

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) 脳科学研究戦略推進プログラム
(英語) Strategic Research Program for Brain Sciences

研究開発課題名： (日本語) 前頭側頭型認知症の分子標的治療薬・バイオマーカー開発による disease-modifying therapy への展開
(英語) Development of molecular-targeted therapeutics and biomarkers for FTLD aiming to new disease-modifying therapies

研究開発担当者 (日本語) 名古屋大学大学院医学系研究科 特任教授 祖父江 元
所属 役職 氏名： (英語) Nagoya University Graduate School of Medicine,
Designated Professor, Gen Sobue

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

三大認知症の1つである前頭側頭型認知症(前頭側頭葉変性症:FTLD)は人格変化、言語障害、記憶力障害などを特徴とする進行性の行動異常が特徴であるが病態の多くが不明であり、早期診断法と治療法の開発が急務である。本課題では、FTLDの disease-modifying therapy への展開を視野に、核酸医療を中心にタウとさらに TDP-43 発現の制御を可能にする治療法を開発し、ヒト FTLD 画像・病理と FTLD 動物モデルから見出した早期病態に深く関与する分子や解剖学的構造に着目し、従来の研究成果を発展させ早期診断と病態把握を可能とする統合分子イメージングバイオマーカーを開発する。平成 28 年度は、オリジナリティの高い核酸医療開発するために、MAPT と TDP-43 をターゲットとした手法をソフトウェアで配列を決定設計し、スモールスケールで合成した後に、培養細胞に導入して RT-PCR で効果を判定することで、スクリーニングを行った。スクリーニングの後に野生型マウスに導入することで in vivo での効果も確認した。また同時に、ヒト化タウマウス、ヒト TDP-43 Tg マウスの導入を完了した。イメージングについては PET、MRI/1H-MRS を使い、尾状核を中心に早期の細胞障害・代謝・タンパク質の変化を捉える診断技術を開発のための基盤準備として 1H-MRS について LC model を導入し、FTLD/ALS の基底核所見について予備的検討を開始した。MRI は、尾状核の萎

縮を個々の症例において定量的に測定出来るシステム開発を進めた。並行してFTLDモデル動物を用いて発症メカニズムをさらに探究する目的で、タウ Tg マウスを用いた PET 予備実験を実施した。

Frontotemporal lobar degeneration (FTLD) is a progressive neurodegenerative disease characterized by behavior abnormalities including personality changes, language impairments, and cognitive decline. It is one of three most common dementia but the pathophysiological mechanisms underlying FTLD have not been clarified. It is expected to establish early diagnostic marker(s) and disease-modifying therapy(s) for FTLD. We will develop new oligonucleotide therapeutics that can regulate tau and TDP-43 expression, and will generate molecular imaging biomarkers which can detect early pathophysiological changes in the disease. For these purposes, we designed target sequences by a software, screened them using HEK293 cells, and validated the in-vivo effects in mouse brain. We also started to breed humanized tau/TDP-43 models for the further investigation. As for imaging, we installed LC model 1H-MRI as a preliminary basic tool to detect early changes in cellular-damage and/or protein modification in the caudate and its related brain area. We also developed an MRI system to quantify the caudate atrophy in each case. Along with the human study, we preliminarily performed a PET study using tau transgenic mice to evaluate the pathogenesis of FTLD.

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 件、国際誌 3 件）

1. Masuda M, Senda J, Watanabe H, Epifanio B, Tanaka Y, Imai K, Riku Y, Li Y, Nakamura R, Ito M, Ishigaki S, Atsuta N, Koike H, Katsuno M, Hattori N, Naganawa S, Sobue G. Involvement of the caudate nucleus head and its networks in sporadic amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal dementia continuum. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2016, 17, 571-9.
2. Riku Y, Watanabe H, Yoshida M, Mimuro M, Iwasaki Y, Masuda M, Ishigaki S, Katsuno M, Sobue G. Marked Involvement of the Striatal Efferent System in TAR DNA-Binding Protein 43 kDa-Related Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2016 Jun 26. pii: nlw053. [Epub ahead of print]
3. Ishigaki, S., Fujioka, Y., Okada, Y., Riku, Y., Udagawa, T., Honda, D., Yokoi, S., Endo, K., Ikenaka, K., Takagi, S., Iguchi, Y., Sahara, N., Takashima, A., Okano, H., Yoshida, M., Warita, H., Aoki, M., Watanabe, H., Okado, H., Katsuno, M., and Sobue, G. Altered Tau Isoform Ratio Caused by Loss of FUS and SFPQ Function Leads to FTLD-like Phenotypes. *Cell Rep.* 2017, 18, 1118-1131.
4. 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, 94(1), 108-124.
5. Koga S, Ono M, Sahara N, Higuchi M, Dickson DW. Fluorescence and autoradiographic evaluation of tau PET ligand PBB3 to a-synuclein pathology. *Movement Disorder online*: 25 Apr 2017, DOI: 10.1002/mds.27013
 6. Ono M, Sahara N, Kumata K, Ji B, Ni R, Dickson DW, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Yoshida M, Hozumi I, Yoshiyama Y, Nordberg A, Suhara T, Zhang M-R, Higuchi M. Distinct binding of two PET ligands, PBB3 and AV-1451, to tau fibril strains in Alzheimer's disease and related neurodegenerative tauopathy disorders. *Brain* 2017 140(3): 764-780

