

アルツハイマー病発症初期の病態メカニズム解明と早期介入法確立に向けた治療標的探索
(21-13)

主任研究者 飯島 浩一 国立長寿医療研究センター 神経遺伝学研究所 (部長)

研究要旨

アルツハイマー病 (AD) は老年性認知症の最大の原因であり、予防・治療法の確立は社会的要請が極めて高い課題である。AD は、脳内にアミロイドβペプチド ($A\beta$) が蓄積し、数十年をかけて神経細胞が脱落して発症に至ると考えられている。しかし、 $A\beta$ の蓄積が神経細胞死を惹起するメカニズムは未だに明らかではなく、有効な予防・治療法も存在しない。本研究では、 $A\beta$ の蓄積がシナプス脱落、神経炎症、脳血管障害、タウ病理拡大、神経変性を引き起こす分子機序の解明に取り組み、AD 初期の脳病態を反映する新規バイオマーカー、ならびに早期診断後に介入するための治療薬標的の探索を行う。

これまでに、AD 患者の臨床・病理・ゲノム・遺伝子発現情報を統合した遺伝子共発現ネットワークに、AD 初期の脳病態を模す $A\beta$ 病理モデルマウス (APP ノックインマウス: APPNLGF-KI マウス) から取得した遺伝子発現データを重ね合わせ、その集積度を指標に、 $A\beta$ 病理の増悪化に対する脳内の変化を反映する遺伝子ネットワークを同定した。本研究ではアストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークに着目し、モデル動物を用いた検証から、AD 初期の病態メカニズム解明、ならびに病態マーカーと治療薬標的の探索を行う (研究計画 1)。また、AD 初期に見られる神経細胞死を抑止する方法を開発するために、抑制性介在神経 (研究計画 2)、ならびに青斑核ノルアドレナリン神経 (研究計画 3) に着目し、神経変性の機序解明から抑止法の探索を行う。さらに、AD の初期病態を標的としたトランスレーショナル研究への利用や、AD の中核病変である $A\beta$ やタウ病理形成を未然に抑止する修飾因子を効率的に探索するための、新規モデル動物を確立する (研究計画 4)。本研究により AD の病態形成を遺伝子レベルで包括的に捉え、新たな角度から AD 病態マーカーや治療薬標的の同定を目指す。

主任研究者

飯島 浩一 国立長寿医療研究センター 神経遺伝学研究所 (部長)

分担研究者

関谷 倫子 国立長寿医療研究センター 神経遺伝学研究所 (副部長)

A. 研究目的

老年性認知症の最大の原因であるアルツハイマー病（AD）患者数は増加の一途を辿り、ADに対する予防・治療法の確立は急務の課題である。脳内でのアミロイドβペプチド（Aβ）の蓄積がAD発症の原因と考えられており、“抗Aβ医薬”は予防・先制治療薬として位置付けられ、AD発症前から臨床試験を行うための体制作りが進められている。このような現状の下、AD治療薬開発の標的は、Aβそのものから、“Aβ蓄積が惹起する脳病態”へと急速に展開している。当研究部では、“抗Aβ医薬”等の治療効果を判定するための脳病態マーカーや、早期診断後の治療薬開発を目標に、Aβの蓄積がシナプス変性、神経炎症、脳血管系障害、タウ病理拡大、神経変性を引き起こす分子機序の解明に取り組んでいる。本研究の目的は、AD発症機序の理解、危険因子の発見、さらに病態バイオマーカーと治療薬標的の探索であり、社会的要請が高く迅速な研究開発を継続的に行う必要性がある。

近年、網羅的なゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム等のオミクスデータを利用したデータ駆動型研究が、AD研究にも新たな展開をもたらしている。本研究は、AD患者由来の臨床・病理・ゲノム・遺伝子発現データを統合した遺伝子共発現ネットワーク解析と、ADの病態初期を再現するAβ病理モデルマウス（理研APP-KIマウス）脳由来の遺伝子発現データを融合させ、“Aβ蓄積が引き起こす脳内環境の変化”を“遺伝子ネットワークの変化”として網羅的かつ包括的に捉える点に特色・独創性がある。さらに、遺伝子ネットワークの変化がAD病態に及ぼす影響を、モデル動物を用いて検証することで、従来のAβやタウに着目した研究とは異なる角度から、AD発症メカニズムの全体像を解明できると考えている。また本研究では、ADの発症前・初期病態を模す、新規モデルマウス、モデルショウジョウバエの開発を並行して行い、それらを用いた脳病態マーカーや創薬標的の探索から、治療法の開発に向けたトランスレーショナル研究を展開する。

B. 研究方法

本研究では、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークに着目し、モデル動物を用いた検証を行い、AD初期の病態メカニズム解明、ならびに脳病態マーカーと治療薬標的の探索を行う（研究計画1）。また、AD初期に見られる臨床症状への治療法を開発するために、AD発症の初期に傷害される抑制性介在神経（研究計画2）、ならびに青斑核ノルアドレナリン神経（研究計画3）に着目し、神経変性の機序解明から抑止法の探索を行う。さらに、Aβやタウ病理形成に関わる因子の探索や、トランスレーショナル研究に利用するために、AD初期病態模す新規モデル動物を作製する（研究計画4）。

研究計画1：AD初期の病態形成にアストロサイト・脳血管系細胞の変化が果たす役割の解明と新たな病態マーカー・治療薬標的の探索（飯島，関谷）

A β 病理マウスを用い、AD 初期の病態形成にアストロサイト・脳血管系機能の変化が果たす役割を調べ、新たな病態マーカー・治療薬標的の探索を行う。

1-1) A β 病理マウス脳のアストロサイト・脳血管系病変の解析 (飯島/関谷/廣田)

同定したアストロサイト・脳血管系細胞遺伝子ネットワークのハブ (Causal regulator) 遺伝子群に着目し、免疫染色によりそれら遺伝子産物の局在を A β 病理マウス脳内で可視化する。顕著な変化が見られた遺伝子は、病態マーカーや治療薬の標的候補と考えられる。本年度は、昨年度免疫染色により同定したアストロサイト・脳血管系の病変形成に関わる候補遺伝子産物について、それらの発現を A β 病理マウス (APP^{NLGF-KI} マウス) 脳でアストロサイト特異的に変化させ (AAV による発現抑制と過剰発現)、脳病態の進行への影響を解析し、神経血管ユニットの変化が AD 発症の前・初期に果たす役割を明らかにする。

1-2) 治療薬標的としての遺伝子 A の検討 (飯島/関谷/榊原)

上記遺伝子ネットワークの構成遺伝子の中から、治療薬標的の候補遺伝子として遺伝子 A に着目し解析を行う。遺伝子 A は、海馬の萎縮と TAR-DNA binding protein 43 (TARDBP/TDP-43) の蓄積を特徴的な脳病理とする加齢性海馬硬化症のリスク因子であることが報告されている。

本年度は、昨年に引き続き A β 病理マウスにおける遺伝子 A のヘテロ欠損が、A β 病理が惹起する脳病変、認知機能低下、遺伝子発現変化に及ぼす影響を解析する。昨年度のショウジョウバエモデルの解析から、遺伝子 B が AD や加齢性海馬硬化症、また前頭側頭葉変性症や筋萎縮性側索硬化症などに関わる TDP-43 の神経毒性を修飾する可能性を見出した。そこで TDP-43 病理マウスを用いた検討を開始し、遺伝子 A を標的とした認可薬の効果についても調べる。

1-3) AD 初期脳病態を反映する血液バイオマーカー探索 (飯島/榊原/廣田/菊地/関谷)

1-1) で同定した A β 病理の周囲に集積する反応性アストロサイト特異的な分子は、AD に特異的な脳病態を反映するバイオマーカーになる可能性がある。また AD 患者死後脳のトランスクリプトーム解析と A β 病理マウスの脳組織解析から、A β 病理と相関して出現する神経炎症や脳血管障害関連分子を同定しつつある。これらのタンパク質が A β 病理マウスの血中で特異的に検出されるかを調べる。

研究計画 2 : AD 初期の抑制性介在神経変性の機序解明 (関谷, 飯島)

遺伝子ネットワーク解析から、病態を制御し創薬標的の候補となるネットワークとして、抑制性介在神経の遺伝子ネットワークを同定した (Neuron, 2020)。そこで、A β 病理マウス脳で脱落する抑制性介在神経のサブタイプ、変性機序の解明、さらに抑制性介在神

経の生存に関わる転写因子遺伝子 C の欠損マウスを用いて、抑制性介在神経の減少が、A β 病理マウスの脳病変形成および認知機能の低下に及ぼす影響を調べる。

研究計画 3：青斑核神経軸索変性の機序解明と保護法の探索（飯島，関谷）

AD 発症過程の初期に認められる青斑核ノルアドレナリン神経でのタウ病理形成と変性脱落が、大脳皮質へのタウ病理と神経細胞脱落への起点となっている可能性がある。これまでに、A β 病理マウスの大脳皮質において青斑核神経の投射軸索が脱落すること、さらに青斑核神経の維持に関わるソマトスタチンが低下していることを見出している。昨年度は、A β 病理マウスを用い青斑核神経特異的な RNA シーケンス解析を行った。本年度はゲータの解析から、A β 病理に依存して変動する遺伝子を同定し、ノルアドレナリン神経細胞軸索の変性に関わる候補遺伝子を選定する。さらに、AAV を用いた遺伝子導入法により軸索変性に関わる候補遺伝子の機能解析を進め、AD 初期に見られる青斑核神経の神経変性を抑止する方法を探索する。

