

長寿医療研究開発費 2020年度 総括研究報告

ショウジョウバエモデルを利用したアルツハイマー病発症機序の解明  
並びに創薬標的の探索 (19-49)

主任研究者 関谷 倫子 国立長寿医療研究センター 室長

研究要旨

高齢化の進む我が国において、認知症患者数の急増は深刻な社会問題であり、その原因であるアルツハイマー病 (AD) の発症メカニズムの解明、治療薬標的の同定は急務である。近年の次世代シーケンサー等の技術革新に伴い、網羅的なゲノム解析、トランスクリプトーム解析等が行われ、多くのオミクスデータが集積している。しかしながら、未だ AD の発症機序解明には至っていない。

本研究では、これまでに得られた多くのオミクスデータから最も AD 発症と関連あると予測される遺伝子を、機能や発現別に整理しスクリーニングを行う。スクリーニングには、整理した遺伝子の特徴を考慮し、最も適すると考えられるショウジョウバエモデルを作製・使用する。次に、スクリーニングで得られた遺伝子について、AD モデルマウス (理研 APP ノックインマウス)、および培養細胞等を用い、遺伝子の機能とともに、AD 発症への関与を明らかにする。

これまでに同定された AD のリスク遺伝子の多くは、グリア細胞に集積する。このことから、本研究では最初に、グリア細胞機能および血液脳関門 (血管系) 機能に着目し検討を行なった。グリア細胞関連遺伝子をスクリーニングするために作製した新規 AD モデルショウジョウバエを用い、AD の発症・進展に影響を与えると予想されるグリア細胞機能に関連する遺伝子、および血管関連遺伝子 (ショウジョウバエグリア細胞は、脳血管機能も兼ねるため) の同定を進めた。同定した遺伝子については、AD マウスモデル、培養細胞への外挿を行い、発症メカニズムの解明並びに治療薬標的の同定を目指す。

主任研究者

関谷 倫子 国立長寿医療研究センター 室長

分担研究者

飯島 浩一 国立長寿医療研究センター 部長

赤木 一考 国立長寿医療研究センター プロジェクトリーダー

## A. 研究目的

高齢化の進む我が国では、認知症患者数が急増しており深刻な社会問題となっている。この老年性認知症の最大の原因となる疾患が、アルツハイマー病 (AD) である。AD の 90% 以上は孤発性であるが、その原因は不明である。第 1 の危険因子は加齢であるが、2 番目の危険因子は家族歴であり、複数の遺伝的要因と環境要因が複雑に相互作用していると考えられる。これまで、AD の遺伝的要因を明らかにするために多くのゲノムワイド関連解析が行われ、すでに 40 以上のリスク遺伝子が同定されている。しかしながら、これらの遺伝子変異 (あるいは近傍の変異) がどのように AD の発症に寄与しているのかは、ほとんど解明されていない。

本研究では、現在までに得られている多くのオミクスデータを利用し、これらのデータを整理、*in vivo* にてスクリーニング、AD 発症に関与すると思われる遺伝子を絞り込み、AD モデルマウスや培養細胞を用いた実験系により AD の発症機序解明を目指す。*in vivo* でのスクリーニングにはショウジョウバエを用いる。ショウジョウバエは、ヒト疾患関連遺伝子の 70% 以上を有しており、世代時間が短く、遺伝子操作が簡便であるとともに、すべての RNAi 系統が入手可能で、また倫理面での制約も少ない。つまり、オミクスデータから遺伝子を予想される機能ごとに整理し、そのスクリーニングに最も適するショウジョウバエモデルを作製し、スクリーニングを行う。この “*in vivo* でのスクリーニング” を迅速に行えることは、疾患メカニズム解明における大きな利点である。

これまでに同定された AD のリスク遺伝子の多くは、グリア細胞に集積することから、AD の発症・進展には、神経細胞を取り巻くグリア細胞機能の変化が大きな影響を与えると考えられる。また最近の研究からも、ミクログリアやアストロサイトが AD 病態の形成に関与していること、さらにグリニファティックパスウェイというシステムが提唱され、血管とグリア細胞によるシステムが、脳内の老廃物 (アミロイド) の排出に関わるということが報告されている。そこで本研究では、最初にグリア細胞機能および血液脳関門 (血管系) 機能に着目したスクリーニングを行う。さらに、神経細胞でのスクリーニング系も作製し、AD 発症に関与すると思われる遺伝子の同定を行う。それにより、どの細胞種のどのような機能が AD の発症・進展に影響を与えるかを同定する。同定した遺伝子については、AD マウスモデル、培養細胞への外挿を行い、発症メカニズムの解明並びに治療薬標的の同定を目指す。

