

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) the Strategic Research Program for Brain Sciences

研究開発課題名： (日本語) 認知症関連シード制御機構の解明と治療基盤の開発
(英語) Development of therapeutic basis for dementia related disorders by elucidating the seeding mechanism

研究開発担当者 (日本語) 脳科学研究科 教授 貫名 信行
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Brain Science, Professor, Nobuyuki Nukina

実施期間： 平成 28 年 11 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

認知症関連神経変性疾患において異常タンパク質の沈着集積は共通の病態と考えられている。さらに近年このような異常タンパク質がプリオンと同様に伝播することによって病変が広がるという説が提唱されている。貫名信行教授 (同志社大学大学院脳科学研究科) らは伝播現象の本態を明らかにするとともに、異常タンパク質の構造特異性についても疾患特異性、病変特異性の観点から検討を加え、診断・治療開発の基盤を形成することを目指している。

本年度は異常シヌクレインシードの伝播実験をマウスを用いて行い、その伝播が順行性、逆行性の神経回路依存性であることを同定した。すなわち片側の線条体に *in vitro* で合成したマウスシヌクレインを凝集させシヌクレインシードとして注入した。0.75 ヶ月、1.5 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月に封入体形成の分布を検討した。線条体中型有棘細胞の軸索のマーカーとしてグループが同定した、sodium channel beta4 subunit, Nav1.2 によって染まる投射線維上に封入体が存在することから順行性に、TH (Tyrosine hydroxylase) 陽性線維上に封入体が存在することから逆行性にシードは運ばれていることが示唆された。対側への伝播が軸索輸送によるものであることを確認するため、脳梁離断を行いその病理を検討したところ、注入前に脳梁離断を行うと対側の封入体が激減することから、軸索輸送を介して、対側にシードが移動していることが示唆された。

異常シヌクレインの特性を明らかにするため、その一次構造の異なるシヌクレインを作製し、凝集形成に対する影響を検討した。すなわち伝播実験に関連して「種の壁」が *in vitro* でも存在するかどうかをマウス、ヒトのシヌクレインシードを用いて検討した。この結果シードによって incubation time が異なることから、ヒト、マウスのアミノ酸が異なる7つの変異に基づきヒトシヌクレインにマウスシヌクレインの変異を加えた変異体を7種作製し、凝集形成を検討した。さらに既報の疾患突然変異をヒトシヌクレインに導入したシヌクレインも合成し、その凝集特性を検討している。

さらにシード特性の疾患依存性を検討するため、疾患脳からの異常シード増幅を試みるため、*in vitro* 合成したシヌクレインの PMCA (protein misfolding cyclic amplification) 法によるシヌクレインシード増幅の条件を確立した。また疾患脳の異常シヌクレインの分布を検討した。

Abnormal accumulation and aggregation of proteins, such as tau and synuclein are main pathological features of dementia-related neurodegenerative disorders. Recently, the hypothesis that those proteins are transmitted and propagated like prion is proposed. In this project, we will elucidate the regulatory mechanism of transmission and propagation, and the structural specificity of those abnormal proteins to each disease and brain lesions. We will further develop the diagnostic and therapeutic basis for those diseases.

In this year, we performed synuclein seeds propagation experiment using mice. We injected the synuclein seeds and found synuclein inclusions colocalized with sodium channel beta4 subunit and Nav1.2, which are markers for axons of medium spiny neurons and with tyrosine hydroxylase, which is a marker for axons derived from neurons in substantia nigra. The result suggests the seeds are transmitted through anterograde and retrograde transport. We also performed the collasotomy before injecting the seeds, resulting the drastic reduction of inclusions in the contralateral side. It is suggested that the seeds are transmitted through the neural circuit.

To elucidate the property of seeds, we made different synucleins with disease mutations and analyzed their aggregation property. We analyzed the distribution of abnormal synuclein in synucleinopathy brains and also established the seed amplification system using protein misfolding cyclic amplification.

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 0 件、国際誌 0 件)

無し

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

無し

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
無し

(4) 特許出願
無し