研究計画 4：AD 初期の中核病理を模す新規モデル動物開発（関谷，飯島）

AD の中核病変である A β やタウ病理形成を抑止する予防法確立に向け、遺伝学的・薬理学的手法を用いて病理形成の修飾因子を効率的に探索するために、以下 3 つの AD モデル動物の作製を継続して行う。

4-1) 青斑核ノルアドレナリン神経タウ病理モデルマウスの開発（飯島/榊原/廣田/関谷）

APPNLGF-KI マウスは大脳皮質に A β 病理を呈するが、AD の初期に見られる皮質下青斑核のタウ病理を呈さない。そこで、ヒトタウ (0N4R 型) をマウス青斑核に特異的に発現できる AAV ベクターを作製し、マウス青斑核に投与する。タウの投与を行うマウスは、ヒトのタウ病理をより忠実に創出するために、APPNLGF-KI マウスの内在性タウをヒト化した、ダブルノックインマウス (APPNLGF-KI, hTau-KI マウス) を用いる。本年度は、作製した hTau-KI マウス、ならびに APPNLGF-KI, hTau-KI マウスの青斑核に、ヒトタウ発現 AAV ベクターを投与する。投与から 3 ヶ月ごとに脳組織を摘出し、青斑核でのタウ病理が、A β 病理の存在下で大脳皮質や海馬へと伝播するかを検討する。

4-2) オクトパミン神経タウ病理モデルショウジョウバエの開発（関谷/近松/飯島）

タウ蓄積に関わる因子を効率的に探索するために、タウ病理モデルショウジョウバエの作製を行う。ショウジョウバエには、ノルアドレナリン神経に相当する神経としてオクトパミン神経が存在する。本年度は、ショウジョウバエオクトパミン神経特異的にヒトタウを発現したショウジョウバエの、表現型解析と加齢依存的な変化を解析する。

4-3) 新規 A β 病理モデルショウジョウバエの開発（関谷/近松/飯島）

これまでに、脳神経細胞でヒト A β を産生・分泌する新規モデルショウジョウバエを作製している。この系を用いる利点は、A β 斑形成前の単量体 A β の産生、分解、排出に関わる遺伝子群を効率的に同定できることにある。RNAi 法を用いて神経細胞特異的あるいはグリア細胞特異的に任意の遺伝子発現を抑制し、脳内の A β 量を変化させる遺伝子を同定する。同定した遺伝子については、培養細胞を用いた哺乳類相同遺伝子の解析を行う。

(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」に従い、マウスを用いた実験は「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」に従って実施した。

C. 研究結果

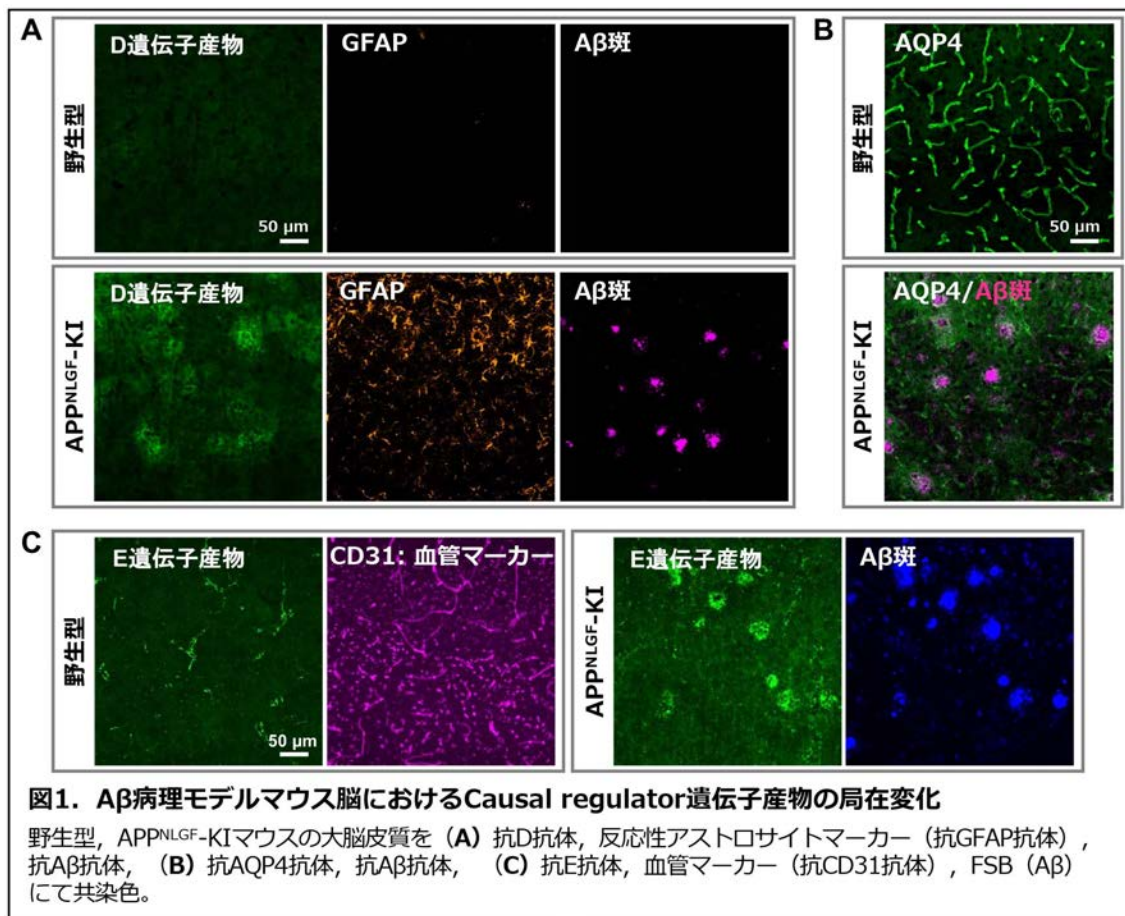
研究計画 1: AD 初期の病態形成にアストロサイト・神経血管ユニットの変化が果たす役割の解明と新たな病態マーカー・治療薬標的の探索

1-1) A β 病理マウス脳のアストロサイト・神経血管ユニット病変の解析 (飯島/関谷/廣田)

これまでに、AD 患者脳の前立遺伝子発現・ゲノム・病理・臨床データ等から構築された遺伝子共発現ネットワークの中から、A β 病理の増悪に伴い変化するネットワークとして、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークを同定した。このネットワークには、Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) などの反応性アストロサイトマーカー、水チャネル Aquaporin 4 (AQP4) などアストロサイト終足で発現し、神経血管ユニットを構成する遺伝子、細胞傷害の軽減や血流量の調節に関わるチャネル、アストロサイト貪食機能に関わる遺伝子、さらに神経細胞の生存や神経軸索の保護に関わる因子などが含まれている。これらの遺伝子群の中から、AD 病態マーカーや創薬標的の候補として、複数の Causal regulator 遺伝子 (ネットワークを構成する遺伝子群の発現を調節する階層の最上位に位置し、ネットワークの機能・活性を制御する遺伝子) を選定した。

次に、それら遺伝子産物の脳内局在を、A β 病理モデル (APP^{NLGF-KI}) マウスを用いて調べた。老齢 (24 ヶ月齢) の野生型マウスと APP^{NLGF-KI} マウスの凍結脳切片を作製し、14 の Causal regulator 遺伝子産物に対する抗体を用いて免疫組織染色を行った。その結果、それらの多くが野生型マウス脳のアストロサイトで発現し、APP^{NLGF-KI} マウス脳内では発現の亢進や、局在変化が見られた。これらの変化は、以下の 4 つのグループに分けられた。

1) A β 病理下で顕著に増加する反応性アストロサイト全般で発現する (図 1A, GFAP: Glial Fibrillary Acidic Protein), 2) A β 斑周囲の反応性アストロサイトに特異的に発現する (図 1A, 遺伝子 D), 3) 神経血管ユニットを構成するアストロサイト終足から、A β 斑周囲へと



局在が変化する (図 1B AQP4: Aquaporin 4, 図 1C 遺伝子 E:), 4) アストロサイトに発現し, Aβ 病理下でも大きな変化は見られない (遺伝子 F)。さらに, アストロサイト終足が形成する神経血管ユニットの構造変化を, 血管内皮細胞, 周皮細胞, アストロサイト終足, 細胞外マトリックスの各種マーカー抗体を用いた免疫染色により詳細に解析した。その結果, 脳血管細胞の側には顕著な傷害が見られないこと, 一方で AQP4 をはじめとするアストロサイト終足分子は, 脳血管の周囲から, Aβ 斑周囲へと局在が変化していることを見出した。以上の結果から, Aβ 病理に対するアストロサイトの活性化により, 神経血管ユニットの構成が慢性的に乱れることが, AD 初期の神経変性や脳血管障害, さらに認知機能の低下につながる可能性を見出した (論文投稿準備中)。

