging (MRI) or positron emission tomography (PET). These limitations have resulted in the failure to predict the efficacy of clinical trials in human patients from the experimental findings obtained from rodent models of neurodegenerative diseases, lessening the preclinical value of rodent models. Therefore, the establishment of clinically relevant models of neurodegenerative diseases using non-human primates is imperative for accelerating our understanding of pathophysiological mechanisms and the development of clinically applicable therapies. Various non-human primate models of human diseases using the chimpanzee, rhesus macaque, cynomolgus macaque, common marmoset or common squirrel monkey have been reported (Chan, 2013). Among them, the marmoset, a small and a non-endangered non-human primate, offers many advantages regarding its reproductive features and small body size. Marmosets routinely ovulate multiple oocytes per ovarian cycle, have a short gestation period, and reach sexual maturity at around 1 year of age (Kishi et al., 2014). Their small body size also enables us to handle them with ease, which translates into lower caging and feeding costs. Furthermore, reproductive technologies for the marmoset, such as embryonic stem cells (Sasaki et al., 2005), transgenic animals with transgene germline transmission (Sasaki et al., 2009), and induced pluripotent stem cells (Tomioka et al., 2010), have been rapidly developed in just the past decade. These advantages of the marmoset compared with other non-human primates may provide better outcomes once it has been used in translational research.

In past, we successfully generated a marmoset model of the polyglutamine (polyQ) diseases, which are a group of inherited neurodegenerative diseases including HD and various types of SCAs. The polyQ diseases are caused in common by an expansion mutation of the polymorphic CAG repeat (> 35–40 repeats) encoding the glutamine stretch in each disease causative gene. One of the distinctive features of the polyQ diseases is a tight genotype-phenotype correlation between the number of CAG repeats and the age of disease onset, which makes it a promising avenue to establish a symptomatic transgenic marmoset model by genetic engineering.

In this three-year project, we further examined this model as a useful tool for a new drug discovery by establishing transgenic marmoset line and then by genotyping and phenotyping using behavioral measurement, non-invasive brain imaging, as well as omics analysis. Result suggest that the established line of transgenic marmoset shows some similar phenotype as the human disease and that it will be useful for the translational research.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2件、国際誌 9件)

1. I Tomioka, H Ishibashi, EN Minakawa, H Motohashi, O Takayama, Y Saito, HA Popiel, Sandra Puentes, K Owari, T Nakatani, N Nogami, K Yamamoto, S Noguchi, T Yonekawa, Y Tanaka, N Fujita, H Suzuki, H Kikuchi, S Aizawa, S Nagano, D Yamada, I Nishino, N Ichinohe, K Wada, S Kohsaka, Y Nagai, K Seki: Transgenic monkey model of the polyglutamine diseases recapitulating progressive neurological symptoms. *eNeuro*, 2017, 4(2), 0250-16.
2. Confais J, Kim G, Tomatsu S, Takei T, Seki K: Nerve-specific input modulation to spinal neurons during a motor task in the monkey. *J. Neurosci.* 2017, 2561-16.
3. Tomatsu S, Kim G, Confais J, Seki K: Muscle afferent excitability testing in spinal root-intact rats: Dissociating peripheral afferent and efferent volleys generated by intraspinal microstimulation. *J. Neurophysiol*, 2017, Vol. 117 no. 2, 796-807.
4. Yamada H, Yaguchi H, Tomatsu S, Takei Y, Oya Y, Seki K: Representation of Afferent Signals from Forearm Muscle and Cutaneous Nerves in the Primary Somatosensory Cortex of the Macaque Monkey. *PLoS One*. 2016, 11 (10): e0163948.
5. 関和彦: 体性感覚と手の運動. *Clinical Neuroscience* 中外医学社, pp174-177, 2017
6. Ishiguro T, Sato N, Ueyama M, Fujikake N, Sellier C, Kanegami A, Tokuda E, Zamiri B, Gall-Duncan T, Mirceta M, Furukawa Y, Yokota T, Wada K, Taylor JP, Pearson CE, Charlet-Berguerand N, Mizusawa H, Nagai Y, Ishikawa K. Regulatory Role of RNA Chaperone TDP-43 for RNA Misfolding and Repeat-Associated Translation in SCA31. *Neuron*. 2017 Apr 5;94(1):108-124.
7. Hatanaka Y, Kabuta T, Wada K. Disturbance in Maternal Environment Leads to Abnormal Synaptic Instability during Neuronal Circuitry Development. *Front Neurosci*. 2017 Feb 6;11:35.

