

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) 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
(英語) Brain mapping by integrated neurotechnologies for disease studies

研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Comprehensive researches to elucidate neuro-network dysfunctions in neurodegenerative dementias

研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学 教授・センター長 岡澤 均

所属 役職 氏名： (英語) Tokyo Medical and Dental University, Professor, Hitoshi Okazawa

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)

開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

『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』が重点を置くマーモセットは、分子レベル、神経細胞レベル、神経回路レベルのヒトとの相同性が極めて高いことが最大の利点である。中核拠点との協力によりマーモセットモデルの利点を生かしつつ、臨床グループ・神経変性疾患チームは大きく2つの目標を目指す。第1の目標は、3大神経変性性認知症を対象として、ヒト認知症のマイクロ・マクロ神経回路の病的変化の全体像を解析し、3大認知症神経回路病態の共通性・特異性を解明することにある。第2の目標は、それらの情報を中核拠点などと共有し、これらの情報を利用した神経変性疾患の革新的治療技術を中核拠点と協同して開発することにある。また、これらを通じて、神経変性疾患チーム内外の共同研究の推進を行う。これらの目的に沿って、平成28年度の研究を行い、特に以下の成果を得た。

東京医科歯科大学・岡澤らは、アルツハイマー病の発症前・凝集前の超早期に変化を示すことが先行研究から

示された MARCKS リン酸化 (Tagawa et al, Hum Mol Genet 2015) について、さらに解析を進め、超早期変化に対応するリン酸化部位が Ser46 であること、細胞障害性シグナルを拡散する DMAPs の一つである HMGB1 の刺激に pSer46-MARCKS が誘導されること、TLR4-ERK/JNK の経路を介すること、pSer46-MARCKS が神経突起変性の原因と直結するバイオマーカーであること、抗 HMGB1 抗体の投与によってアルツハイマー病モデルマウスの発症を遅らせることができること、を示した(Fujita et al, Sci Rep 2016)。

名古屋大学・祖父江らは、画像および病理学的に尾状核頭とその関連するネットワークは前頭側頭葉変性症 (FTLD) の超早期変化であることを見出して報告した (JNEN. 2016, ALS/FTD 2016)。さらに、本所見から、尾状核ネットワークに関連する意思決定課題である確率逆転学習を FTLD/ALS に施行したところ、FTLD/ALS では認知機能障害が明らかでは無い段階から健常者に比べて特異な意思決定様式を示すことを見出した。マーモセット FTLD モデルについては大脳皮質に AAV を用いて FUS をノックダウンしたモデルの検証を行い、shRNA の効果と細胞死などの毒性がないことを確認した。また同様に尾状核に AAV を用いて FUS をノックダウンしたモデルを作出しネットワーク解析を行っている。

東京大学・富田らは、光遺伝学的手法を用い嗅内皮質の刺激が海馬 ISF タウ量を増加させるというマウス実験モデルを確立し、神経回路特異的なタウ病理の進展を検討することが可能になった。また遺伝学的アルツハイマー病危険因子である PICALM、BIN1 がそれぞれ γ セクレターゼ、 β セクレターゼの細胞内輸送と A β 産生活性を制御していることを明らかとした (Kanatsu et al., Hum Mol Genet 2016; Miyagawa et al., Hum Mol Genet 2016)。東京大学医学部附属病院における脳老化画像研究の PET 撮像体制を国立精神神経医療研究センターグループと合同で確立し、29 年度からのアミロイド PET 評価を可能とすると同時に J-ADNI 既存 MRI 脳容積データのネットワーク解析を行った。

順天堂大学・服部グループは、服部グループ PD モデルマーモセットとして、CHCH2 トランスジェニックマーモセット作製用ベクター構築を完了し、作出を開始した。また PD 患者特異的に、核酸テンソル画像の変化 (放射性拡散率の上昇) と相関するポリアミン代謝産物を同定した (アルツハイマー型認知症・進行性核上性麻痺では認めなかった)。