先行研究から, 神経血管ユニットや血管周囲排出路 (Glymphatic システム) の周囲を覆うアストロサイト終足に分布する水チャネル AQP4 は, AD 患者の脳において Aβ 斑の周囲へ集積し, Aβ やタウの排出に関わることが示唆されている。本研究で新たに見出した遺伝子 E は, AQP4 同様に野生型マウスのアストロサイト終足に分布するが, Aβ 病理下では Aβ 斑の中心部分へと局在変化する様子が認められた。また, 遺伝子 D も, Aβ 斑周囲に強く集積することを見出した。これらの結果は, 遺伝子 D や遺伝子 E の局材変化は, 脳内からの Aβ の排出に関わっている可能性を示している。

しかし一方で, 反応性アストロサイトの活性化が慢性化すると, 神経血管ユニットやシナ

プスの機能など、アストロサイトが維持する脳内恒常性が破綻し、神経変性が惹起される可能性もある。実際、遺伝子 E は X の原因遺伝子であり、遺伝子 E の機能喪失が Y を引き起こすことから、遺伝子 E の慢性的な局在変化が、AD 脳で Y を惹起する可能性も考えられる。

以上の仮説を検証するために、アストロサイト特異的に遺伝子 D や遺伝子 E の発現を変化させ、A β 病理や神経変性への影響の解析を進めている。これまでに、アストロサイト特異的に遺伝子 D、遺伝子 E の発現を抑制するための AAV の作製を行なった。培養細胞を用いてノックダウン効率の高い miRNA 配列を選択し、アストロサイト特異的プロモーター下で miRNA を発現する AAV を作製した。セロタイプは、血液脳関門透過性の高い PHP.eB 型を選択した。現在、投与を行う APP と Tau のダブルノックインマウス (APPNLGF-KI/Tau-KI) の準備を進めている。

1-2) 治療薬標的としての遺伝子 A の検討 (飯島/関谷/榊原)

上記で Causal regulator として解析を進めた遺伝子群とは別に、ネットワーク構成遺伝子の中から、治療薬標的の候補として遺伝子 A 遺伝子に着目した。遺伝子 A 遺伝子は、糖尿病治療薬や血管拡張薬の標的として知られている。また遺伝子 A 遺伝子は、細胞をストレスから保護する機能を持ち、その発現が AD 患者脳、ならびに A β 病理モデル (APPNLGF-KI) マウスの脳内で上昇していることから、AD 病態に対して保護的に働く可能性が考えられる。

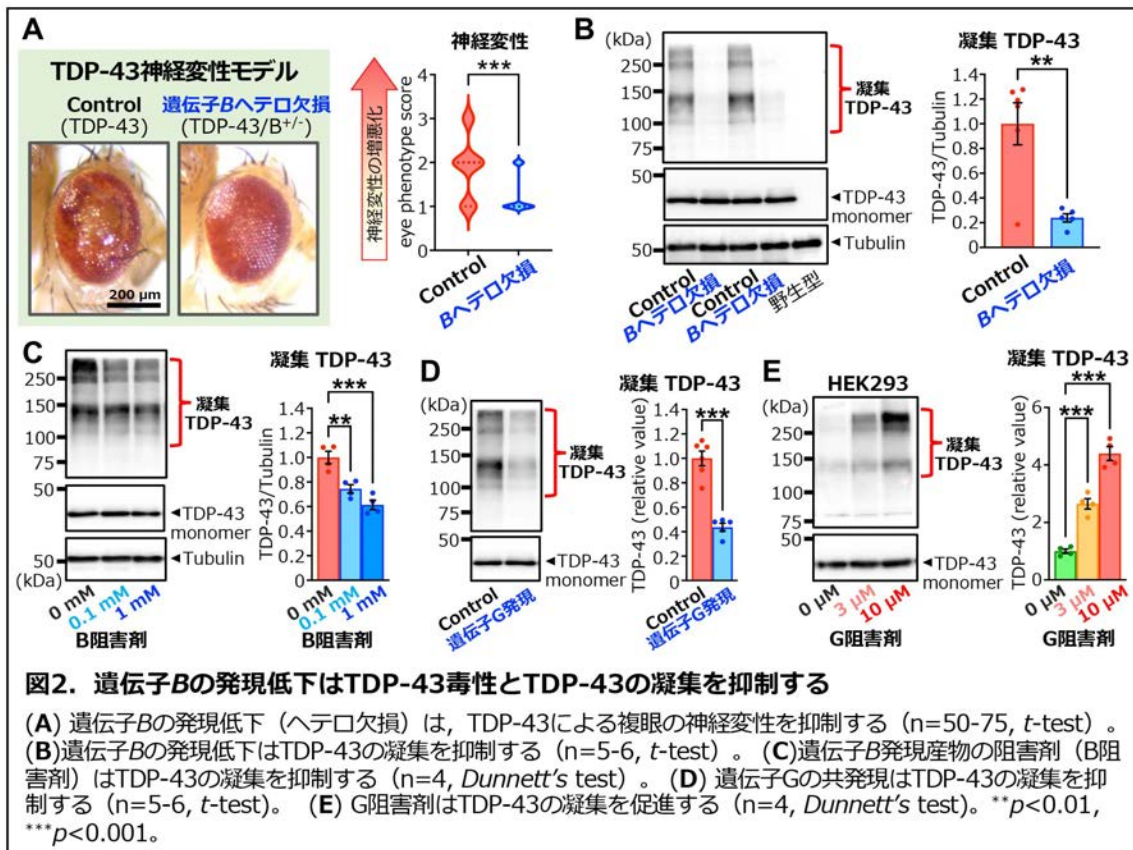
その一方で、遺伝子 A の脳組織での発現量を上昇させる single nucleotide variations (SNVs) が、海馬の萎縮と TAR-DNA binding protein 43 (TARDBP/TDP-43) の蓄積を特徴的な脳病理とする、加齢性海馬硬化症 (Hippocampal sclerosis of Aging : HS-Aging) のリスク因子であることが報告されている (Nelson et al. 2014, Nelson et al. 2015, Katsumata et al. 2017)。また最近、HS-Aging は limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy neuropathologic change (LATE-NC) と高い頻度で併存する病態として定義され (Dugan et al. 2021)、遺伝子 A の SNVs は LATE-NC の原因ではないが、HS-Aging のリスクを高めることが報告された。つまり、遺伝子 A の発現変化は、TARDBP/TDP-43 病理形成の開始点ではないものの、TDP-43 病理の増悪化や、TDP-43 病理が惹起する神経変性を増悪する病態修飾因子であることが示唆された (Dugan et al. 2021)。TDP-43 病理は筋萎縮性側索硬化症に特徴的な病理として知られるが、AD 患者の約半数でも見られることから、遺伝子 A の発現上昇は、TDP-43 病理を呈する認知症サブタイプの増悪因子として働く可能性が考えられ、重要な治療標的と考えられる。

以上の背景をふまえ遺伝子 A ヘテロ欠損マウスを導入し、まず遺伝子 A の機能低下が老化脳 (24 ヶ月齢) に及ぼす影響について調べた。脳病理ならびに認知機能の解析を行ったが、野生型マウスに比べて顕著な変化 (神経細胞数, 神経炎症, 脳血管構造, タウ病理, TDP-43 病理等) は検出されなかった。一方、興味深いことに 遺伝子 A ヘテロ欠損マウスは野

生型マウスと比べ、モリス水迷路試験における空間記憶の保持・想起能力が若干ながら向上していることを見出した。更に、*遺伝子 A* の発現低下が老化脳に及ぼす影響を捉えるために、24ヶ月齢の野生型、*遺伝子 A* ヘテロ欠損マウスの海馬と大脳皮質側頭葉で RNA シーケンス解析を行った。その結果、mRNA からタンパク質への翻訳に関わる遺伝子群や、オートファジー関連遺伝子群の発現変化が見られ、記憶学習との関係について多くの報告がある、栄養センサー mTOR 経路の活性変化が示唆された。一方、側頭葉では、神経やシナプス関連経路の遺伝子の発現が低下している傾向が見られた。以上の結果から、脳病理のない健全な脳老化の過程では、*遺伝子 A* のヘテロ欠損による顕著な影響は見られなかったが、エネルギー代謝やシナプス機能が変化している可能性が示された。

次に、*遺伝子 A* と TDP-43 の蓄積や神経毒性の関係を調べた。先述のように、*遺伝子 A* の脳組織での発現を上昇させる SNV は、TDP-43 病理が惹起する神経変性を増悪することが示唆されている (Dugan et al. 2021)。そこでまず、*遺伝子 A* の欠損により TDP-43 が引き起こす神経毒性が抑制されるかを、ショウジョウバエモデルを用いて検討した。ヒト TDP-43 をショウジョウバエの複眼で高発現すると、複眼表面の色素の脱落やネクロシスなどの細胞変性が観察される (図 2A, 左)。このモデルを用い、*遺伝子 A* のショウジョウバエ相同遺伝子である *遺伝子 B* をヘテロ欠損させたところ、複眼の変性が顕著に抑制されることを見出した (図 2A, 右)。TDP-43 の神経毒性は、高分子量の凝集体の形成と関連することが知られている。そこで、ウェスタンブロット法により TDP-43 の蓄積を調べたところ、*遺伝子 B* のヘテロ欠損により、高分子量側に位置する TDP-43 の凝集体が減少することを見出した (図 2B)。一方で、単量体の TDP-43 の量は変化しなかった (図 2B, TDP-43 monomer)。同様の結果は、RNAi 法を用いた *遺伝子 B* の発現抑制系でも確認できた。さらに、ヒト *遺伝子 A* ならびにハエ *遺伝子 B* への阻害作用を持つ薬物をショウジョウバエに混餌投与することで、容量依存的に複眼変性の抑制と TDP-43 の凝集体量を減少させる効果を見出した (図 2C)。