## B. 研究方法

本研究では、1) オミクスデータから遺伝子を整理・抽出し、2) それら遺伝子群の効果的なスクリーニングを行うための AD モデルショウジョウバエの確立、および遺伝子スクリーニングの実施、3) AD モデルマウスへの外挿と培養細胞での検証、のステップを繰り返し、AD 発症に関わる遺伝子並びに創薬標的の同定を行う。

2020年度は、2019年度にグリア細胞機能に関連する遺伝子のスクリーニングを行うために開発し、表現型解析を行なった新規 AD モデルショウジョウバエを用い、グリア細胞遺伝子のスクリーニングを実施した。さらに、神経細胞での遺伝子スクリーニングのための遺伝子組換えショウジョウバエの作製とそれを用いたスクリーニングを行なう。また、同定した遺伝子の AD モデルマウスへの外挿を想定し、細胞特異的な遺伝子発現を可能にする AAV ベクターの作製を行なう。

遺伝子組換えショウジョウバエは、pUASTattb, pVALIUM20 等のショウジョウバエ発現ベクターを用い、PhiC31 integrase-mediated transgenesis systems により作製した (Bestgene 社)。その他入手可能なショウジョウバエ系統 (過剰発現系統, RNAi 系統) については、Bloomington *Drosophila* Stock Center ならびに KYOTO Stock Center より分譲を受けた。

AAV ベクターは、Addgene の AAV ベクターにアストロサイト特異的プロモーター (すでに報告のあるもの)、血管系細胞マーカーとして使用されているタンパク質のプロモーター領域を組み入れ作製した。発現の確認には培養細胞を用いた。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え生物等の使用については、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律 (平成 15 年法律第 97 号 平成 19 年 3 月 30 日改正)」に従って行なった。

## C. 研究結果

### **新規 AD モデルショウジョウバエの表現型解析**

本研究でスクリーニングに用いる AD モデル (ショウジョウバエ) は、AD の発症に関係すると考えられているアミロイド  $\beta$  ペプチド ( $A\beta_{42}$ ) が神経細胞から分泌され、1) 脳内の様々な細胞 (神経細胞, グリア細胞, 血管細胞) に直接影響する, 2) 影響を受けた細胞が相互に作用しあう, という 2 つの作用を総合した結果を見ることができる系を想定して作製した。そのため、新規作製した AD モデルショウジョウバエ (図中では、New  $A\beta_{42}$  fly と記載) では、神経細胞から分泌された  $A\beta_{42}$  が様々な細胞種に作用するよう、 $A\beta_{42}$  の細胞外への分泌効率向上を考慮し遺伝子組換えショウジョウバエ作製のベクターの構築を行った。これまで用いてきた AD モデルショウジョウバエ用のベクター ( $A\beta_{42}$  construct と記載) は、培養細胞を用いた実験では、細胞外 (培地中) への  $A\beta_{42}$  の分泌がほとんど認められなかった (図 1A)。それに対して、新規に作製したベクターでは (New  $A\beta_{42}$  construct),  $A\beta_{42}$  が効率よく細胞外へ分泌されることを確認した (図 1A)。また、このベクターを用いて作製した遺伝子組換えショウジョウバエにおいて (実際には、 $A\beta_{40}$ ,  $A\beta_{42}$ ,  $A\beta_{42}$  Arctic mutation および Control 系統を作製),  $A\beta$  が確実に発現し

ていることも確認した (図 1B)。

その後、作製した新規 AD モデルショウジョウバエの表現型解析として、加齢依存的な運動機能 (climbing assay), A $\beta$  の凝集, 神経変性, 寿命について検討を行った。運動機能については、9 週齢まで測定を行なった

が、Control 系統と比較して顕著な変化は認められなかった (図 2A)。また、脳内の A $\beta$ 42 量は加齢依存的に増加の傾向が認められたが (図 2C), 脳内で凝集を形成することにはなかった (図 2B)。同様の 9 週齢において、神経変性も認められなかった (図 2D)。寿命は、Kaplan-Meier 生存分析の結果、有意な寿命の減少が認められたが、現在広く AD モデルとして用いられている細胞内に A $\beta$ 42 が蓄積するタイプの AD モデルショウジョウバエ (Iijima K. et al., PNAS, 2004) の寿命減少と比較すると、著しく効果は弱く、今回のモデルの特徴的な表現型とは言い難かった (図 2E)。