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Neural network disruption in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration, 口頭, Watanabe H, Masuda M, Imai K, Riku Y, Ishigaki S, Epifanio Bagarinao, Atsuta N, Katsuno M, Sobue G, 第 57 回日本神経学会学術大会シンポジウム, 2016/5/17, 国内
2. 脳タンパク質老化とマクロ神経回路破綻, 口頭, 渡辺宏久, 勝野雅央, 祖父江 元, 第 46 回新潟神経学夏期セミナー, 2016/07/29, 国内
3. 前頭側頭型認知症の病態診断, 口頭, 渡辺宏久, 勝野雅央, 祖父江 元, 第 30 回老年期認知症研究会, 2016/07/30, 国内
4. 若年性認知症への超早期介入と支援の可能性, 口頭, 渡辺宏久, 勝野雅央, 祖父江 元, 第 21 回日本神経精神医学会, 2016/09/18, 国内
5. 認知症の克服に向けて, 口頭, 祖父江 元, 第 70 回日本交通医学会総会 特別講演 III, 2016/6/11, 国内
6. 認知症の病態に基づく治療開発 神経変性性認知症を中心に, 国内, 祖父江 元, 認知症研究を知る若手研究者の集まり, 2016/7/30, 国内
7. Visualization of tau protein accumulation and neural network breakdown with aging and dementia, 口頭, 祖父江 元, *Brain Connects* 2016, 2016/9/24, 国外
8. Functional linkage between FUS and tau in ALS/FTLD, 口頭, Ishigaki S, Fujioka Y, Honda D, Yokoi S, Okado H, Watanabe H, Katsuno M, Sobue G. シンポジウム, The 39th annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2016/7/20, 国内
9. Accumulation of phosphorylated tau in neurons in FUS-silenced mice. Ishigaki S, Fujioka Y, Honda D, Yokoi S, Endo K., Okado H, Watanabe H, Katsuno M, Takashima A., Sobue G. 口頭, The 46th Society for Neuroscience annual meeting, San Diego, CA, 2016/11/12-16, 国外
10. Loss of SFPQ, an intra-nuclear counterpart of FUS causes FTLD-like phenotypes. Fujioka Y, Ishigaki S, Yokoi S, Honda D, Okado H, Watanabe H, Katsuno M, Sobue G. ポスター, The 46th Society for Neuroscience annual meeting, San Diego, CA, 2016/11/12-16, 国外
11. Elucidating molecular pathomechanisms of C9-linked ALS/FTD using *Drosophila* models. 口頭, Nagai Y, Ueyama M, Ishiguro T, Onodera O, Ishikawa K, Wada K, Petrucelli L. *International Asidan Symposium* 2016. 2016/7/1-2, 国内.