さらに、*遺伝子 B* の発現低下による TDP-43 毒性の抑制作用のメカニズムを調べた。*遺伝子 A* 欠損マウスでは、筋肉細胞などへの糖の取り込み上昇による低血糖が報告されている。また本研究で行った *遺伝子 A* のヘテロ欠損マウス脳における遺伝子発現解析からも、RNA 代謝やオートファジー関連遺伝子の発現変化など、脳内でのエネルギー代謝の変化が示唆された。そこで、細胞への Z の促進が、TDP-43 の毒性の軽減に関わるかを調べた。TDP-43 神経毒性モデルショウジョウバエを用い、*遺伝子 G* を過剰発現して Z を増加させたところ、TDP-43 による神経変性、ならびに TDP-43 の凝集体量が減少することを見出した (図 2D)。さらに、TDP-43 を高発現するヒト培養細胞 (HEK293) を用いた実験系でも、細胞への糖の取り込みを薬理的に阻害することで、細胞内の TDP-43 の凝集体量が増加することを確認した (図 2E)。以上の結果から、糖の取り込みを促進させることで、TDP-43 の凝集や毒性を効果的に抑制できることが明らかになり、TDP-43 が関与する様々な神経変性疾患の発症メカニズムから治療法の開発につながると考え、さらに詳細な解析を進



めている (論文投稿準備中)。また、TDP-43 毒性モデルマウスを導入し、*遺伝子A* ヘテロ欠損マウスを交配させ、検証を進めている。

一方で上述のように、*遺伝子A*には細胞をストレスから守る役割も知られており、AD 脳における*遺伝子A*の発現上昇は、A β 病理が惹起する病態に対して保護的に働く可能性もある。そこで、*遺伝子A*ヘテロ欠損マウスとA β 病理モデル (APPNLGF-KI) マウスを交配し、得られた App^{NLGF/+}/*遺伝子A*^{+/+}ならびに App^{NLGF/+}/*遺伝子A*^{-/-}を24ヶ月齢まで加齢飼育して脳病理を解析した。その結果、*遺伝子A*のヘテロ欠損は、A β 斑の形成や神経炎症を顕著には変化させなかったが、血管周囲の周皮細胞を肥大化させ、神経血管ユニットのインテグリティを低下させることを見出した。またRNAシーケンス解析からは、A β 病理マウスで見られる神経・シナプス関連遺伝子の低下が、*遺伝子A*の欠損により増悪することを見出した。以上の結果と研究計画1-1)の遺伝子ネットワーク解析の結果を統合し、A β 病理が惹起する神経炎症が神経血管ユニットを破綻させる過程で*遺伝子A*が果たす保護作用について解析を進めており、論文を執筆している (論文投稿準備中)。

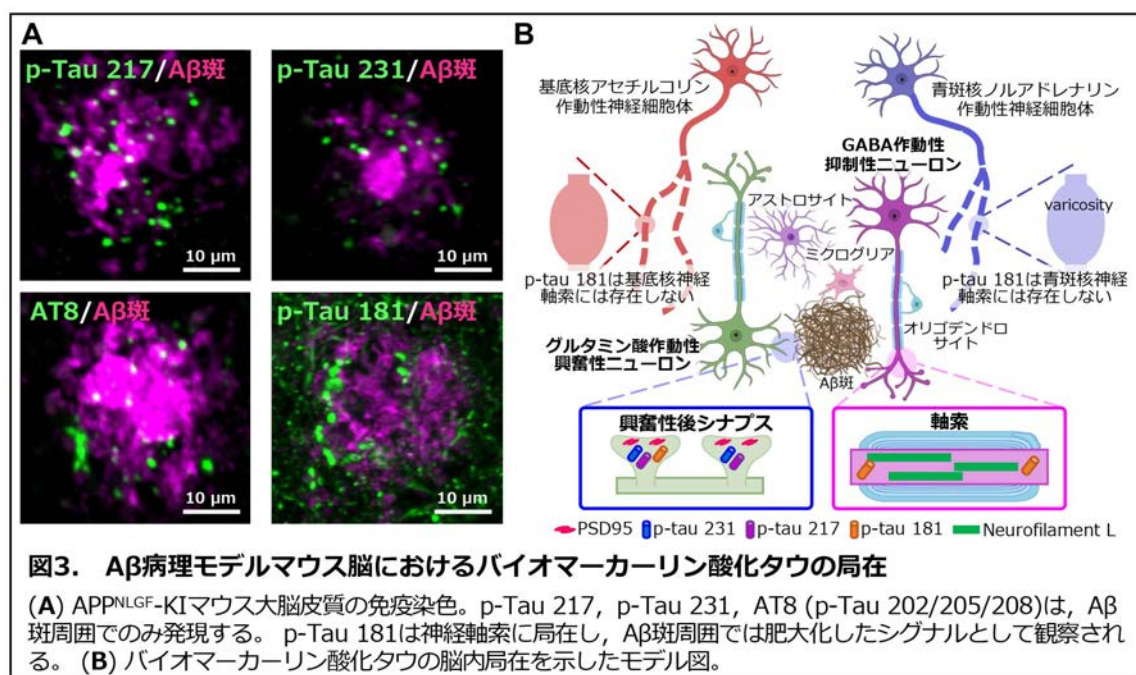
1-3) AD 初期脳病態を反映する血液バイオマーカー探索 (飯島/榊原/廣田/菊地/関谷)

AD 発症前・初期の脳病態を反映する新たな血液バイオマーカーの探索にあたり、まずADプレクリニカル期の血液バイオマーカーとして近年注目を集めているリン酸化タウが、こういった脳病態を反映しているのかを明らかにする必要がある。AD患者死後脳の病理解析からは、過剰リン酸化を受けたタウは神経細胞内で凝集し、神経原線維変化 (以下タウ病理)

を形成することが知られている。また脳画像解析において、PET 陽性のタウ病理は AD 発症後に検出され、認知機能の低下とよく相関することが示されている。しかし、血液中でのリン酸化タウ (p-Tau 217, p-Tau 231) の上昇は、AD 発症後のタウ病理ではなく、AD 発症前・初期の A β 病理とよく相関することが報告されている。そこで、AD のプレクリニカル期を模す A β 病理モデルマウスと野生型マウスの脳組織を用いた免疫染色法により、バイオマーカーリン酸化タウと A β 病理の脳内局在の関係を調べた。その結果、p-Tau 217 と p-Tau 231 のシグナルは、A β 病理の周辺で肥大化した興奮性神経のシナプス後部に特異的に出現することを見出した (図 3, 次ページ)。

一方、従来から汎用されている p-Tau 181 の血液・髄液中での上昇は、プレクリニカル期の A β 病理に加えて、認知機能の低下とも相関することが報告されている。興味深いことに、p-Tau 181 のシグナルは、野生型マウスにおいても神経細胞の軸索で検出され、A β 病理マウスではそれらの軸索が A β 斑の周辺で変性している様子が観察された (図 3)。以上の結果から、血液バイオマーカーリン酸化タウは、A β 病理の周辺で引き起こされる神経突起変性を反映している可能性を見出した (論文発表 6、*Brain Communications*, 2022 Nov 6;4(6))。

さらに、p-Tau 181 がどの種類の神経細胞の軸索変性を反映しているのかについて特定を進めた。脳には、大脳皮質や海馬に局在する有髄神経のグルタミン酸作動性興奮性神経や GABA 作動性抑制性神経と、皮質下に存在する無髄神経のコリン作動性、セロトニン作動性、ドパミン作動性、ノルアドレナリン作動性神経等がある。これまでに、p-Tau 181 のシグナルは、無髄神経ではなく、有髄神経の、Parvalbumin 陽性 GABA 作動性抑制性神経と共局在すること (図 3B, さらに A β 病理モデルマウスでは、神経軸索を覆う髓鞘が変性していることを見出した (論文発表 9、*Journal of Alzheimer's Disease*, 2023)。今後、東



京都健康長寿医療センターより分与いただくヒト剖検脳を用いて、詳細な解析を進める予定である。

以上の結果から、既存のバイオマーカーリン酸化タウは、 $A\beta$ 病理下で生じる有髄の興奮性神経や抑制性神経のシナプス変性を反映していると考えられ、無髄神経の変性を検出するためには、新たなバイオマーカー開発が必要であることが示唆された。そこで今後は、青斑核ノルアドレナリン神経をはじめとする、無髄神経の機能失調や軸索変性を検出する血液バイオマーカーの開発に取り組む。さらに、反応性アストロサイトの活性化や神経血管ユニットの変化を検出する血液バイオマーカーを、 $A\beta$ 病理マウスやヒトの血液検体を用いて探索する予定である。