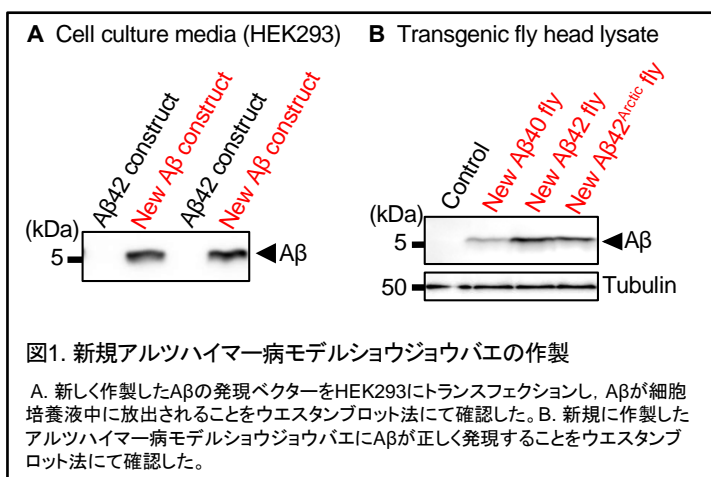


図1. 新規アルツハイマー病モデルショウジョウバエの作製

A. 新しく作製したA $\beta$ の発現ベクターをHEK293にトランスフェクションし、A $\beta$ が細胞培養液中に放出されることをウエスタンブロット法にて確認した。B. 新規に作製したアルツハイマー病モデルショウジョウバエにA $\beta$ が正しく発現することをウエスタンブロット法にて確認した。

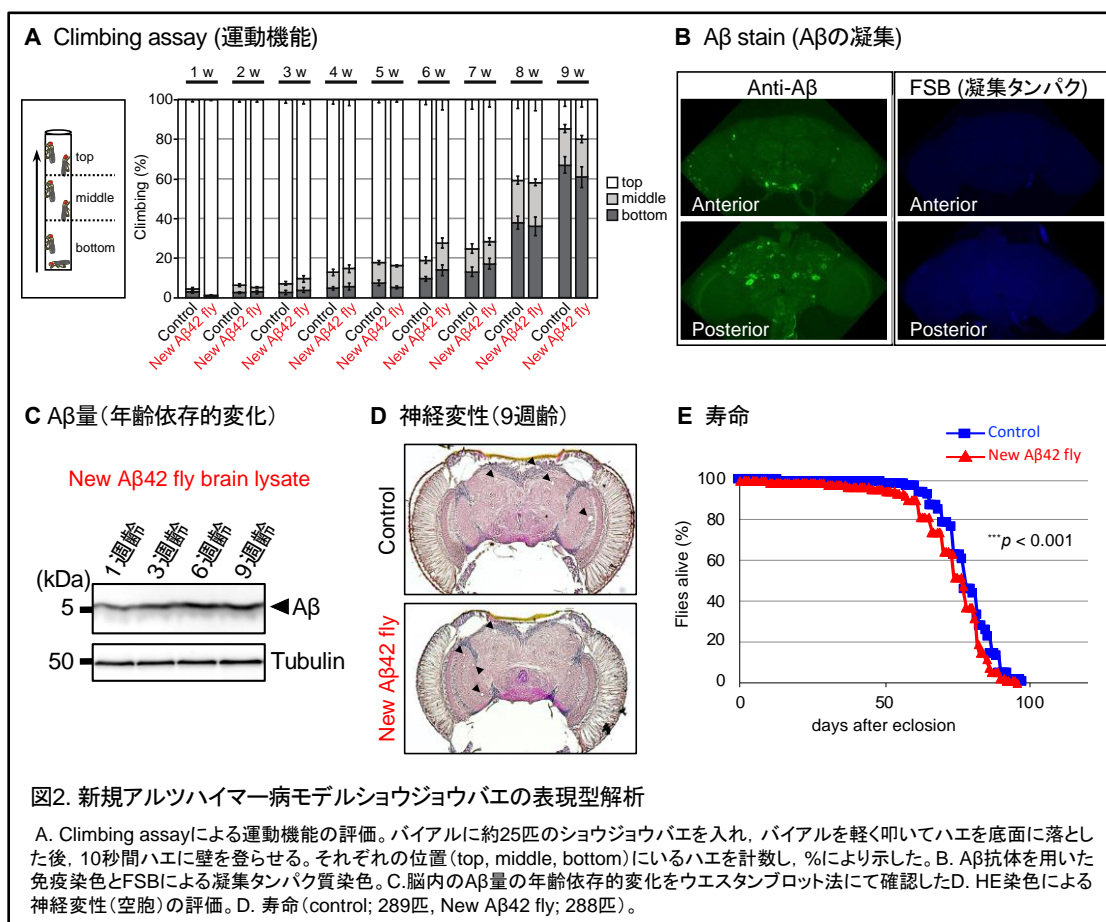


図2. 新規アルツハイマー病モデルショウジョウバエの表現型解析

A. Climbing assayによる運動機能の評価。バイアルに約25匹のショウジョウバエを入れ、バイアルを軽く叩いてハエを底面に落とした後、10秒間ハエに壁を登らせる。それぞれの位置(top, middle, bottom)にいるハエを計数し、%により示した。B. A $\beta$ 抗体を用いた免疫染色とFSBによる凝集タンパク質染色。C. 脳内のA $\beta$ 量の年齢依存的変化をウエスタンブロット法にて確認した。D. HE染色による神経変性(空胞)の評価。E. 寿命(control; 289匹, New A $\beta$ 42 fly; 288匹)。