12. Toxicity of dipeptide repeat proteins in C9 ALS/FTD model fly. ポスター, Ueyama M, Ishiguro T, Gendron TF, Fujikake N, Konno T, Koyama A, Onodera O, Ishikawa K, Wada K, Petrucelli L, Nagai Y. 11th Brain Research Conference. 2016/11/10-11, 国外.
13. Identification of target mRNA transported to axons by TDP-43. ポスター, Nagano S, Ueyama M, Wada K, Nagai Y, Araki T. 11th Brain Research Conference. 2016/11/10-11, 国外.
14. ショウジョウバエモデルを用いた神経変性疾患研究. 口演, 永井義隆. 第 57 回日本神経学会学術大会. 2016/5/18-21, 国内.
15. Neuronal toxicity of TDP-43 is associated with the dysfunction of ribosomal proteins in axons. 口演, 長野清一、上山盛夫、和田圭司、永井義隆、齊藤祐子、荒木敏之. 第 57 回日本神経学会学術大会. 2016/5/18-21, 国内.
16. Repeat associated non-ATG translation in *Drosophila* C9ALS/FTD model. ポスター, 上山盛夫、石黒太郎、藤掛伸宏、今野卓哉、小山哲秀、小野寺理、和田圭司、永井義隆. 第 57 回日本神経学会学術大会. 2016/5/18-21, 国内.
17. FUS regulates synapse structure and function at the neuromuscular junctions by *Drosophila* ALS model. ポスター, 東裕美子、徳田隆彦、櫛村由紀恵、山本格、京谷茜、吉田英樹、吉田誠克、水田依久子、上山盛夫、永井義隆、中川正法、水野俊樹、山口政光. 第 57 回日本神経学会学術大会. 2016/5/18-21, 国内.
18. The functional analysis of TDP-43 by *Drosophila* ALS model. ポスター, 櫛村由紀恵、徳田隆彦、東裕美子、山本格、京谷茜、吉田英樹、吉田誠克、水田依久子、上山盛夫、永井義隆、中川正法、水野俊樹、山口政光. 第 57 回日本神経学会学術大会. 2016/5/18-21, 国内.
19. 異常タンパク質の凝集・蓄積と神経変性疾患. 口演, 永井義隆. 第 25 回日本神経学会近畿地区生涯教育講演会. 2017/3/5, 国内.
20. C9ALS/FTD モデルショウジョウバエにおけるジペプチドリピートタンパク質の毒性. 口演, 上山盛夫、石黒太郎、Gendron TF、藤掛伸宏、今野卓哉、小山哲秀、小野寺理、石川欽也、和田圭司、Petrucelli L、永井義隆. 第 88 回日本遺伝学会大会. 2016/9/7-9, 国内.
21. FUS regulates synapse structure and function at the neuromuscular junctions by *Drosophila* ALS model. ポスター, 東裕美子、徳田隆彦、櫛村由紀恵、山本格、中村綾、水田依久子、上山盛夫、永井義隆、中川正法、水野俊樹、吉田英樹、山口政光. 第 39 回日本分子生物学会. 2016/11/30-12/2, 国内.
22. The functional analysis of TDP-43 by *Drosophila* ALS model. ポスター, 櫛村由紀恵、徳田隆彦、東裕美子、山本格、中村綾、奥主隆太、上岡伊吹、京谷茜、吉田英樹、水田依久子、上山盛夫、永井義隆、中川正法、水野俊樹、山口政光. 第 39 回日本分子生物学会. 2016/11/30-12/2, 国内.
23. in vivo multimodal imaging of tauopathy revealed a rapid turnover of pathological tau inclusions in a tauopathy mouse model, 口頭, Naruhiko Sahara, Hiroyuki Takuwa, Ai Ishikawa, Takuya Urushihata, Takeharu Minamihisamatsu, Masaki Tokunaga, Masafumi Shimojo, Shoko Uchida, Izumi Matsumoto, Ming-Rong Zhang, Tetsuya Suhara, Makoto Higuchi, SFN2016北米神経科学会, 2016/11/16, 国外.
24. Investigating the link between pathological tau accumulation, neuroinflammation and brain atrophy in a model of tauopathy, ポスター, Naruhiko Sahara, Ai ishikawa, Masaki Tokunaga, Takeharu Minamihisamatsu, Maiko Ono, Shoko Uchida, Izumi Matsumoto, Hiroyuki Takuwa, Ming-Rong Zhang,

Tetsuya Suhara, Makoto Higuchi, Alzheimer's association international conference, Alzheimer's Association, 2016/07/24, 国外.

25. 遺伝子改変マウスを用いた新しい創薬・薬理学研究の展開, 口頭, 佐原成彦, 第90回日本薬理学会年会, 公募シンポジウム, 長崎市, 2017/3/17, 国内
26. ¹H-MRS 用シーケンス SPECIAL と PRESS における信号雑音比の比較, 口頭, 佐藤直人, 高堂裕平, 富安もよこ, Hyerin Oh, Jamie Near, 吉川宏起, 樋口真人, 小島隆行, 第29回臨床MR脳機能研究会, 2017/04/08, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 認知症に寄り添う～地域生活継続可能な社会に向けて～ 認知症の診断, 渡辺宏久, 勝野雅央, 祖父江 元, 日本医師会生涯教育協力講座, 2016/05/14, 国内
2. 認知症の最新の研究と治療, 渡辺宏久, 勝野雅央, 祖父江 元, 名古屋市千種区認知症地域連携の会 平成 28 年度認知症市民講座 2016/07/14, 国内
3. 認知症の最新の研究と治療, 渡辺宏久, 勝野雅央, 祖父江 元, 名古屋市千種区認知症地域連携の会 平成 28 年度専門職研修会 2016/11/24, 国内
4. ALS 病因究明・治療法開発の歩みと展望, 祖父江 元, 日本 ALS 協会創立 30 周年記念総会特別講演, 2016/5/28, 国内
5. ALS 病因究明・治療法開発の歩みと展望, 祖父江 元, ALS 協会愛知県支部総会, 2016/6/5, 国内
6. 脳タンパク質の老化と神経機能・認知症制御, 祖父江 元, 千里ライフサイエンス新適塾「脳はおもしろい」第 13 回会合, 2016/6/29, 国内
7. タンパク質老化と認知症, 祖父江 元, 新学術領域「プラズマ医療の創成」市民公開講座 ひらめきときめきサイエンス「のぞいてみようプラズマと生物と医療の不思議な世界」, 2016/8/10, 国内
8. 脳の老化と認知症予防, 祖父江 元, 脳とこころの研究センター 市民公開講座『名古屋大学における脳とこころの病気の研究最前線, 2017/1/29, 国内

(4) 特許出願