研究計画 2 : AD 初期の抑制性介在神経変性の機序解明 (関谷/廣田/榊原/飯島)

AD 患者脳の遺伝子ネットワーク解析から、AD 初期の認知機能を改善する創薬標的として、抑制性介在神経の機能に関わるネットワークを同定し、その活性を賦活化する化合物を報告した (Wang, Li, Sekiya et al. *Neuron*, 2021)。しかし、AD 初期に抑制性介在神経が変性する理由は依然として不明である。まず、 $A\beta$ 病理モデルマウスが、抑制性介在神経変性の機序解明に資するモデルであるかを検討した。老齢 (24 ヶ月齢) の $A\beta$ 病理マウスの凍結脳切片を作製し、parvalbumin (PV), somatostatin, Neuropeptide Y (NPY) 陽性の抑制性介在神経を免疫染色により同定し、細胞数を測定した。その結果、いずれも野生型マウスに比べて有意に減少しており、 $A\beta$ 病理が抑制性介在神経の変性を引き起こすことを確認した。

本研究開発の研究計画 1-1) で、AD 初期に $A\beta$ 病理が惹起する神経変性の原因として、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークの変化に注目した。興味深いことに、このネットワークを構成する遺伝子の中に、抑制性介在神経の生存に関わり、統合失調症の原因遺伝子として知られる、転写因子遺伝子 C が含まれていた。この事実は、 $A\beta$ 病理による神経炎症と神経血管ユニットの変化が、抑制性介在神経に何らかの影響を与えている可能性を示している。また、 $A\beta$ 病理マウス脳で遺伝子 C の発現が上昇していることから、遺伝子 C は神経保護的に働いていると考えられる。この仮説を検証するために、遺伝子 C の欠損マウスを導入し、 $A\beta$ 病理 (APPNLGF-KI) マウスと交配した。交配後に得られたヘテロ接合体マウスを 24 ヶ月齢まで加齢飼育し、脳病理解析ならびに遺伝子発現解析を進めた。

これまでに、Vasoactive intestinal peptide (VIP), NPY 陽性の抑制性介在神経の免疫染色と細胞数の計測を行なったが、遺伝子 C のヘテロ欠損による細胞数の減少は見られなかった (図 4A)。引き続き、詳細な解析を進めている。また、脳組織 (大脳皮質, 海馬) の遺伝子発現解析からは (図 4B), 遺伝子 C のヘテロ欠損のみで発現が上昇する遺伝子は、mRNA 代謝やタンパク局在 (大脳皮質, 海馬), cilium assembly に関する経路 (海馬) に集積し、発現低下する遺伝子は、糖代謝や脂質代謝経路 (大脳皮質), シナプスの構成や機能に関する経路 (海馬) に集積した。これらの結果は、遺伝子 C が神経細胞の生存や機能

維持に関わることを示している。

Aβ病理モデルマウスで発現が上昇する遺伝子の多くは、ミクログリアを中心とする免疫・炎症に関する経路に集積するが、遺伝子Cをヘテロ欠損しても (APPNLGF/遺伝子C^{+/-})、この傾向に顕著な違いは認められなかった。この結果は、遺伝子Cの欠損は、Aβ病理の形成やミクログリアの機能には大きな影響を与えないことを示唆している。また、Aβ病理下で発現低下する遺伝子については、遺伝子Cのヘテロ欠損により神経突起の伸長や、シナプス機能に関連する経路への集積度が高くなる傾向が見られた (図4C)。中でも、神経血管ユニットを構成するカテコールアミン神経の分泌低下や、興奮性神経の活性の変化が示唆された。

以上の結果から、Aβ病理が引き起こす抑制性介在神経変性や、それを取り巻く神経回路の変性が、遺伝子Cの欠損により増悪する可能性が考えられた。ごく最近、アストロサイトの分化やアストロサイト-神経間のコミュニケーションが遺伝子Cの欠損により抑制され、大脳皮質のシナプス密度が減少することが報告された。従って、神経細胞に加えて、遺伝子Cの欠損によるアストロサイトへの影響も調べる必要がある。現在、抑制性介在神経の変性に加え、その他の神経の軸索やシナプス、またアストロサイト・神経血管ユニット等、遺伝子C欠損による脳病態への影響を解析している。

研究計画3：青斑核神経軸索変性の機序解明と保護法の探索 (飯島/榊原/廣田/関谷)

青斑核ノルアドレナリン神経細胞は、脳幹の細胞体から広範な脳領域へ長い神経軸索を投射し、睡眠や情動、認知機能の制御に関わる。また青斑核神経の軸索は、脳血管細胞やア

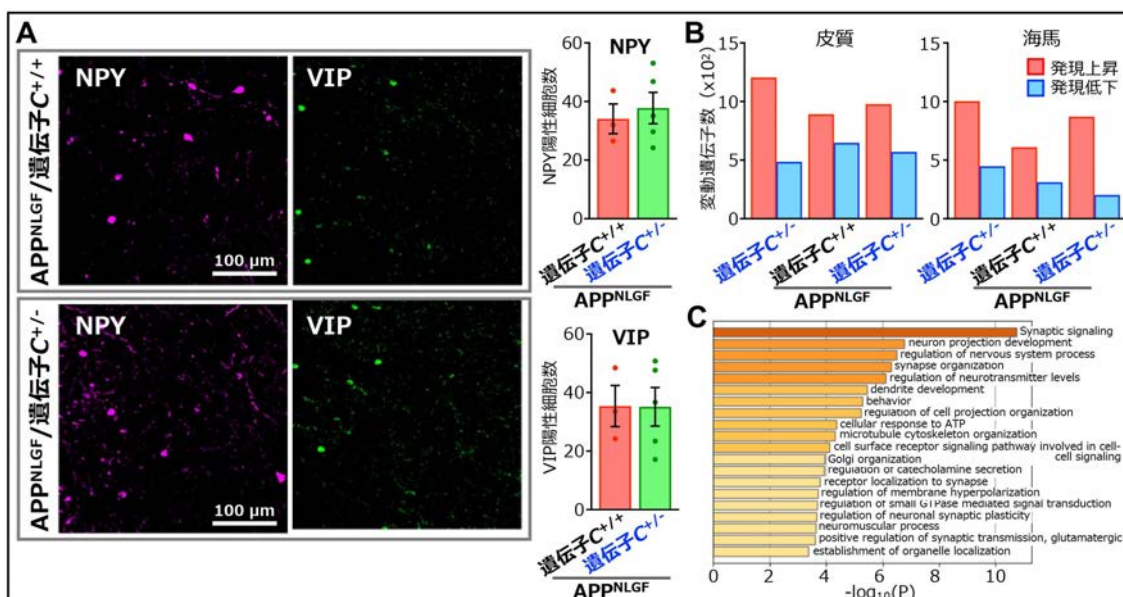


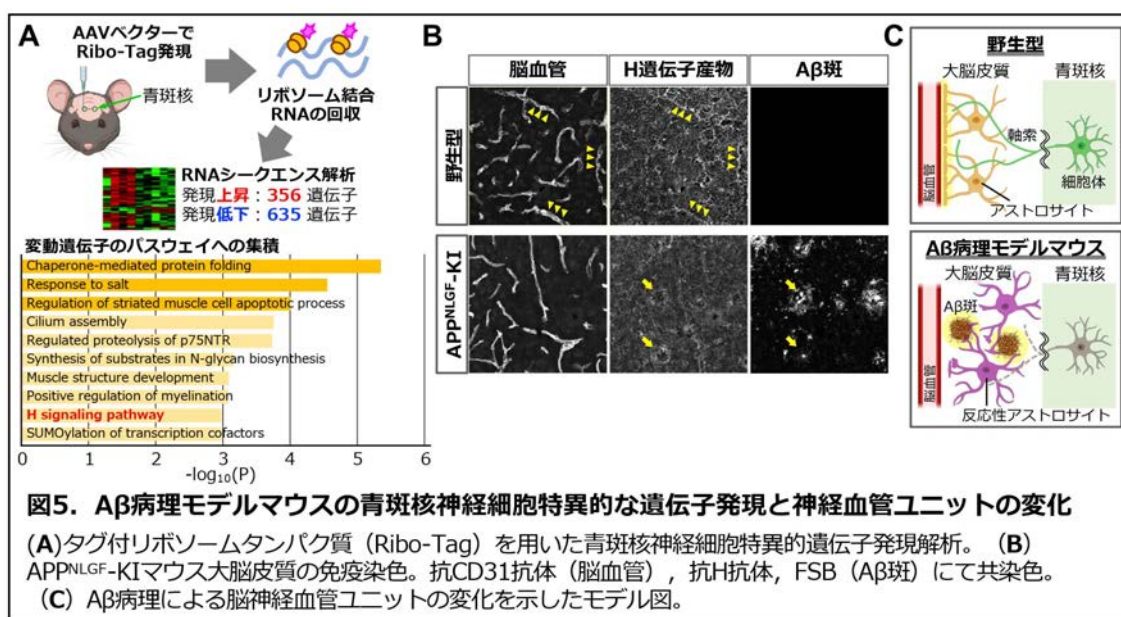
図4. Aβ病理モデルマウスと遺伝子C欠損マウスのヘテロ接合体マウス脳における抑制性介在ニューロン数の変化と遺伝子発現変化