ヒトでは、Aβ42は神経細胞内でAβ前駆体タンパク質（APP）から産生され、細胞外へと放出され凝集して老人斑を形成する。そのため、今回作製した、神経細胞から細胞外へAβ42を効率よく分泌するADモデルショウジョウバエは、現在広く用いられている細胞内にAβ42が蓄積するタイプのADモデルと比較し、よりヒトのADを模したモデルであると言えることができる。また、新しいADモデルマウスとして理研で開発され、現在頻用されているAPPノックインマウスを用いた研究から、脳内にAβ42を多量に発現させるだけでは、AD病理を再現することが出来ないということが分かったが、この知見は、今回新規に作製したADモデルショウジョウバエの表現型解析の結果と良く一致する。つまり、通常の状態では、ショウジョウバエ脳内においてもAβ42を多量に発現しているだけでは特徴的な表現型は示さない。本研究では、この新規に作製したADモデルショウジョウバエを用い、グリア細胞機能（あるいは血管系機能）に異常をきたした場合（実際には、RNAiにて候補遺伝子をノックダウンした場合）に、Aβ42の凝集や神経変性といった表現型を示すことを期待し、スクリーニングを行うこととした。

### スクリーニング用ショウジョウバエの作製（グリア細胞血管系遺伝子のスクリーニング）

スクリーニングでは、図3Aに示したように、神経細胞特異的にAβ42を発現し、かつグリア細胞特異的に任意の遺伝子をノックダウンする（RNAi）必要がある。そこで、任意のRNAi系統（UAS-RNAi）以外の組み換え遺伝子（nsyb-LexA, LexAop-Aβ42, repo-GAL4）

を有するトリプルトランスジェニックショウジョウバエを作製した。その後、生育状況やスクリーニングの効率を考慮し、何種類かのトリプルトランスジェニックショウジョウバエを作製・検討し、最終的にはAβを分解することが知られているヒトのエンドセリン変換酵素（Endothelin converting enzyme 1, ECE1）をショウジ

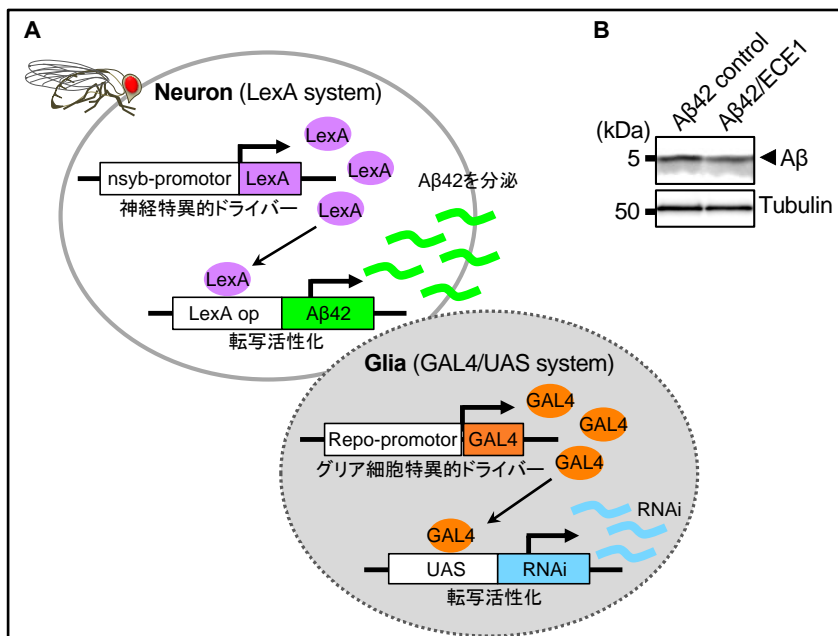


図3. 新規モデルを用いたグリア細胞機能関連遺伝子のスクリーニングシステム

A. 本スクリーニングシステムでは、神経細胞からはLexAシステムによりAβが分泌され、同時にグリア細胞では、LexAシステムとは独立して働くGAL4/UASシステムにより、グリア細胞特異的に特定の遺伝子をRNAiによりノックダウン（あるいはその代わりに過剰発現）することができる。様々な遺伝子のノックダウン系統、あるいは過剰発現系統を交配することで、グリア細胞特異的に遺伝子を操作し、その結果細胞外に分泌されたAβの代謝・凝集に与える影響を検査することができる。B. このスクリーニングシステムを用い、グリア細胞にてAβ分解酵素であるヒトエンドセリン変換酵素（ECE1）を発現させ、Aβ量を測定したところ、ECE1を発現したハエ（Aβ/ECE1）では、Aβ量の減少が認められた。