国立精神神経医療研究センター・松田グループは、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における認知症グループとして、選択基準を満たす MCI と健常高齢者 (プレクリニカル AD を含む) を主とする対象に、構造および繊維連絡 MRI、アミロイドおよびタウ PET ならびに認知機能データを取得した。内側側頭構造における CA1 や海馬支脚および嗅内皮質の体積が減少していくにつれ、タウ蓄積が側頭葉新皮質に進展していくこと、さらに認知機能が低下していくことがわかった。また、プレクリニカル AD では、経年的に構造ネットワークの障害が起きていくことを検出した。

順天堂大学・青木らは、NODDI などの次世代拡散 MRI(Kamagata K. Expert Rev Neurother. 2016) やミエリンマップ (Hagiwara A. AJNR 2017) を用いて変性性認知症等の白質の変性の部位、程度、方向を検討するとともに、拡散 MRI の検証と、トランスレーショナルリサーチとしてマウス脳の ex vivo study を行い、次世代拡散 MRI で得られる各種パラメータと、その後透明化した脳の 2 光子顕微鏡等による組織学的な構造について比較検討した (Kamagata K. MRMS 2016, Sato K. Acta Radiol open 2017)。

量子科学技術研究開発機構・樋口らは、高コントラストの次世代タウ PET プローブを用いた探索臨床研究を開始した。 α シヌクレイン PET プローブも、正常マウスの PET により候補化合物の脳内動態を確認した。TDP-43 の PET プローブ開発は、構造活性相関を示す所見が得られた。炎症プローブとして、トランスロケータータンパク新規 PET プローブのげっ歯類・霊長類での評価を実施した。さらに DREADD の PET イメージングと DREADD を介した神経回路の操作を実現した (Nat Comm 2016; J Neurosci 2016)。

東京都医学総合研究所・長谷川らは、TDP-43 伝播モデル構築のため、2 種類の TDP-43 合成ペプチド線維を

野生型マウスの脳に接種し、接種後 3 ヶ月に病理を免疫染色で観察したが、異常 TDP-43 病変は検出されなかった。また ALS 患者脳の不溶化 TDP-43 を質量分析で解析し、リン酸化、脱アミド化、ユビキチン化部位を同定した。また、野生型マーモセットの脳にマウス α シヌクレイン線維を接種し、3 ヶ月後に免疫組織学的検討を行った結果、リン酸化 α シヌクレイン、p62、ユビキチン、チオフラビン陽性の病変と共に、黒質のチロシン水酸化酵素-陽性神経細胞の減少も確認された(Shimozawa et al, *Acta Neuropathol Commun* 2017)。

英文

Marmoset is a new model that has a great advantage in investigation of molecular, cellular and neural circuit levels of pathologies highly homologous to human patients, which is one of the main focuses of BRAIN/MINDS. Taking the advantage of marmoset model by collaborating with central institutes of BRAIN/MINDS, our neurodegenerative disease research group aims for revealing chronological changes of micro/macro-neurocircuit pathologies focusing on the commonality and specificity across multiple types of degenerative dementia, and for elucidating morphological, functional and molecular bases of neurodegenerative dementia, and apply the knowledge to therapeutic development. This group also supports collaboration with the central institutes and with the other clinical research groups. Along these aims of neurodegenerative disease research group, we conducted the research programs in 2016 and obtained the outstanding results as following.

The Okazawa group at Tokyo Medical and Dental University advanced investigation of MARCKS phosphorylation that had been shown changed at the ultra-early phase of Alzheimer' s disease by their previous study (Tagawa et al, *Hum Mol Genet* 2015). They showed this year that MARCKS is phosphorylated at Ser46 in the ultra-early phase of Alzheimer' s disease; a DAMP molecule HMGB1 induces phosphorylation of MARCKS at Ser46; HMGB1-TLR4-ERK/JNK pathway mediates the phosphorylation; pSer46-MARCKS is a direct biomarker of neurite degeneration; anti-HMGB1 antibody therapy delays the onset of Alzheimer' s disease model mice (Fujita et al, *Sci Rep* 2016).