8. Yamada D, Wada K, Sekiguchi M. Modulation of Long-Term Potentiation of Cortico-Amygdala Synaptic Responses and Auditory Fear Memory by Dietary Polyunsaturated Fatty Acid. *Front Behav Neurosci*. 2016 Aug 23;10:164.
9. Hatanaka Y, Wada K, Kabuta T. Maternal high-fat diet leads to persistent synaptic instability in mouse offspring via oxidative stress during lactation. *Neurochem Int*. 2016 July ; 97:99-108.
10. Takamura T, Hanakawa T: Clinical utility of resting-state functional connectivity magnetic resonance imaging for mood and cognitive disorders. *J Neural Transm* 2017 (doi: 10.1007/s00702-017-1710-2)
11. 花川 隆 : 認知症の fMRI. *神経内科* 86(4): 413-417, 2017.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 遺伝子改変霊長類を用いた精神・神経疾患研究、口頭、関和彦、国立精神・神経医療研究センター山梨大学医学部合同シンポジウム、20170203、国内
2. ポリグルタミン病モデルマーモセットのライン化及び表現型解析 (1)、ポスター、野上尚武、関和彦、マーモセット研究会. 東京大学農学部弥生講堂: 20161212 – 20161214、国内
3. ポリグルタミン病モデルマーモセットのライン化及び表現型解析 (2) 行動表現型評価方法の確立. ポスター、小泉昌司、関和彦、マーモセット研究会. 東京大学農学部弥生講堂: 20161212 – 20161214、国内
4. 疾患モデルマーモセットの運動機能解析、口頭、関和彦、第 1 回脳情報の解読と制御研究会. 別府湾ロイヤルホテル: 20161122、国内
5. Generation of transgenic marmoset line with polyglutamine disease and behavioral phenotyping., ポスター, K. Owari, N. Nogami, T.Nakatani, M.Koizumi, H. Ishibashi, Y. Nagai, I. Tomioka, K. Seki, Neuroscience2016. San Diego Convention Center, 20161114, 国外
6. Differential adeno-associated virus mediated gene transfer to dorsal root ganglion neurons with different size in common marmosets, ポスター, Moeko Kudo, Sidikejiang Wupuer, Ken-ichi Inoue, Masahiko Takada, Kazuhiko Seki:. 第 39 回日本神経科学大会. パシフィコ横浜: 20160722, 国内
7. Characterization of somatosensory and motor cortices in common marmosets using nanocoated electrocorticographic electrodes, ポスター, Akito Kosugi, Mitsuaki Takemi, Castagnola Elisa, Ricci Davide, Kenta Sato, Takafumi Nakamura, Tia Banty, Kazuhiko Seki, Fadiga Luciano, Atsushi Iriki, Junichi Ushiba, 第 39 回日本神経科学大会. パシフィコ横浜: 20160722, 国内
8. SCA3 モデルマーモセットの作出、口頭、富岡郁夫、石橋英俊、本橋秀之、高山修、斉藤裕子、皆川栄子、ポピエル明子、プエンテスサンドラ、山本和弘、野口悟、藤田尚子、尾張健介、中谷輝美、西野一三、和田圭司、高坂新一、永井義隆、関和彦、第 57 回日本神経学会学術大会、神

戸、2016年5月20日、国内

9. 「多臓器円環研究」の哲学と神経疾患, 口頭, 和田圭司, 第59回日本神経化学学会大会, 2016/9/8~10, 国内.
10. Emotional behavior and the common hepatic branch of the vagus nerve, Sekiguchi M, Yamada D, Koppensteiner P, Odagiri S, Yamada T, Katagiri H, Wada K, 第39回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
11. Maternal high-fat diet leads to persistent synaptic instability in mouse offspring via oxidative stress during lactation, 畑中悠佑, 和田圭司, 株田智弘, 第59回日本神経化学学会大会, 2016/9/8~10, 国内.
12. 脳内機能的統合研究の現状, 口頭, 花川隆, 第46回日本臨床神経生理学会総会 教育講演, 2016/10/27, 国内.
13. 運動異常の理解と制御の試み, 口頭,花川隆,日本大脳基底核研究会, 2016/7/23, 国内.
14. Correlational and manipulative neuroscience toward development of novel rehabilitation for motor impairment. 口頭, Hanakawa T, Japan-Italy international meeting on Embodied-brain System Sciences. 2016/06/01, 国外.
15. Development of a PET probe targeting P2X7 receptor for imaging neuroinflammation, ポスター, Shukuri M, Kato K, Kumamoto T, Ihara N, Hanakawa T, Neuroscience 2016, 2016. 国外
16. 安静時脳機能結合 MRI の基礎と臨床応用, 口頭,花川隆, 第57回日本神経学会学術集会「臨床脳神経イメージングセミナー」,2016/05/21, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. システム神経科学研究者の作り方, 関和彦, 第9回神経化学の若手研究者育成セミナー(第59回日本神経化学学会大会分会). 福岡国際会議場: 20160908、国内
2. 脳による運動制御, 関和彦, 早稲田大学理工学術院「神経科学の最前線—基礎編」, 2016/6/28, 国内
3. 精神・神経疾患の病態解明に関する研究, 関和彦, 東大精密工学特別講義 I , 2016/5/6, 国内
4. 身体と脳, 関和彦, 早稲田大学理工学術院「神経科学の最前線—基礎編」, 2016/4/19, 国内
5. 神経変性疾患: 予防と治療の新視点, 和田圭司, 昭和大学学士会後援セミナー. 東京、20161209、国内
6. リハビリテーションに役立つ脳イメージング入門, 花川隆, 平成28年度 区東部地域リハビリテーション支援センター研修会, 2016/10/17, 国内
7. 大脳基底核障害と運動学習, 花川隆, 札幌医科大学集学的理学療法セミナー(神経障害系分野), 2017/1/20, 国内
8. ヒト歩行制御機構のメカニズムから再考するリハビリテーション, 花川隆, 京都理学療法研究会, 2017/1/22, 国内

(4) 特許出願

なし