ョウバエグリア細胞に過剰発現し、神経細胞から分泌された A $\beta$  量が増加するかどうか（減少するかどうか）により、スクリーニング系の確認を行った。その結果、**図 3B** に示したように ECE1 の発現により、A $\beta$  量の減少が認められ、新規ショウジョウバエモデル系が機能することを確認出来たため、そのトリプルトランスジェニックショウジョウバエシステムを用いてスクリーニングを実施することとした。

### 候補遺伝子のスクリーニング

スクリーニングは、**図 3A** に記載のショウジョウバエシステムを用い、種々の RNAi 系統のショウジョウバエを交配後、すべての組み換え遺伝子を有するショウジョウバエを回収し、一定期間飼育後にウェスタンブロットにて A $\beta$ 42 量を測定するという方法で行った。現在までに、AD のリスク遺伝子、オミクスデータより抽出した候補遺伝子、加齢による変動遺伝子、神経損傷時に変動する遺伝子、グリア細胞特異的な機能に関わる遺伝子、またその他、食食やオートファジーなどの細胞機能に関わる遺伝子について、スクリーニングを行った（詳細は**表 1**に記載）。

#### 1) AD のリスク遺伝子

AD の大部分を占める孤発性 AD では、ゲノムワイド関連解析による一塩基多型と疾患との相関から 30 以上のリスク遺伝子が報告されている。しかしながら、一塩基多型の位置情報から予測されたリスク遺伝子が、本当に疾患と関係しているのか、またその遺伝子の発現の変動・機能獲得・機能喪失がアルツハイマー病の発症メカニズムにどのように関わっているのかについては、ほとんど分かっていない。そこで、報告されている AD のリスク遺伝子のうちグリア細胞（あるいは血管系）で発現しており、ショウジョウバエに相同遺伝子あるいは機能を代替するような遺伝子の存在するものについて、ショウジョウバエ相同遺伝子のノックダウンシステムを用い、A $\beta$ 42 量の変化（A $\beta$ 42 の代謝や凝集性）に変化を及ぼすかどうかスクリーニングを行った。候補遺伝子の RNAi 系統とトリプルトランスジェニックを交配し、羽化後 1 週間目で測定をおこなったが、結果として、ほとんどの遺伝子は A $\beta$ 42 量に変化を与えることはなかった。そのため、RNAi と同様の手法を用い、入手可能な AD リスク遺伝子の過剰発現系統（ショウジョウバエの

カテゴリー	遺伝子数
アルツハイマー病リスク遺伝子	25(ヒト遺伝子として)
遺伝子ネットワークデータより抽出した遺伝子	42(ショウジョウバエ遺伝子として)
加齢での変動遺伝子	12(ショウジョウバエ遺伝子として)
神経損傷時の変動遺伝子	12(ショウジョウバエ遺伝子として)
グリアマーカー, グリア機能関連遺伝子	9(ショウジョウバエ遺伝子として)
その他(食食, オートファジー, 脂質生成, ミトコンドリア, 自然免疫, 小胞体ストレス応答, 神経変性疾患関連遺伝子等)	14(ショウジョウバエ遺伝子として)

相同遺伝子、あるいはヒト遺伝子) についても検討したが、A $\beta$ 42 量に変化を与える遺伝子はなかった。このスクリーニングにおいて、いくつかの遺伝子のノックアウト (あるいは過剰発現) は胎生致死であった。これら遺伝子は発達期に重要な役割を持つと考えられるが、成体期においてその機能低下 (あるいは過剰発現) が A $\beta$ 42 の代謝や凝集に影響を与える可能性もある。そこで、それら遺伝子については、成体期に薬剤誘導性で遺伝子の発現調節を行えるシステム (GeneSwitch) を用いたスクリーニング系を作製し、再検討する予定である。

## 2) AD 関連アストロサイト遺伝子

分担研究者の飯島浩一博士と共同で、AD モデルマウス (APP ノックインマウス) のトランスクリプトーム解析を行っている。そこで得られた AD モデルマウスでの変動遺伝子や、神経変性を生じる既存の AD モデルショウジョウバエの変動遺伝子を AD 患者由来の遺伝子ネットワークと重ね合わせ、グリア細胞および血管系細胞に発現する遺伝子を抽出している。最初に、AD 患者脳から構築された遺伝子ネットワークと、AD モデルマウスでの変動遺伝子を用いたエンリッチメント解析により、上位に位置するアストロサイト 関連遺伝子のネットワーク構成遺伝子を候補遺伝子とした。また同様の方法で、ショウジョウバエ AD モデル (細胞内に A $\beta$ 42 を発現し、神経変性を誘導するモデル) での発現変動遺伝子、A $\beta$ 42 を過剰発現するものの A $\beta$  斑を形成しない AD マウスモデル (APP ノックイン、NL マウス) での発現変動遺伝子を利用して候補遺伝子の選定も行っている。すでに一部の遺伝子 (表 1) についてはスクリーニングを開始しており、効果の認められた遺伝子については別のターゲットサイトを持つ RNAi 系統にて再現性の確認、さらに RNAi 系統の効率との関係を確認している。また、グリアや血管系の遺伝子ネットワーク以外の遺伝子については、神経系でのノックダウンが可能なスクリーニング系を作製しスクリーニングを開始した (神経細胞遺伝子のスクリーニングについては後述)。