The Sobue group at Nagoya University reported that the caudate nucleus head and its networks were the most vulnerable to lesion in sporadic FTLD/ALS patients associated with cognitive decline with FTD features (JNEN. 2016, ALS/FTD. 2016). Based on the present findings, we performed probabilistic reversal learning test, which can assess the abnormality of decision making related to the caudate nuclear network involvement in patients with FTLD/ALS. The patients presented a characteristic decision making pattern prior to present of cognitive decline compared to healthy subjects. The group has performed histological analysis on a FUS-silencing marmoset by injecting AAV encoding shRNA against FUS into the cortex. The group verified the effect of FUS suppression by shRNA and found no apparent toxicity by AAV injection. The group also generated a caudate-specific FUS-silencing marmoset model using the same technique.

The Tomita group at The University of Tokyo established the model system that optogenetic stimulation in entorhinal cortex neurons rapidly increased ISF tau in hippocampus for analysis of circuit specific-tau pathology spreading. They also revealed that PICALM and BIN1, genetic risk factors for Alzheimer disease, affected the intracellular trafficking of β - and γ -secretase, respectively, to alter the A β production (Kanatsu et al., *Hum Mol Genet* 2016; Miyagawa et al., *Hum Mol Genet* 2016). The University of Tokyo Hospital has established a network for amyloid PET imaging in collaboration with NCNP group, enabling the clinical

study in FY2017. Network analysis of MRI volumetric data on existing data from J-ADNI was done in collaboration with NCNP group.

The Hattori group at Juntendo University has developed a specific vector and is generating a Common marmoset model for PARK22 Parkinson's disease. As a specific and surrogating biomarker for Parkinson's disease, we identified a plasma metabolite in the downstream of polyamine metabolism. The levels of metabolite correlated with disease severity as well as radial diffusivity of the hemispheric white matter measured with diffusion tensor imaging collaborating with Prof. Aoki's group.

The Matsuda Group at National Center for Neurology and Psychiatry registered MCI patients satisfying the selection criteria and healthy elderly (including preclinical AD) for elucidation of neuro-network dysfunction due to degenerative dementia, and acquired structure and fiber connectivity MRI, amyloid and tau PET and cognitive function data. As the volumes of CA1, subiculum and entorhinal cortex in the medial temporal structure decreased, it became evident that tau accumulation progresses to the temporal lobe neocortex and cognitive function decreases. Also, in preclinical AD, it was detected that the failure of the structural network occurred over time.

The Aoki group at Juntendo University studied changes of location, integrity and direction of white matter in patients with degenerative dementia using next-generation diffusion MRI such as NODDI (Kamagata K. Expert Rev Neurother. 2016) and myelin map (Hagiwara A. AJNR 2017). They also compared and validated next-generation diffusion MRI comparing transparent mice brain as a translational research (Kamagata K. MRMS 2016, Sato K. Acta Radiol open 2017).

The Higuchi group at National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology initiated an exploratory clinical PET study on a new-generation, high-contrast tau PET probe. Pharmacokinetics of α -synuclein PET probes was also assessed by PET of wild-type mice, and the development of TDP-43 probes was conducted by identifying structure-activity relationships. Novel neuroinflammation PET probes targeting translocator protein were evaluated in rodents and non-human primates. Moreover, imaging of DREADD and DREADD-mediated manipulations of neurocircuit functions were enabled in animals (Nat Comm 2016; J Neurosci 2016).

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 4 件、国際誌 8 件)

1. Kamagata, K., Kerever, A., Yokosawa, S., Otake, Y., Ochi, H., Hori, M., Kamiya, K., Tsuruta, K., Tagawa, K., Okazawa, H., Aoki, S., Arikawa-Hirasawa, E. (2016) Quantitative Histological Validation of Diffusion Tensor MRI by Two-Photon Microscopy of Cleared Mouse Brain. *Magnetic Resonance in Medical Sciences*. 15(4): 416-421.
2. Mao, Y., Tamura, T., Yuki, Y., Abe, D., Tamada, Y., Imoto, S., Tanaka, H., Homma, H., Tagawa, K., Miyano, S., Okazawa, H. (2016) The hnRNP-Htt axis regulates necrotic cell death induced by transcriptional repression through impaired RNA splicing. *Cell Death and Disease*. Vol.7: e2207.
3. Mizuguchi, M., Obita, T., Kajiyama, A., Kozakai, Y., Nakai, T., Nabeshima, Y. and Okazawa, H. (2016) Allosteric modulation of the binding affinity between PQBP1 and the spliceosomal protein U5-15kD. *FEBS Lett*. Vol.590 (14): 2221-2231.
4. Taniguchi, JB., Kondo, K., Fujita, K., Chen, X., Homma, H., Sudo, T., Mao, Y., Watase, K., Tanaka, T.,