(A) Aβ病理モデルマウス (APPNLGF/遺伝子C^{+/-}) とAβ病理モデルマウス、遺伝子C欠損のヘテロ接合体マウス (APPNLGF/遺伝子C^{+/-}) の前頭皮質を抗NPY抗体、抗VIP抗体にて免疫染色後、陽性細胞を計測した (n=3-5, Mean±SEM)。(B) 大脳皮質、海馬での遺伝子発現変化。(C) APPNLGF/遺伝子C^{+/-}の大脳皮質で発現低下する遺伝子のパスウェイ解析。

ストロサイト終足と神経血管ユニットを構成し、脳血流量や血液脳関門の機能を調節する。ヒトの青斑核ノルアドレナリン神経には、正常老化の過程でタウが蓄積するが、顕著な神経変性には至らない。一方、ADでは初期に青斑核神経が脱落するため、タウ病理が海馬や大脳皮質へ拡大する起点になっている可能性が指摘されている。従って、青斑核神経の変性を防ぐことは、正常老化脳がAD病態脳へ遷移するのを抑止する、重要な治療標的であると考えられる。しかし、なぜADでは初期に青斑核神経細胞が脱落するのかは明らかではない。

これまでに、AD発症前・初期のAβ病理を模すモデルマウス (APPNLGF-KI) を用い、青斑核が脱落する前に、大脳皮質や海馬に投射した青斑核神経の軸索が変性・退縮することを見出した (論文発表2)。この結果は、AD脳では、老化に伴いタウを蓄積した青斑核神経の軸索が、大脳皮質のAβ病理により慢性的に傷害され、ついには神経細胞死が引き起こされることを示唆している。従って、Aβ病理による青斑核神経の軸索変性メカニズムを解明することで、ADの発症や進行を抑止する先制治療標的を同定できる可能性がある。

そこで、軸索変性の機序を解明するために、Aβ病理モデルマウスの青斑核神経細胞における遺伝子発現解析を行った。青斑核神経細胞特異的なPRIS×8プロモーター下で、タグ付リボソームタンパク質 (Ribo-Tag) を発現するAAVを作製し、6ヶ月齢の野生型マウスとAPPNLGF-KIマウスの青斑核に作製したAAVの投与を行い、3週間後に青斑核を摘出、青斑核神経細胞特異的RNAを回収しRNAシーケンス解析を行った (図5A)。その結果、発現上昇遺伝子を356遺伝子、発現低下遺伝子を635遺伝子 (有意水準 $p < 0.05$) 同定した (図5A)。これら発現変動遺伝子を用いてパスウェイ解析を行い、遺伝子Hや遺伝子Iのシグナル伝達、分子シャペロンやコレステロール代謝に関わる経路が変化していることを見出した (図5A)。これらの中でも、神経血管ユニットの維持や神経細胞の生存に関わる遺伝子Hや遺伝子Iのシグナル伝達の下に注目し、Aβ病理モデルマウス脳内での遺伝子H等のリガンドの分布を免疫組織染色にて調べた。その結果、野生型マウスでは遺伝子H-



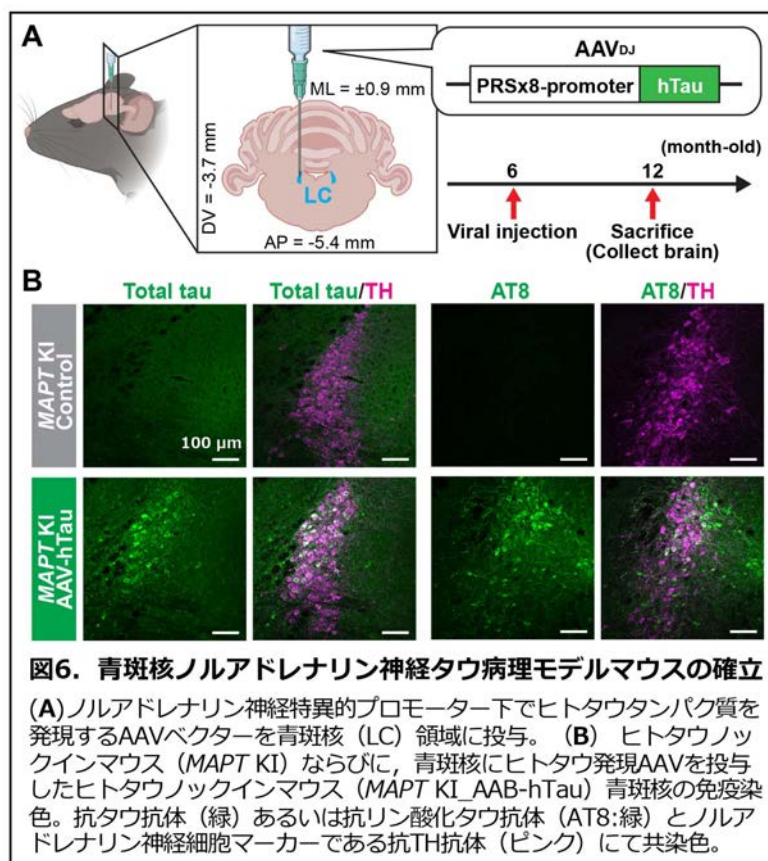
Aは脳血管周囲に沿ったアストロサイト終足に分布しているのに対し、Aβ病理モデルマウスでは脳血管周囲からAβ斑の周辺へと分布が変化していることを見出した(図5B)。これらの結果と研究計画1-1)の結果を統合的に考え、Aβ病理によりアストロサイトが活性化された結果、神経血管ユニットの構成や細胞間シグナル伝達が乱れて、青斑核神経の軸索変性が惹起される可能性を着想した(図5C)。現在、免疫組織学的手法により遺伝子Hや遺伝子Iシグナル伝達経路に関わる分子の脳内局在を解析し、AAVによる遺伝子導入法を用いて軸索変性の機序解明と治療標的の同定を進めている。

計画4：AD初期の中核病理を模す新規モデル動物開発(飯島/榊原/廣田/関谷)

AD発症の前・初期に見られる脳病態を標的としたトランスレーショナル研究への利用や、ADの中核病変であるAβ斑やタウ病理の形成を未然に防ぐ方法を効率的に探索するために、以下3つの新規ADモデル動物の開発を進めている。

4-1) 青斑核ノルアドレナリン神経タウ病理モデルマウスの開発

APPNLGF-KIマウスは大脳皮質にAβ病理を呈するが、ADの初期に見られる皮質下青斑核のタウ病理を呈さない(論文発表2)。そこで、ヒトタウ(0N4R型)をマウス青斑核に特異的に発現できるAAVを作製した。さらに、ヒトタウ病理をより忠実に再現するために、APPNLGF-KIマウスの内在性タウをヒト化したダブルノックインマウス(APPNLGF-KI/Tau-KIマウス)を作製した。また、ヒトタウ発現AAVをヒトタウノックイン(Tau-KI)マウス



スの青斑核に投与して、青斑核の神経細胞体ならびに大脳皮質の投射軸索でタウの高発現できることを確認した(図6, 前ページ)。現在までに、Tau-KI マウス, ならびに APPNLGF-KI/Tau-KI の青斑核へのヒトタウ発現 AAV の投与を完了し、投与後 6 ヶ月, 12 ヶ月の脳組織を回収し解析を進めている。本研究により、大脳皮質での A β 病理の増悪により、タウを蓄積した青斑核神経細胞が脱落するのか、タウ病理が海馬や大脳皮質へと拡大するのかを明らかにし、AD 発症前・初期の脳病理をより忠実に再現し、トランスレーショナル研究に利用できるモデルマウスを開発する。

4-2) ノルアドレナリン・オクトパミン神経タウ病理モデルショウジョウバエの開発

青斑核ノルアドレナリン神経には正常老化の最初期にタウ病理が出現し、他の脳領域へのタウ病理伝播の起点となっている可能性が指摘されている。従って、老化に伴うノルアドレナリン神経細胞へのタウ蓄積を防ぐことは、重要な予防・先制治療標的と考えられるが、その分子機序は不明である。そこで、タウ蓄積に関わる因子を効率的に探索するために、新規モデルショウジョウバエを作製した。ショウジョウバエには、ヒトのノルアドレナリン神経に相当するオクトパミン神経が存在する(図7A)。そこで、オクトパミン神経特異的にヒトタウを発現させる新規モデルを作製した(図7B-C)。このモデルショウジョウバエでは、加齢依存的にタウやリン酸化タウが蓄積し、生存率が有意に減少した。また、加齢飼育後に夜間睡眠時間の低下傾向が認められた。そこでこのモデルを用いて、タウの量やリン酸化レベルを変化させる遺伝子の探索や、オクトパミン神経の活性や睡眠量とタウ蓄積の関係について研究を進めている。

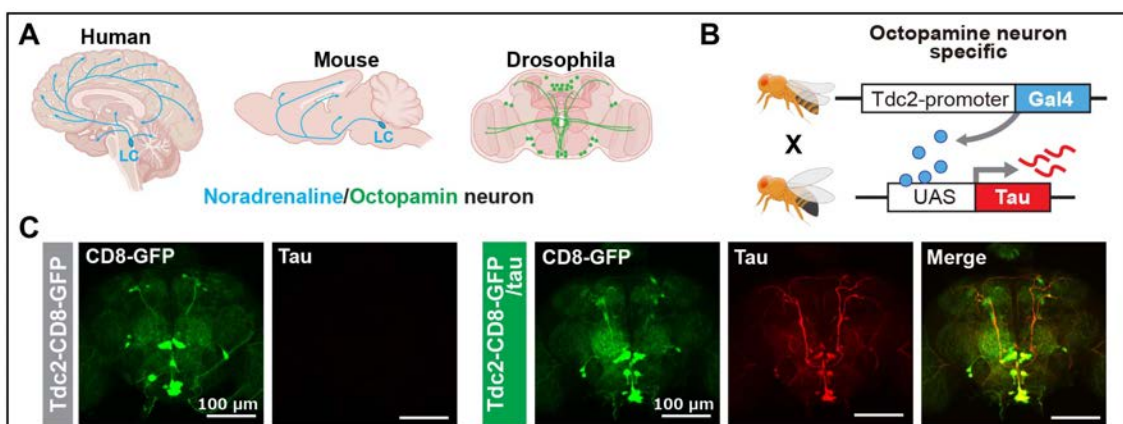


図7. ノルアドレナリン/オクトパミン神経タウ病理モデルショウジョウバエの確立

(A) ショウジョウバエには、ヒトやマウスのノルアドレナリン神経(水色)に相当するオクトパミン神経(緑)が存在する。LC: 青斑核。(B) GAL4/UASシステムによるオクトパミン神経特異的なタウタンパク質の発現。(C) オクトパミン神経タウ病理モデルショウジョウバエ脳の免疫染色。抗GFP抗体(オクトパミン神経特異的にタウおよびCD8-GFPを発現, 緑), 抗タウ抗体(赤)。

4-3) 新規 A β 病理モデルショウジョウバエの開発

これまでに、脳神経細胞でヒト A β を産生・分泌する新規モデルショウジョウバエを作製した。この系を用いる利点は、A β 斑形成前の単量体 A β の産生, 分解, 排出に関わる遺伝子群を効率的に同定できることにある。RNAi 法を用いて、神経細胞特異的, あるい

はグリア細胞特異的に任意の遺伝子発現を抑制し、脳内の A β 量を変化させる遺伝子を同定した。哺乳類相同遺伝子の解析も進め、A β の蓄積を防ぐ予防法の開発につなげる。また、当研究部で開発し、世界中で利用されている A β 毒性モデルショウジョウバエの表現型解析の標準プロトコルを発表した（論文発表 1）。さらに、研究計画 1 で同定したアストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークの構成遺伝子の中から、AD の治療薬標的となりうるアストロサイト貪食機能に関わる遺伝子を効率的に探索するために、グリア細胞による傷害神経の貪食活性を評価するショウジョウバエモデルを確立した（論文発表 7、*iScience*, 2023, 26(2): 105968）。具体的には、蛍光標識した嗅覚神経の細胞体を物理的に傷害し、脳内に残存した神経軸索がグリア細胞により除去される速度を評価する。このモデルを用いて、老化脳でグリア貪食能が低下する分子メカニズムの解明と食餌による抑止法の探索を進めている。

D. 考察と結論

本研究は、アルツハイマー病発症初期の病態メカニズム解明から、先制治療法開発のための治療標的やバイオマーカーの同定を目的としている。これまでに、AD 患者脳由来の遺伝子共発現ネットワーク解析と A β 病理マウス脳における遺伝子発現データを統合し、AD 発症前・初期に脳病態が形成される過程を反映する遺伝子ネットワークを同定した。本研究では、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークに着目して研究を進めている。

研究計画 1 の 1-1) では、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークの変化が反映する脳病態を、A β 病理モデルマウス脳内で可視化することで、脳実質の A β 病理に対するアストロサイトの活性化が、神経血管ユニットの構成を慢性的に破綻させ、神経突起変性や認知機能低下を引き起こす可能性を見出した（論文投稿準備中）。さらに、反応性アストロサイトの活性化に関わる分子群や、AQP4、遺伝子 D、遺伝子 E 等、A β 病理下で機能失調するアストロサイト終足分子を同定し、これらが AD 初期の脳病態の形成に果たす役割を明らかにすることで、神経炎症を起点とする神経血管ユニットの破綻を防ぐ新たな治療標的の探索を進めている。研究計画 1-2) では、TDP-43 蓄積と海馬萎縮を伴う加齢性海馬硬化症のリスク遺伝子 *遺伝子 A* の機能を遺伝学的・薬理的に抑制することで、TDP-43 の凝集と神経変性を抑制できること、さらにその機序として糖の取り込みの向上が関与することを、ショウジョウバエモデルとヒト培養細胞を用いて明らかにした（論文投稿準備中）。TDP-43 病理は筋萎縮性側索硬化症だけでなく、AD 患者の約半数でも見られることから、認知症の重要な治療標的と考えられる。今後は TDP-43 病理モデルマウスを用いて、*遺伝子 A* 阻害の治療効果について検討を進める。一方で、*遺伝子 A* の機能は、A β 病理が惹起する神経炎症から神経血管ユニットの破綻において保護的に働くことも見出し、*遺伝子 A* の持つ 2 面性について解析を進めていく。研究計画 1-3) では、AD プレクリニカル期の血液バイオマーカーとして注目を集めるリン酸化タウが、大脳皮質で A β 病理が引き起こす、興奮性神経細胞のシナプス変性や (*Brain Communications*, 2022, 4(6))、抑制

性神経細胞の軸索変性を反映していることを見出した (*Journal of Alzheimer's Disease*, 2023)。今後は、ヒト剖検脳を用いた解析を進め、新たな神経変性バイオマーカー開発の必要性を考察する。

研究計画 2 と 3 では、AD 初期に見られる神経変性として、抑制性介在神経変性と青斑核ノルアドレナリン神経軸索変性に着目して研究を進めた。研究計画 3 では、A β 病理下で変性しつつある青斑核神経細胞特異的な遺伝子発現解析から、神経保護的に働く複数のシグナル経路の同定に成功した。一方、青斑核ノルアドレナリン神経軸索は神経血管ユニットを構成することが知られているが、研究計画 1 の遺伝子ネットワーク解析から、A β 病理が惹起する神経血管ユニットの破綻が、青斑核神経軸索変性の原因となっている可能性が高いと考えられる。今後、同定したシグナル経路の神経保護作用を調べ、青斑核神経軸索変性を防ぐ新たな治療標的の同定につなげる。また研究計画 2 の抑制性介在神経変性についても、遺伝子発現解析から分子機序の糸口を見出しつつあり、新たな治療標的の同定を目指す。研究計画 4 では引き続き、トランスレーショナル研究に資するモデル動物の開発を進める。本年度はこれまでに、グリア細胞による傷害神経の貪食活性を評価するショウジョウバエモデルを確立し論文投稿した (*iScience*, 2023, 26(2):105968)。

本研究により、AD 発症の前・初期に起こる脳病態の形成機序を解明し、AD 脳病態の進行を詳細に検出できる病態マーカーや、神経変性を未然に防ぐ予防・治療薬の標的を同定することで、国民の保険・医療・福祉の向上等、大きな社会的成果が挙げられると期待できる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) **Sekiya, M., Iijima, K.M.** Phenotypic analysis of a transgenic *Drosophila* model of Alzheimer's amyloid- β toxicity. *STAR Protoc.* 2021, 2(2):100501. doi: 10.1016/j.xpro.2021.100501.
- 2) Sakakibara, Y., Hirota, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Chikamatsu, S., Tsubokawa, Y., Saito, T., Saido, T.C., **Sekiya M., Iijima K.M.** Widespread Reduced Density of Noradrenergic Locus Coeruleus Axons in the *App* Knock-In Mouse Model of Amyloid- β Amyloidosis. *J Alzheimers Dis.* 2021, 82(4):1513-1530. doi: 10.3233/JAD-210385.
- 3) Nozawa, N., Noguchi, M., Shinno, K., Tajima, M., Aizawa, S., Saito, T., Asada, A., Ishii, T., Ishizuka, M., **Iijima, K.M.**, Ando, K. 5-aminolevulinic acid and sodium ferrous citrate ameliorate muscle aging and extend healthspan in *Drosophila*. *FEBS Open Bio.* 2022, 12(1):295-305. doi: 10.1002/2211-5463.13338.

- 4) 関谷倫子, 飯島浩一, 治療戦略から考えるアルツハイマー病の神経炎症, 生体の化学, 72(5) 446-449. 2021年10月15日発行
- 5) 関谷倫子, アルツハイマー病の新たな遺伝子変異 (実験医学ミニレビュー), 実験医学, 40(1) 61-62, 2022年1月号
- 6) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Iijima, K.M., Sekiya, M. Distinct brain pathologies associated with Alzheimer's disease biomarker-related phospho-tau 181 and phospho-tau 217 in *App* knock-in mouse models of A β amyloidosis. *Brain Communications*. 2022, 4(6):fcac286. doi: 10.1093/braincomms/fcac286.
- 7) Sakakibara, Y., Yamashiro, R., Chikamatsu, S., Hirota, Y., Tsubokawa, Y., Nishijima, R., Takei, K., Sekiya, M., Iijima, K.M. *Drosophila Toll-9* is induced by aging and neurodegeneration to modulate stress signaling and its deficiency exacerbates tau-mediated neurodegeneration. *iScience*, 2023, 26(2):105968. doi: 10.1016/j.isci.2023.105968.
- 8) 関谷倫子, 興隆するアルツハイマー病治療薬の開発 (実験医学ミニレビュー), 実験医学, 41(6) 932-933, 2023年4月号
- 9) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Takei, K., Nishijima, R., Sekiya, M., Iijima, K.M. Alzheimer's disease-related phospho-tau181 signals are localized to demyelinated axons of parvalbumin-positive GABAergic interneurons in an *App* knock-in mouse model of amyloid-pathology. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2023, 93(3):1065-1081. doi: 10.3233/JAD-230121.

2. 学会発表

- 1) 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一, ショウジョウバエの食餌制限によるグリア食食能低下と食食能への必須アミノ酸の役割, 第85回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム 2021年5月22日, オンライン開催
- 2) Sakakibara, Y., Hirota, Y., Chikamatsu, S., Ibaraki, K., Takei, K., Zhou, M., Abe, H., Sekiya, M., Iijima, K.M. Cognitive function and brain pathology in mice with a heterozygous deficiency in *遺伝子 A*, a gene associated with hippocampal sclerosis of aging., Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2021) 7/26-30, 2021, WEB 開催
- 3) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Iijima, K.M., Sekiya, M. Localization of AD biomarker phospho-tau proteins in the brains of *App* knock-in mouse model of A β amyloidosis. Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2021)7/26-30, 2021, WEB 開催
- 4) 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一, ショウジョウバエの食餌制限によるグリア食食能低下に寄与する食餌因子の探索, 第94回日本生化学会大会, 2021年11月3-5日, WEB 開催

- 5) 関谷倫子, Wang Minghui, 権秀明, Schadt Eric, Brennand Kristen, Zhang Bin, 飯島浩一, 遺伝子ネットワーク解析によるアルツハイマー病の治療薬探索, 第 94 回日本生化学会大会, 2021 年 11 月 3 日, WEB 開催, シンポジウム: 認知症発症のリスクとメカニズムの多様性, アルツハイマー病の高精度診断法と治療法開発に向けて
- 6) 榊原泰史, 廣田湧, 近松幸枝, 茨木京子, 竹井喜美, 周明, 阿部寛, 関谷倫子, 飯島浩一, 加齢性海馬硬化症関連遺伝子 *遺伝子 A* のヘテロ欠損マウスにおける認知機能と脳病理の解析, 第 40 回日本認知症学会学術集会, 2021 年 11 月 26-28 日, ハイブリッド開催
- 7) 廣田 湧, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 飯島浩一, 関谷倫子, *App* ノックインマウスにおける AD バイオマーカー関連リン酸化タウの脳内局在解析, 第 40 回日本認知症学会学術集会, 11/26-28, 2021, ハイブリッド開催, ポスター発表
- 8) 近松幸枝, 坪川陽子, 西島里咲, 糸和彦, 飯島浩一, 関谷倫子, ノルアドレナリン/オクトパミン神経細胞タウ毒性モデルショウジョウバエの作製と解析, 第 40 回日本認知症学会学術集会, 11/26-28, 2021, ハイブリッド開催, ポスター発表
- 9) 近松幸枝, 坪川陽子, 西島里咲, 竹井喜美, 糸和彦, 飯島浩一, 関谷倫子, ノルアドレナリン/オクトパミン神経に着目したアルツハイマー病タウ毒性モデルショウジョウバエの確立, 第 86 回 日本生化学会 中部支部例会, フラッシュトーク, 5 月 21 日, オンライン開催
- 10) 山城梨沙, 榊原泰史, 近松幸枝, 坪川陽子, 西島里咲, 竹井喜美, 関谷倫子, 飯島浩一, ショウジョウバエ Toll 受容体 9 は自然免疫応答には影響を与えず JNK シグナル伝達経路を調節し神経保護作用を発揮する, 第 86 回 日本生化学会 中部支部例会, シンポジウム, 5 月 21 日, オンライン開催
- 11) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Iijima, K.M., Sekiya, M., A β 病理モデルマウスを用いたアルツハイマー病血液バイオマーカーリン酸化タウ 181, 217, 231 の脳内局在解析, Brain pathologies associated with phospho-tau 181, 217 and 231, fluid biomarkers for Alzheimer's disease, in *App* knock-in mouse models of A β amyloidosis, Neuro2022 (第 45 回日本神経科学大会, 第 65 回日本神経化学会大会, 第 32 回日本神経回路学会大会, 合同), 6 月 30 日, 沖縄
- 12) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Nishijima, R., Iijima, K.M., Sekiya, M., Reduced density of cholinergic fibers in *App* knock-in mouse models of A β amyloidosis, Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2022) 7/31-8/4, 2022, San Diego, ハイブリッド開催
- 13) Sakakibara, Y., Yamashiro, R., Chikamatsu, S., Tsubokawa, Y., Nishijima, R., Takei, K., Iijima, K.M., Sekiya, M., A *Drosophila* ortholog of Toll-like receptors modulates c-Jun N-terminal kinase signaling and protects against tau-mediated neurodegeneration independent of innate immune response, Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2022) 7/31-8/4, 2022, San Diego, ハイブリッド開催

- 14) 関谷倫子, 廣田 湧, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 飯島浩一, アミロイド病理モデルマウスを用いたアルツハイマー病血液バイオマーカーリン酸化タウ 181, 217, 231 の脳内局在解析, 第 95 回 日本生化学会大会 シンポジウム, 認知症の complexity : その理解と治療介入へ向けて, 11 月 10 日, 名古屋国際会議場
- 15) 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一, 加齢ショウジョウバエの脳内浄化システムと寿命制御に関わるグリア細胞由来分泌因子の同定と解析, 第 95 回 日本生化学会大会, 口頭発表 11 月 9 日, ポスター発表 11 月 11 日, 名古屋国際会議場
- 16) 真野叶子, 鈴木えみ子, 三浦ゆり, 飯島浩一, 安藤香奈絵, 神経細胞内ミトコンドリア局在は翻訳開始因子 eIF2 を介してオートファジーを制御する, 第 95 回 日本生化学会大会, 口頭発表 11 月 11 日, ポスター発表 11 月 10 日, 名古屋国際会議場
- 17) 廣田 湧, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 西島里咲, 飯島浩一, 関谷倫子, A β 病理を呈する App ノックインマウスにおけるコリン作動性神経軸索の変性, 第 41 回 日本認知症学会学術集会/第 37 回 日本老年精神医学会, ポスター発表 11 月 26 日, 東京国際フォーラム
- 18) 榊原泰史, 廣田 湧, 茨木京子, 竹井喜美, 西島里咲, 田部勝也, 谷澤幸生, 関谷倫子, 飯島浩一, ウォルフラム症候群の原因遺伝子 WFS1 の欠損が加齢性脳病理に及ぼす影響の解析, 第 41 回 日本認知症学会学術集会/第 37 回 日本老年精神医学会, ポスター発表 11 月 25 日, 東京国際フォーラム
- 19) 近松幸枝, 坪川陽子, 西島里咲, 竹井喜美, 桑 和彦, 飯島浩一, 関谷倫子, ノルアドレナリン/オクトパミン神経に着目したタウ毒性モデルショウジョウバエの確立, 第 41 回 日本認知症学会学術集会/第 37 回 日本老年精神医学会, ポスター発表 11 月 25 日, 東京国際フォーラム
- 20) 菊地正隆, 廣田 湧, 原 範和, 榊原泰史, 関谷倫子, 宮下哲典, 池内 健, 飯島浩一, 網羅的遺伝子発現解析によるアルツハイマー病早期変動遺伝子の同定, 第 41 回 日本認知症学会学術集会/第 37 回 日本老年精神医学会, ポスター発表 11 月 25 日, 東京国際フォーラム, ポスター発表 11 月 25 日, 東京国際フォーラム
- 21) Sakakibara, Y., Yamashiro, R., Chikamatsu, S., Tsubokawa, Y., Nishijima, R., Takei, K., Sekiya, M., Iijima, K.M., Toll-like receptor exerts neuroprotection through p38 MAPK/SAPK in *Drosophila* model of tauopathy, Alzheimer's & Parkinson's Diseases Conference (AD/PD 2023), 3/28-4/1, 2023, Gothenburg, Sweden, ハイブリッド開催
- 22) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Nishijima, R., Sekiya, M., Iijima, K.M., Biomarker-related phospho-tau 181 signals localize to axons of myelinated neurons but not unmyelinated neurons in *App* knock-in mouse, Alzheimer's & Parkinson's Diseases Conference (AD/PD 2023), 3/28-4/1, 2023, Gothenburg, Sweden, ハイブリッド開催
- 23) Chikamatsu, S., Tsubokawa, Y., Nishijima, R., Takei, K., Kume, K., Iijima, K.M., Sekiya, M., A *Drosophila* model of tau accumulation in noradrenaline/octopamine neurons, Alzheimer's & Parkinson's Diseases Conference (AD/PD 2023), 3/28-4/1,

2023, Gothenburg, Sweden, ハイブリッド開催

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