## 3) 神経損傷ならびに老化関連遺伝子

加齢は AD の最大のリスクであり、外傷性脳損傷と AD との関連も報告されている。病態時や加齢時の変化は本来、損傷の修復や過剰な生体機能を抑えるといった生体に対して保護的な作用であると考えられる。しかし、それらの機能が実は A $\beta$  の凝集、あるいは A $\beta$  の代謝の阻害にも関わる可能性が考えられる。神経損傷時や加齢により発現が変動する遺伝子を過剰発現、あるいはノックダウンすることにより、病態時の脳内炎症や、急速な加齢を模倣し、それらの遺伝子産物が A $\beta$  の代謝や凝集に影響を与えるかどうかをスクリーニングにより検討する。ショウジョウバエを用いた研究では、神経損傷時に発現の増加するグリア関連遺伝子、また加齢に伴い発現変動の見られる遺伝子が網羅的に調べられていることから、それらのデータから発現変動の大きい遺伝子、また、加齢と神経損傷時の両方で変化する遺伝子を抽出し候補遺伝子とした。現在までに、行

ったスクリーニングにおいて、ショウジョウバエモデルで A $\beta$  量を変化させる遺伝子があることから、それら遺伝子の検討を進めるとともに、さらにスクリーニングを継続し、AD 発症に関連する可能性のある遺伝子を探索している。

#### **神経細胞遺伝子のスクリーニング用ショウジョウバエの作製**

神経細胞の遺伝子スクリーニングのためのショウジョウバエの作製を行なった。神経細胞特異的に A $\beta$ 42 を発現し、同時に同じ神経細胞にて任意の遺伝子をノックダウンするため、任意の RNAi 系統 (UAS-RNAi) 以外の組み換え遺伝子 (nsyb-gal4, UAS-A $\beta$ 42) を有するダブルトランスジェニックショウジョウバエを作製した。また、作製したダブルトランスジェニックショウジョウバエの A $\beta$ 42 の量をウエスタンブロットにて確認したところ、想定したよりも発現量が低かったため、A $\beta$ 42 を 2 倍量発現するトリプルトランスジェニックショウジョウバエ (nsyb-gal4, UAS-A $\beta$ 42, UAS-A $\beta$ 42) の作製も行なった。作製したショウジョウバエを用い、前述の AD モデルマウスでの変動遺伝子を中心にスクリーニングを開始した。

#### **AD モデルマウスへの外挿と培養細胞実験の準備**

現在、ショウジョウバエを用いたスクリーニングを行っているが、その後のマウスモデルへの外挿と培養細胞での実験を想定し、その準備に取りかかった。スクリーニングで作用の認められた遺伝子については、アデノ随伴ウイルス (AAV) を利用し、アルツハイマー病モデルマウス (APP ノックインマウス) 脳室内あるいは脳実質内への AAV 投与によるグリア細胞特異的、あるいは血管機能特異的な遺伝子のノックダウンや過剰発現を行い、その後の A $\beta$  凝集 (老人斑) の変化を定量する予定である。そのため、グリア細胞特異的プロモーター、血管系細胞 (内皮細胞, 周皮細胞) 特異的プロモーターの探索と、それを用いた AAV ベクターの構築を行った。また、グリア細胞、血管系細胞を用いた実験系の確立のため、それら培養細胞の入手と実験系確立のための検討をスタートした。

## **D. 考察と結論**

アルツハイマー病 (AD) のリスク遺伝子として TREM2 が報告されて以降、AD におけるグリア細胞機能の関与について多くの報告がなされているが、疾患発症・進行のメカニズムは未だ不明のままである。本研究のスクリーニング結果では、AD のリスク遺伝子として報告されている物の多くは A $\beta$  の凝集や代謝に影響を与えることはなかった。その理由としては、これら遺伝子の発現変化が、A $\beta$  の凝集や代謝以外に作用するという可能性、また、未だこれら遺伝子の AD 発症メカニズムに与える影響が明らかになっていないことから、遺伝子予測の基となる一塩基多型が、その近傍ではなく別の遺伝子の



発現に影響を与えている可能性も考えられる。さらに、AD のリスク遺伝は、1 つ 1 つの変異がアルツハイマー病の発症に与える影響（オッズ比）が小さく、いくつかの遺伝子変異を複数もつことにより、疾患への影響が出る可能性もある。