- Tagawa, K., Tamura, T., Muramatsu, S.I., Okazawa, H. (2016) RpA1 ameliorates symptoms of mutant Ataxin-1 knock-in mice and enhances DNA damage repair. *Hum Mol Genet.* 25: 4432-4447.
5. Fujita, K., Motoki, K., Tagawa, K., Chen, X., Hama, H., Nakajima, K., Homma, H., Tamura, T., Watanabe, H., Katsuno, M., Matsumi, C., Kajikawa, M., Saito, T., Saido, T., Sobue, G., Miyawaki, A., Okazawa, H. (2016) HMGB1, a pathogenic molecule that induces neurite degeneration via TLR4-MARCKS, is a potential therapeutic target for Alzheimer's disease. *Scientific Reports.* 6:31895.
 6. Mao, Y., Chen, X., Xu, M., Fujita, K., Sasabe, K., Homma, H., Murata, M., Tagawa, K., Tamura, T., Kaye, J., Finkbeiner, S., Blandino, G., Sudol, M., Okazawa, H. (2016) Targeting TEAD/YAP-transcription-dependent necrosis, TRIAD, ameliorates Huntington's disease pathology. *Hum Mol Genet.* 25: 4749-4770.
 7. Imamura, T., Fujita, K., Tagawa, K., Ikura, T., Chen, X., Homma, H., Tamura, T., Mao, Y., Taniguchi, J.B., Motoki, K., Nakabayashi, M., Ito, N., Yamada, K., Tomii, K., Okano, H., Kaye, J., Finkbeiner, S., Okazawa, H. (2016) Identification of hepta-histidine as a candidate drug for Huntington's disease by in silico-in vitro-in vivo-integrated screens of chemical libraries. *Scientific Reports* 6:33861.
 8. Yamanishi, E., Hasegawa, K., Fujita, K., Ichinose, S., Yagishita, S., Murata, M., Tagawa, K., Akashi, T., Eishi, Y., Okazawa, H. (2017) A novel form of necrosis, TRIAD, occurs in human Huntington's disease. *Acta Neuropathologica Communications* 5:19.
 9. 岡澤 均「特集 「認知症・神経変性疾患の克服への挑戦」によせて」 生体の科学 Vol.67 No.4 p.280. 2016年8月医学書院発行
 10. 岡澤 均、本木 和美「1990年以後の神経栄養因子臨床試験からの知見と教訓」 生体の科学 Vol.67 No.4 pp.291-295. 2016年8月医学書院発行
 11. 藤田 慶大、岡澤 均「変性疾患の共通分子病態」 生体の科学 Vol.67 No.4 pp.309-313. 2016年8月医学書院発行
 12. 岡澤 均「アルツハイマー病の“超早期”治療を可能にする分子メカニズムと治療薬開発」 月刊ファームステージ (2016年12月号) 2016年12月技術情報協会出版発行

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Takuya Tamura, Risa Shiraiishi, Masaki Sone, Hitoshi Okazawa. “Systematic Analysis of Fly Models Elucidates Sleep disturbance in Huntington's Disease” 口演、第57回日本神経学会学術大会、神戸国際展示場（神戸市）、発表日 2016/05/18、国内
2. Hikaru Ito, Kyota Fujita, Xigui Chen, Hitoshi Okazawa. “Analysis of molecular mechanism and development of therapeutic methods in spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1)” 口演、第57回日本神経学会学術大会、神戸国際展示場（神戸市）、発表日 2016/05/18、国内
3. Xigui Chen, Kanoh Kondo, Kazumi Motoki, Hidenori Homma, Hitoshi Okazawa. “Fasting activates macroautophagy in neurons of AD mice but is insufficient to degrade amyloid-beta” ポスター、第57回日本神経学会学術大会、神戸国際展示場（神戸市）、発表日 2016/05/19
4. Ying Mao, Takuya Tamura, Yoshie Yuki, Daisu Abe, Yoshinori Tamada, Seiya Imoto, Hikari Tanaka, Hidenori Homma, Kazuhiko Tagawa, Satoru Miyano, Hitoshi Okazawa. “The hnRNP-Htt axis regulates necrotic cell death induced by transcriptional repression through impaired RNA splicing” ポスター、第39回日本神経科学大会、パシフィコ横浜（横浜市）、発表日 2016/7/20、国内

5. Xigui Chen, Kanoh Kondo, Kazumi Motoki, Hidenori Homma, Hitoshi Okazawa. “Fasting activates macroautophagy in neurons of Alzheimer’s disease mice but is insufficient to degrade amyloid-beta” ポスター、第 39 回日本神経科学大会、パシフィコ横浜（横浜市）、発表日 2016/7/21、国内
6. Hitoshi Okazawa “Gene therapy to conquer spinocerebellar ataxia” 口演、第 22 回日本遺伝子細胞治療学会 (JSGCT2016)、虎の門ヒルズフォーラム（東京）、発表日 2016/07/30、国内
7. Mineyuki Mizuguchi, Yuko Nabeshima, Takayuki Obita, Hitoshi Okazawa. “Interaction of spliceosomal proteins PQBP1, U5-15kD, and WBP11” ポスター、The XXVIIth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems. International Conference Center Kyoto（京都市）、発表日 2016/8/22、国内
8. Koto Furotani, Takaaki Yajima, Motoharu Toyokawa, Minoru Nakayama, Takuya Tamura, Hitoshi Okazawa, Masaki Sone. “Effect of inhibition of synaptic delivery of APP by loss-of-function of yata for the Drosophila Alzheimer's disease model” ポスター、第 12 回日本ショウジョウバエ研究会、立教大学（東京）、発表日 2016/9/10、国内
9. Koto Furotani, Takaaki Yajima, Motoharu Toyokawa, Minoru Nakayama, Takuya Tamura, Hitoshi Okazawa, Masaki Sone. “Effect of inhibition of synaptic delivery of APP by the loss-of-function mutation of yata for the Drosophila Alzheimer's disease model” ポスター、第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜（横浜市）、発表日 2016/12/1、国内
10. 岡澤 均「SCA に対する新規遺伝子治療法の開発」口演、第 57 回日本神経学会学術大会、神戸ポートピアホテル（神戸市）、発表日 2016/05/20、国内
11. 田川 一彦「網羅的リン酸化プロテオーム解析による早期 AD 病態の解明」口演、第 46 回日本神経精神薬理学会年会、COEX（韓国ソウル）、発表日 2016/07/02、国外
12. 岡澤 均「変性型認知症の分子メカニズムの共通性と特異性」口演、第 35 回日本認知症学会学術集会、東京国際フォーラム（東京）、発表日 2016/12/01、国内
13. 岡澤 均「アルツハイマー病の発症前・超早期病態の解明と治療への応用」ポスター、脳とこころの研究 第二回公開シンポジウム 「脳を考える」、イイノホール（東京）発表日 2017/03/11、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. Hitoshi Okazawa “Therapeutics development of Alzheimer’s disease targeting on Phase 0”. 口演、15th Surugadai International Symposium : Current Status and Future of Drug Discovery、東京医科歯科大学 鈴木章夫記念講堂（東京）、2016/11/29、国内
2. 岡澤 均「SCA1 の治療開発に向けての取り組み」口演、神経内科特別講演会 神経変性疾患克服に向けた最先端治療、北海道大学（札幌市）、2016/09/02、国内
3. 岡澤 均「真の変性疾患治療ターゲットをオミックス統合から捉える」口演、公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団 新適塾「難病への挑戦」第 27 回、千里ライフサイエンスセンタービル（大阪府豊中市）2016/09/08、国内
4. 岡澤 均「脳という名のミニコスモスとその破綻」口演、名古屋市立大学 22 世紀研究所 講演会、名古屋市立大学（名古屋市）、2016/09/29、国内

(4) 特許出願

公開特許出願・該当無し