一方、一塩基多型に基づく AD のリスク遺伝子に対して、トランスクリプトームの変化は、より直接的に遺伝子の変化を反映していると考えられるため、現在までに集積している多くの AD 関連トランスクリプトームデータを利用した候補遺伝子の選定とスクリーニングを継続することで、A $\beta$  の凝集や代謝に影響を与える遺伝子を同定できる可能性はある。その結果から得られる遺伝子は、AD の発症メカニズム解明につながるるとともに、直接創薬標的として機能する可能性も考えられる。また、AD モデルマウスや培養細胞から、AD 発症メカニズムの一端でも解明することができれば、さらに様々な角度から（特定の遺伝子から AD 患者のトランスクリプトームデータを逆に検索するなど）、AD 発症メカニズムに迫ることができ、発症メカニズムに基づいた創薬開発を行うことも可能となる。

神経細胞遺伝子のスクリーニングについてはまだ開始したばかりであるが、すでに A $\beta$ 42 量に変化を与える遺伝子がいくつか見つかり、グリア細胞をターゲットとしたスクリーニングよりもヒットする遺伝子の割合が多いように感じられた。A $\beta$  の凝集や代謝には、グリア細胞よりも神経細胞の関与の方が大きいことも予想され、今後スクリーニングを継続することで、新たな創薬ターゲットが見つかる可能性がある。

AD の発症機序研究・創薬開発においてモデル生物の利用は必要不可欠であるが、発症機序の明らかでない疾患において、確実に病態を再現するモデル動物を作製するのは大変に難しい。現在、AD の最新のモデル動物としてヒト家族性の変異を挿入したヒト APP ノックインマウスが用いられているが、このモデル作製の際、野生型の A $\beta$ 42 のみを多量に発現するだけでは、マウスの寿命である 2 年を超えても老人斑が形成されないことも同時に報告されている。また、マウスモデルは、その寿命の長さや倫理的問題から、多くの遺伝子や薬物のスクリーニングには不向きである。一方、ショウジョウバエは、倫理的問題も少なく遺伝子操作も簡便であり、薬物のスクリーニングを行うことも可能である。栄養補助食品や健康補助食品など予防法開発の現場では、倫理的問題からマウスを用いた実験が難しく、すでに代替モデルへの移行が考えられている。ショウジョウバエでより忠実に AD 病態を模倣するようなモデルを作製することは、アルツハイマー病の発症メカニズムの解明に役立つとともに、その後の創薬ターゲットの同定や創薬のための一次スクリーニング系として、先制医療開発の一助になると考える。

本研究で作製した新規 AD モデルショウジョウバエを用い、グリア細胞機能あるいは血管系機能、神経機能に関係する遺伝子の欠損（あるいは過剰発現）が A $\beta$ 42 の蓄積や神経変性を引き起こすことが分かれば、その結果を基に AD 発症メカニズムの解明へと

研究を進めることが可能となる。さらに、同定した遺伝子の変異を、今回作製した AD モデルショウジョウバエに組み込むことで、より確実に AD 病態を再現する新たな AD モデルショウジョウバエの確立も可能となる。また、AD の別の側面（細胞内での A $\beta$  シードの生成、もう 1 つのアルツハイマー病関連タンパク質であるタウタンパク質、等）に着目したショウジョウバエモデルの作製により、さらなる AD の発症機序解明の推進に寄与したい。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Phenotypic Analysis of a Transgenic *Drosophila* Model of Alzheimer's Amyloid- $\beta$  Toxicity, Michiko Sekiya<sup>#</sup>, Koichi M. Iijima<sup>#</sup>, (2021) *STAR Protocols*, in press, doi: 10.1016/j.xpro.2021.100501. #Co-corresponding author.

2) Transformative Network Modeling of Multi-Omics Data Reveals Detailed Circuits, Key Regulators, and Potential Therapeutics for Alzheimer's Disease, Minghui Wang<sup>\*</sup>, Aiqun Li<sup>\*</sup>, Michiko Sekiya<sup>\*</sup>, Noam D.Beckmann<sup>\*</sup>, Xiuming Quan<sup>\*</sup>, Nadine Schrode, Michael B.Fernando, Alex Yu, Li Zhu, Jiqing Cao, Liwei Lyu, Emrin Horgusluoglu, Qian Wang, Lei Guo, Yuan-shuo Wang, Ryan Neff, Won-min Song, Erming Wang, Qi Shen, Xianxiao Zhou, Chen Ming, Seok-Man Ho, Sezen Vatansever, H. Ümit Kaniskan, Jian Jin, Ming-Ming Zhou, Kanae Ando, Lap Ho, Paul A.Slesinger, Zhenyu Yue, Jun Zhu, Pavel Katsel, Sam Gandy, Michelle E.Ehrlich, Valentina Fossati, Scott Noggle, Dongming Cai, Vahram Haroutunian, Koichi M.Iijima<sup>#</sup>, Eric Schadt<sup>#</sup>, Kristen J.Brennan<sup>#</sup>, Bin Zhang<sup>#</sup>, (2020) *Neuron*, in press, doi.10.1016/j.neuron.2020.11.002., <sup>\*</sup>Co-first author, <sup>#</sup>Co-senior author.

3) Disruption of a *RAC1*-centred network is associated with Alzheimer's disease pathology and causes age-dependent neurodegeneration, Masataka Kikuchi<sup>\*†</sup>, Michiko Sekiya<sup>\*</sup>, Norikazu Hara<sup>\*</sup>, Akinori Miyashita, Ryozo Kuwano, Takeshi Ikeuchi, Koichi M. Iijima<sup>†</sup>, Akihiro Nakaya, *Human Molecular Genetics.*, 2020, 29: 817-833. <sup>\*</sup>Co-first author, <sup>†</sup>Co-corresponding author.

##### 2. 学会発表

1) Sulfonylurea receptor/Sur deficiency increased vulnerability to neurodegeneration in *Drosophila* models of Alzheimer's disease, Michiko Sekiya, Xiuming Quan, Yasufumi Sakakibara,

Sachie Chikamatsu, Koichi M Iijima, ADPD 2021, 2021 年 3 月 9~14 日, WEB 開催

2) Loss of locus coeruleus-noradrenergic afferents in the *App* knock-in mouse model of A $\beta$  amyloidosis, Koichi M Iijima, Yasufumi Sakakibara, Kyoko Ibaraki, Yu Hirota, Kimi Takei, Takashi Saito, Takaomi C Saido, Michiko Sekiya, ADPD 2021, 2021 年 3 月 9~14 日, WEB 開催

3) ネットワーク解析から解き明かす A $\beta$  病態 (シンポジウム 9, A $\beta$  仮説再考: A $\beta$  は AD 治療のメインターゲットとなり得るか), 飯島浩一, Wang Minghui, 榊原泰史, Zhang Bin, 関谷倫子, 第 39 回日本認知症学会学術集会, 2020 年 11 月 26~28 日, 名古屋 & WEB 開催

4) アルツハイマー病における ATP 感受性 K<sup>+</sup>チャンネル機能の役割, 関谷倫子, 権 秀明, 榊原泰史, 近松幸枝, 飯島浩一, 第 39 回日本認知症学会学術集会, 2020 年 11 月 26~28 日, Zoom 開催

5) *App* ノックインマウスにおける青斑核神経投射と neurovascular coupling の変化の解析, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 齊藤 貴志, 西道 隆臣, 関谷倫子, 飯島浩一, 第 39 回日本認知症学会学術集会, 2020 年 11 月 26~28 日, Zoom 開催

6) 遺伝子ネットワーク解析を用いたアルツハイマー病の発症機序解明と創薬標的の探索 (シンポジウム: データ駆動型科学で切り開く認知症研究), 関谷倫子, Wang Minghui, 榊原泰史, 近松幸枝, Zhang Bin, 飯島浩一, 第 93 回日本生化学会大会, 2020 年 9 月 15 日, Zoom 開催

7) ショウジョウバエへの食餌制限がグリア細胞による変性軸索除去に及ぼす影響, 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一, 第 93 回日本生化学会大会, 2020 年 9 月 14-16 日, WEB 開催

8) *App* ノックインマウスでは青斑核で神経細胞脱落, またタウ病理は起こらないが, ノルアドレナリン投射線維が減少する, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 齊藤貴志, 西道隆臣, 関谷倫子, 飯島浩一, 第 43 回日本神経科学大会, 2020 年 7 月 29 日, WEB 開催

9) Deficiency in a fly ortholog of HS-Aging related gene, sulfonyleurea receptor/*Sur*, increased vulnerability to neurodegeneration in *Drosophila* models of Alzheimer's disease, Michiko Sekiya, Xiuming Quan, Yasufumi Sakakibara, Sachie Chikamatsu, Koichi M. Iijima, AAIC 2020, 2020 年 7 月 27 日 (ポスター), WEB 開催

10) Reduced density of noradrenergic fibers without prominent neuron loss or tau pathology in the locus coeruleus in *App* knock-in mouse models of A $\beta$  amyloidosis, Koichi M. Iijima, Yasufumi Sakakibara, Kyoko Ibaraki, Kimi Takei, Takashi Saito, Takaomi C. Saido, Michiko Sekiya, AAIC 2020, 2020 年 7 月 27 日 (ポスター), WEB 開催

11) ショウジョウバエへの食餌制限がグリア細胞による変性軸索除去に及ぼす影響, 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一, 第 84 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム, 2020 年 5 月 23 日, WEB 開催

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし