

長寿医療研究開発費 2025年度 総括研究報告

アルツハイマー型認知症の神経変性メカニズム解明とバイオマーカー・治療標的探索 (24-20)

主任研究者 飯島 浩一 国立長寿医療研究センター 神経遺伝学研究部（部長）

研究要旨

人口の高齢化に伴い、認知症の最大の原因であるアルツハイマー病（AD）患者数が急速に増加しており、大きな社会問題となっている。近年、高感度・高精度のバイオマーカーの開発が進み、ADの発症前診断が可能になりつつある。また、抗アミロイドβ（Aβ）抗体薬も承認され、ADの治療に新たな選択肢が加わった。しかし現在のところ、新薬の適応範囲並びに治療効果は限定的であり、さらなる治療法の開発が望まれている。

ADの脳では、大脳皮質にAβ病理が蓄積し、慢性的な神経炎症、脳血管障害、神経突起の変性が生じている。一方、神経細胞の脱落は、大脳皮質でのAβ病理の重篤化に伴い、脳幹の青斑核や縫線核、大脳皮質下のマイネルト基底核、海馬などから始まることが知られている。青斑核と縫線核は、それぞれノルアドレナリン神経とセロトニン神経の細胞体が集まる神経核であり、広く脳全体に軸索を投射して、情動や睡眠、認知機能などを制御する。一方、マイネルト基底核は、アセチルコリン神経の神経核であり、大脳皮質に軸索を投射して認知機能の制御に関わる。

これらの神経核の脱落は、ADで見られる周辺症状や認知機能低下に関わると考えられ、症状改善薬の標的になっている。また、これらの神経核には老化に伴いタウが蓄積するため、その変性脱落は脳の広範な領域へのタウ病理の拡大に寄与している可能性がある。従って、大脳皮質でのAβ病理の蓄積が、皮質下の神経核から投射する神経軸索を傷害するメカニズムを明らかにし、その変性を防ぐ治療標的を同定できれば、ADの進行を初期の段階で抑止する治療法の開発につながる可能性がある。しかし、その変性機序は不明である。

本研究では、ADの前駆期から初期に進行していると考えられるが、大脳皮質や海馬に比べて知見が少なく不明な点が多い、脳深部の神経核から大脳皮質へ投射するノルアドレナリン、セロトニン、アセチルコリン神経系の変性メカニズムを解明し、神経軸索を保護しその再生を促す治療標的を同定する。また、Aβ病理の蓄積に伴い亢進する神経炎症、特に反応性アストロサイトの活性化を制御することで、神経軸索の変性を抑制できるかを調べる。さらに、AD型認知症患者の多くに併存する、αシヌクレイノパチーやTDP-43病理に着目し、これらの併存病理に基づいて認知症患者を層別化するためのバイオマーカー探索

や、併存病理存在下での疾患メカニズムの解明と治療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 神経遺伝学研究部（部長）

分担研究者

関谷 倫子 国立長寿医療研究センター 神経遺伝学研究部（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。ADは、脳内でのアミロイド β ペプチド（A β ）の蓄積が発症の原因と考えられており、脳内のA β 除去を目的とした抗A β 抗体薬が開発されたが、その適応範囲はADによる軽度認知障害～軽度のADと限定的である。抗A β 抗体薬は、神経変性を生じる前、タウ病理の比較的少ないAD患者において治療効果が大きいことが報告されており、抗体薬の適応から外れるような発症後のAD患者に対する治療薬、さらに、抗A β 抗体薬と併用でき、可逆的な段階で神経変性を抑止する薬剤の開発が求められている。このような状況の下、AD治療薬開発の標的は、ADプレクリニカル期の脳病態へと拡大している。本研究は、A β 病理が引き起こす神経変性のメカニズムを解明し、抗A β 抗体薬とは異なる機序を介して、神経細胞の保護や再生を促す治療標的の同定を行う点に特色がある。さらに、ADの併存病理にも着目し、併存病理存在下での病態増悪メカニズムの解明と治療標的、層別化バイオマーカーの同定を目指す。

主任研究者らは、これまでの長寿医療研究開発費研究等において、A β 病理モデルマウスとヒト剖検脳を用いた免疫組織学的解析から、A β 病理に対するアストロサイトの慢性的な活性化により、神経血管ユニットの構成やアストロサイトが担う神経保護機能が破綻し、皮質下や脳幹の神経核から大脳皮質へ投射する神経軸索の変性が引き起こされる可能性を見出した。さらに、モデルマウスとヒト剖検脳を用いて、青斑核ノルアドレナリン神経細胞特異的な遺伝子発現解析を行い、神経軸索の維持に関わる分子群を見出した。これら独自性の高い研究結果に基づき、**研究計画1**では、ADのプレクリニカル期から初期に進行する、ノルアドレナリン、セロトニン、アセチルコリン神経軸索の変性メカニズムを解明し、神経軸索を保護しその再生を促す治療標的の同定を目指す。さらに**研究計画2**として、A β 病理の蓄積に伴いグリア細胞が活性化した慢性的な神経炎症、特に反応性アストロサイトの活性化を制御することで、神経軸索の変性を抑制できるかを調べる。またAD患者の多くには、 α シヌクレイノパチーやTDP-43病理が併存し、認知機能の増悪に関与することが報告されている。そこで**研究計画3**では、A β やタウ病理に加え、これらの併存病理を呈する新規モデルマウスを開発し、併存病理存在下でのAD疾患メカニズムの解明とバイオマーカー・治療標的の探索を行う。

B. 研究方法

【研究計画1】アルツハイマー病初期の周辺症状の表出に関わる神経変性の機序解明と抑止法開発

1-1) 青斑核ノルアドレナリン神経系の軸索の変性を抑止する治療標的の探索

A β 病理モデルマウスの青斑核神経特異的な遺伝子発現解析等から、神経栄養因子、神経伝達物質受容体を介した神経活動の賦活化、脂質取り込み等が神経軸索の維持に関わる可能性を見出した。そこで、アデノ随伴ウイルスを用いた遺伝子導入によるアストロサイトからの神経栄養因子の分泌促進、神経伝達物質受容体作動薬の経鼻投与、脂質の取り込み促進や生合成活性の調節により、神経軸索変性を抑制できるかを調べる。またヒト剖検脳を用い、治療標的としての妥当性を検証する。現在進めているヒト青斑核神経細胞でのシングル核RNAシーケンス解析から同定する治療標的候補についても検証を進める。さらに、ショウジョウバエモデルも利用して神経保護作用を持つ遺伝子を探索する。

1-2) アルツハイマー病初期の縫線核セロトニン神経とマイネルト基底核アセチルコリン神経の軸索変性の機序解明と治療標的の探索

A β 病理モデルマウスの大脳皮質では、セロトニン神経系やアセチルコリン神経系の軸索も変性・退縮している。これらの神経軸索を保護する治療薬の開発には、各神経系の軸索変性機序の共通点や相違点を明らかにし、最大の効果を見込める治療標的を同定する必要がある。そこで、A β 病理モデルマウスの神経核に特異的な遺伝子発現解析とヒト剖検脳を用いた検証を行う。ヒト剖検脳切片は東京都健康長寿医療センター（齊藤祐子 部長）より提供を受ける。

【研究計画2】反応性アストロサイト活性化の機序解明とその抑制による神経保護効果の解析

2-1) 反応性アストロサイトの活性化抑制による神経軸索保護効果の解析

AD脳ではアストロサイトが活性化し、脳内の恒常性が乱れて神経変性が生じている可能性があり、その正常化は重要な治療標的と考えられる。計画2では、A β 病理モデルマウス脳において、アストロサイト活性化に関わる経路の阻害、またアストロサイト活性化への関与を見出したCD38に対する阻害薬やCD38ノックアウトマウス、さらにGFAP陽性アストロサイト出現を低下させることが知られる *Tyrobp* ノックアウトマウス等を用い、アストロサイト活性化抑制による軸索変性と脳病理への影響を調べる。

2-2) 反応性アストロサイトの活性化に関わる新規遺伝子の探索

マウス，ヒト由来の培養アストロサイト細胞（KT-5，U-251MG等）を用い，反応性アストロサイトの活性化に関わる遺伝子と，CD38などのアストロサイトの活性化に関わる酵素の活性を阻害する薬剤を探索する。

【研究計画3】アルツハイマー型認知症の併存病理に関する研究

3-1) TDP-43病理が引き起こす神経変性への修飾因子*ABCC9*遺伝子の解析

TDP-43病理はADの30～60%に併存し，記憶障害や海馬萎縮と相関することから，重要な治療標的と考えられる。これまでに，加齢性海馬硬化症のリスク遺伝子である*ABCC9*の発現低下が，TDP-43病理や神経変性を抑制することを，ショウジョウバエモデルを用いて見出した。本計画では，TDP-43病理モデルマウスを用い，*ABCC9*の発現低下によるTDP-43病理形成への抑制効果と，その機序を解明する。

3-2) 脳領域特異的に α -シヌクレインを蓄積する新規モデルマウスの開発

レビー小体病理(α -シヌクレイン凝集体)は，ADにも併存する。パーキンソン病(PD)では，レビー小体病理は末梢自律神経系から脳幹を上行し中脳や大脳に拡大すると考えられ，一方ADでは扁桃体から海馬を中心に認められる。従って，領域特異的なレビー小体病理の形成機序や，疾患特異的なバイオマーカー探索には，新たなモデルマウスが必要である。本計画では，末梢神経や脳領域特異的に α -シヌクレインを蓄積するモデルマウスを作製し，さらに大脳皮質のA β 病理や青斑核や海馬でのタウ病理も併存する新規モデルマウスを作製する。

3-3) アミロイド病理，TDP-43病理，ならびにレビー小体病理が引き起こす神経機能変化を検出する新規血液バイオマーカーの探索

認知症の脳病理や神経変性（器質的変化）を反映する血液バイオマーカーが確立されつつある。一方，脳神経系へのA β 42やリン酸化タウ， α -シヌクレインやTDP-43などの蓄積に伴う中枢神経系，さらに末梢臓器で生じる変化を客観的に捉える血液バイオマーカーの確立は，治療薬の開発や治療薬の投与による改善効果を測定する上で重要である。計画3-3では，脳病理の進行に伴い，中枢や末梢で生じる機能的変化を反映する血液バイオマーカーの開発を目指す。細胞膜を構成するコレステロールは，神経細胞の生存や修復，神経活動に必須であり，細胞外からのコレステロールの取り込み不全や，細胞修復の必要性に伴い，神経細胞内での合成が上昇すると考えられる。そこで，神経細胞に特異的な代謝産物である24(S)-ヒドロキシコレステロールを中心に，各病理モデルマウス血漿中のコレステロール代謝産物濃度を測定し，脳病態の進行との関係を解析する。

（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。また、ヒト剖検脳を用いた実験は、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」、その他の関連法令に従い、国立研究開発法人国立長寿医療研究センターおよび関係機関の倫理委員会にて審査、承認の下に実施した。

C. 研究結果

【研究計画1】アルツハイマー病初期の周辺症状の表出に関わる神経変性の機序解明と抑止法開発

A β 斑の蓄積からアルツハイマー病(AD)発症に至るまでの数十年間に渡る「AD プレクリニカル期」に、どのように神経変性が進行していくのかは不明であり、そのメカニズムの解明は、新たなバイオマーカーや予防法、先制治療法を開発する上で必要である。これまでに、AD プレクリニカル期を模す A β 病理モデルマウスの解析から、大脳皮質に形成された A β 斑の近傍に血液バイオマーカーリン酸化タウ (p-tau217) 陽性のシナプスが出現し、さらに髄液バイオマーカーリン酸化タウ (p-tau181) 陽性の有髄神経の軸索が変性していることを報告した (Hirota et. al., *Brain Commun*, 2022, Hirota et. al., *JAD*, 2023)。また、これら A β 斑近傍での神経突起変性に加えて、神経炎症(グリア細胞の活性化)の亢進に伴い、大脳皮質の広範な領域で、皮質下や脳幹から投射するノルアドレナリン、アセチルコリン、セロトニン神経系の神経軸索が変性・退縮していることを見出し報告してきた (Sakakibara et. al., *JAD*, 2021, Hirota et. al., *JAD*, 2023, 論文準備中)。

以上の結果に基づいて、長寿医療研究開発費の前課題、本課題ならびに AMED 認知症研究開発事業において、ヒト剖検脳を用いて、AD プレクリニカル期に進行する神経変性とその機序を明らかにする研究を開始した。これまでに、A β 病理がない健常若齢と健常高齢脳、A β 病理を呈するがタウ病理が少ないプレクリニカル AD 脳、A β 病理とタウ病理が顕著な AD 脳を含む AD 連続体 (AD Continuum) の剖検脳 (計 38 検体、東京都健康長寿医療センター・齊藤祐子部長より提供)を用いた免疫組織解析から、AD プレクリニカル期の大脳皮質においても、1) A β 斑の近傍に血液バイオマーカー p-tau217 陽性の肥大化したシナプス that 出現する、2) 健常高齢者の脳では p-tau217 のシグナルは検出できない、3) p-tau217 陽性の肥大化シナプスの出現は神経変性によるものではない、4) p-tau217 陽性シナプスではタウをリン酸化する酵素が活性化している、等を明らかにし、血液中での p-tau217 の増加は、A β 斑の周囲で生じる神経活動やシナプス活性の上昇を反映している可能性を報告した (Hirota et. al., *Cell Reports*, 2025)。一方、従来の髄液バイオマーカー p-tau181 は、p-tau217 とは異なり健常高齢者の興奮性・抑制性神経細胞の軸索に豊富に存在し、AD の進行に伴って、A β 斑の近傍で p-tau181 陽性の神経軸索が変性していること

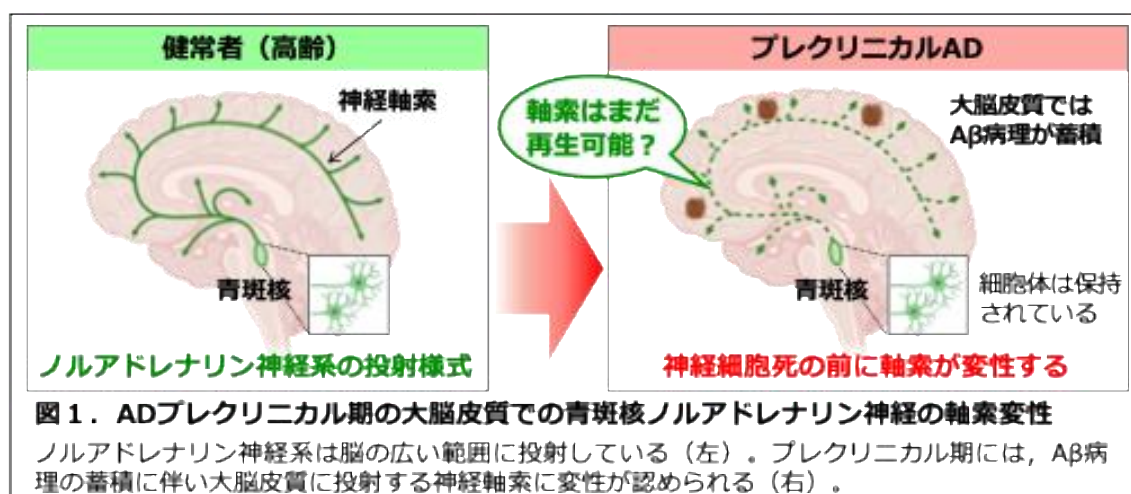
から、p-tau217 と p-tau181 は異なる脳病態を反映するバイオマーカーとして使用できる可能性も示した (Hirota et. al., *Cell Reports*, 2025)。

本研究課題ではさらに研究を進め、AD 初期の周辺症状の表出や認知機能の低下に関与し、AD の脳病態が不可逆的に遷移する最初の転換点である、青斑核ノルアドレナリン神経系の変性機序を中心に、脳深部からの投射神経系の変性メカニズムの解明と治療標的の探索を、ヒト剖検脳と A β 病理モデルマウスを用いて進めた。

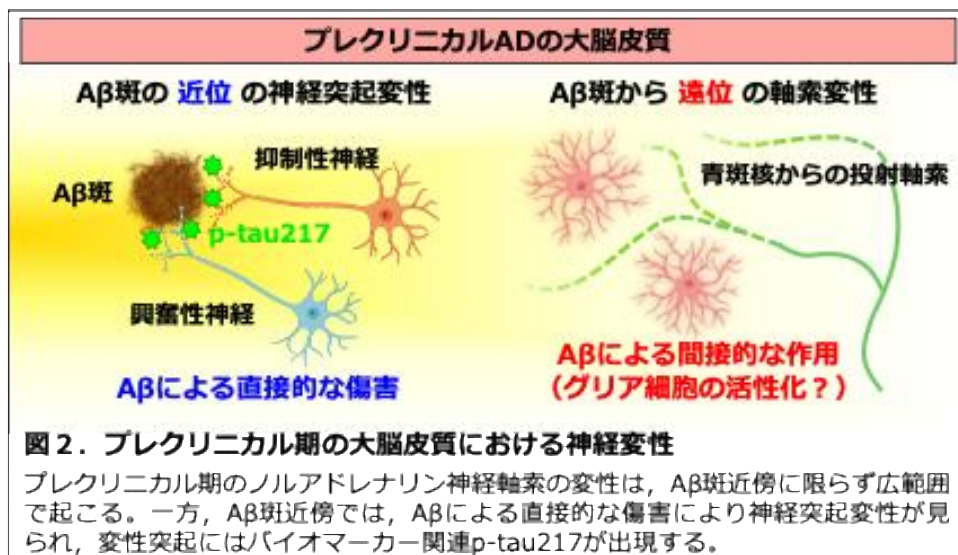
1-1) 青斑核ノルアドレナリン神経系の神経軸索変性を抑止する治療標的の探索

ノルアドレナリン神経系は、脳幹の青斑核に細胞体を有し、長い神経軸索を脳の広範な領域に投射して、情動や覚醒、認知機能の制御に関わり、その活動が保たれるほど認知機能が低下しにくいことが報告されている (Koops, *Alzheimers Dement*, 2025)。また、ヒト青斑核には老化の過程でタウが蓄積し、AD の最初期に脱落することから、タウ病理が脳内で拡大する起点として働く可能性もある。しかし、大脳皮質への A β 病理の蓄積を原因とする AD において、なぜその最初期に遠く離れた脳幹の青斑核が脱落するのかは不明である。

代表者は、ノルアドレナリン神経系が、青斑核にある細胞体から長い神経軸索を大脳皮質へと投射することに注目し (図 1)、AD プレクリニカル期を模す A β 病理モデルマウスの解析から、大脳皮質への A β 病理の蓄積に伴い、ノルアドレナリン神経の投射軸索が変性・退縮することを見出した。一方、青斑核の細胞体は脱落しておらず、神経軸索の変性は、修復・再生できる可能性が考えられた (Sakakibara et. al., *JAD*, 2021)。そこで同様の変化がヒトの脳でも見られるかを調べるために、健常から AD に至る AD 連続体を網羅する計 38 検体 (男性 23 検体、女性 15 検体) の剖検脳を用いて免疫組織解析を行い、AD プレクリニカル期の大脳皮質においても、脳幹の青斑核が脱落する前から、ノルアドレナリン神経の投射軸索が顕著に減少していることを見出した (Sekiya et. al., 論文準備中①)。



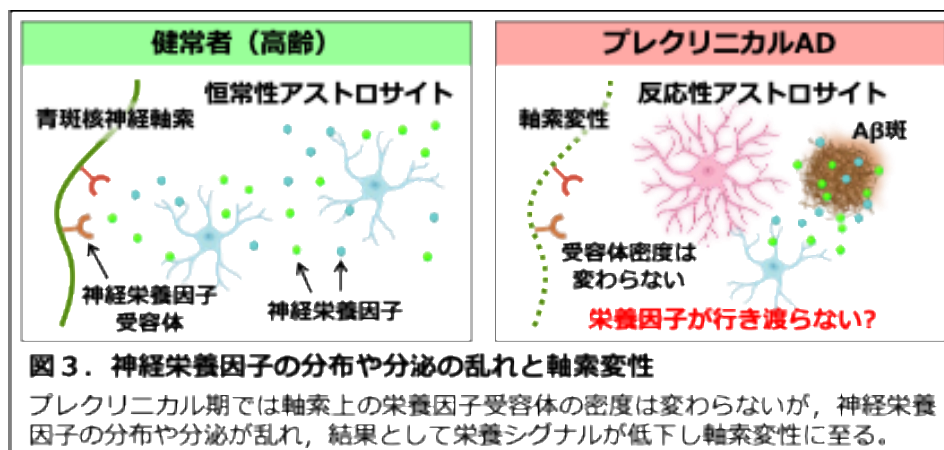
また、ノルアドレナリン神経の投射軸索の変性は、 $A\beta$ 斑に近接する興奮性・抑制性神経の神経突起変性とは異なり、 $A\beta$ 斑の近傍に限らず大脳皮質の広範な領域で認められ（Hirota, *Cell Reports*, 2025）（図 2）， $A\beta$ 病理が直接的・物理的に引き起こす神経突起変性とは異なり、神経炎症など $A\beta$ 病理が惹起する脳病態が関与していると考えられた。



そこで、プレクリニカル AD の大脳皮質で見られるノルアドレナリン神経の軸索の減少が、 $A\beta$ 斑やタウ病理、神経炎症、脳血管障害等のうち、どの脳病態と最もよく相関するのかを調べた。その結果、 $A\beta$ 斑の蓄積に加え、反応性アストロサイトの活性化が、神経軸索の変性と最も良く相関することを見出し、アストロサイトの生理機能の変容が、軸索変性に関わる可能性を着想した（Sekiya et. al., 論文準備中①）。

さらに、解析を進め、反応性アストロサイトの活性化に伴い、神経軸索の維持に関わる神経栄養因子の細胞内分布が変化し、また分泌された栄養因子の一部は、 $A\beta$ 斑に捕捉されていることが明らかとなった（Sekiya et. al., 論文準備中①）。一方、ノルアドレナリン神経の軸索上に発現する神経栄養因子の受容体の分布は病期によって変化していなかった。

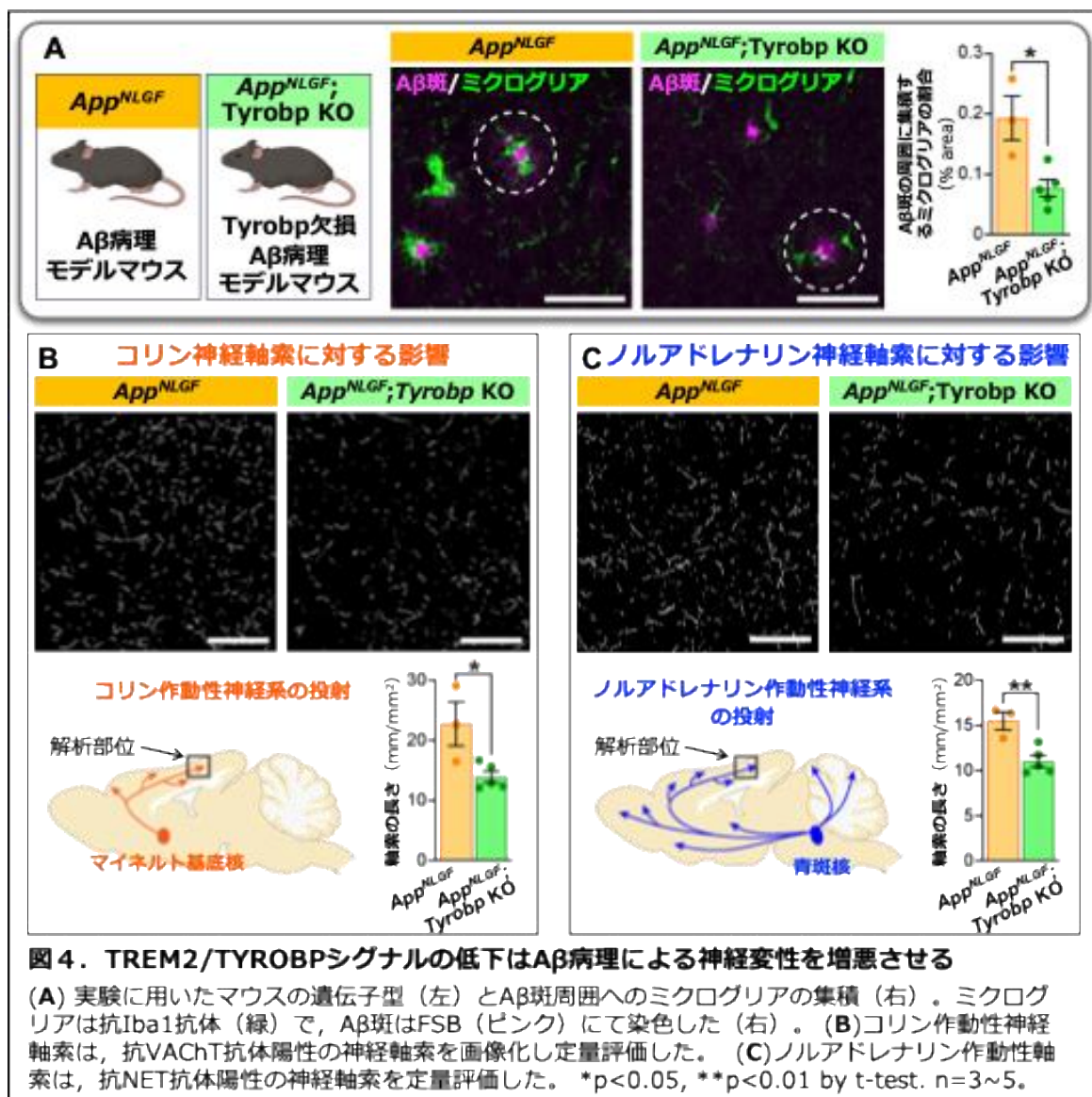
以上から、 $A\beta$ 病理に対する反応性アストロサイトの活性化により、大脳皮質での神経栄養因子の分泌や分布が乱れたことが、青斑核神経などの軸索変性に寄与している可能性が考えられた（図 3）。



この仮説を検証するために、 $A\beta$ 病理モデルマウスを用いて解析を進めた。ヒトと同様にマウスの脳内でも、神経栄養因子 A はアストロサイトの細胞内、さらに分泌されて細胞外に分布する。一方、 $A\beta$ 病理モデルマウスの脳内では、プレクリニカル AD 脳と同様に、反応性アストロサイトの活性化に伴い、神経栄養因子 A のシグナルが $A\beta$ 斑の周囲に集積するなど、その分布が乱れていた (Sekiya et. al., 論文準備中①)。そこで、神経栄養因子 A の分泌増進による保護作用を調べるために、アストロサイトで特異的に発現を誘導し、脳へ送達されやすい血液脳関門透過型のアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターにヒト神経栄養因子 A を搭載し、3 ヶ月齢の $A\beta$ 病理モデルマウスに投与した。眼窩静脈叢への投与から 3 または 9 ヶ月後に脳組織を採取して解析したところ、神経栄養因子 A 投与 9 ヶ月後の群において、対照群と比較してノルアドレナリン神経の投射軸索変性が統計学的有意に抑制された。しかし、その効果は限定的であった (Sekiya et. al., 論文準備中①)。この理由として、神経栄養因子 A 投与後にも、 $A\beta$ 斑の蓄積は増加し、反応性アストロサイトの活性化も亢進し続けることが考えられる。そこで、神経栄養因子 A 単独の投与ではなく、実用化されているレカネマブ (レケンビ) やドナネマブ (ケサンラ) など、 $A\beta$ 病理を減少させる抗 $A\beta$ 抗体薬と併用することが、現実的かつ重要であると考えた。そこで、マウス用に調整されたレカネマブやドナネマブを供与頂く共同研究体制を構築した。今後は、抗 $A\beta$ 抗体薬の単独投与による神経軸索の保護効果と、抗 $A\beta$ 抗体薬と神経栄養因子 A 等の神経保護因子の併用投与による神経軸索の保護効果を比較検討し、より効果的な治療法の開発へと展開していく。

さらに、並行して進める認知症研究開発事業では、AD プレクリニカル期に始まる青斑核ノルアドレナリン神経変性の分子機序をより包括的に捉えるために、健常高齢脳とプレクリニカル AD 脳から青斑核を切り出して、シングル核解析を行った。その結果、AD プレクリニカル期の青斑核ノルアドレナリン神経において、接着因子 A など 18 種類の細胞接着分子の発現が低下し、また神経軸索が投射する大脳皮質では、それらの接着パートナーである接着因子 B 等の分布が、アストロサイト上で乱れていることを見出した (Sekiya et. al., 論文準備中②)。これらの結果から、 $A\beta$ 病理の蓄積に伴う反応性アストロサイトの慢性的な活性化により、神経栄養因子シグナルの低下に加えて、青斑核ノルアドレナリン神経の投射軸索と大脳皮質のアストロサイト等の細胞との接着が破綻することが、軸索変性を引き起こす起点となっている可能性を着想した。今後は、ヒト剖検脳とモデルマウスを用いて、軸索変性の機序解明と治療標的の同定を進めていく。

以上に加えて、 $A\beta$ 病理モデルマウスを用いた解析から、TREM2/TYROBP シグナルを介したミクログリアの活性化は、青斑核ノルアドレナリン神経の軸索変性に対して保護的に働くことを見出した (図 4)。TREM2 の機能低下は AD のリスクであることから、これらの神経変性が AD 発症に関わる可能性を示した (Hirota et al. *Mol Neurodegener Adv*, 2026)。



また、ヒト青斑核に加えて、Aβ病理モデルマウスの青斑核神経細胞に特異的な遺伝子発現解析を行い、神経軸索変性が見られる時期に、神経細胞内で生じる変化を見出しており（Sakakibara et. al., 論文準備中）、軸索変性への関与と、それらを標的とした治療薬の探索を進めている。

さらに、ショウジョウバエのノルアドレナリン神経に相当するオクトパミン神経を利用して睡眠障害モデルの作製を進めた（Chikamatsu et al., *J Biochem*, 2024, 論文準備中）。

1ー2) アルツハイマー病初期の縫線核セロトニン神経とマイネルト基底核アセチルコリン神経の軸索変性の機序解明と治療標的の探索

Aβ病理モデルマウス的大脑皮質では、青斑核ノルアドレナリン神経と同様に、前脳基底部アセチルコリン神経や縫線核セロトニン神経の投射軸索も変性・退縮している(Hirota et.

al., *JAD*, 2023 ; Sakakibara et. al., 論文準備中)。これらの神経軸索を保護する治療薬の開発には、各神経系の軸索変性機序の共通点や相違点を明らかにし、最大の効果を見込める治療標的を同定する必要がある。そこで本研究計画では、ヒト剖検脳を用いた免疫組織解析と、 $A\beta$ 病理モデルマウスを組み合わせ、その機序の解明に取り組んだ。

これまでに、ヒト大脳皮質（第二前頭回）において、アセチルコリン神経系やセロトニン神経系の投射軸索を安定して標識し、定量解析する実験系を確立した。今後は、健常高齢から AD に至る AD 連続体の 38 検体の解析を進め、AD プレクリニカル期における神経軸索変性と $A\beta$ 病理や神経炎症等との関係を明らかにする。また、 $A\beta$ 病理モデルマウスで観察されるアセチルコリン神経軸索の変性機序を明らかにするために、神経細胞体が存在するマイネルト基底核を切り出して、シングルセル解析を行った。RNA シーケンスデータの品質解析後にクラスタリング解析を行い、アセチルコリン神経細胞クラスターを同定した。そのクラスターでの発現変動遺伝子を解析し、発現低下遺伝子が、シナプス構成制御、細胞間シグナリング、細胞間接着などのパスウェイに集積することを見出した。これらの結果をマウスモデルやヒト剖検脳を用いた解析により検証し、機序解明から治療標的の同定を進める。

【研究計画 2】反応性アストロサイト活性化の機序解明とその抑制による神経保護効果の解析

2-1) 反応性アストロサイトの活性化抑制による神経軸索保護効果の解析

脳実質や脳血管への $A\beta$ の蓄積に伴い、AD プレクリニカル期からアストロサイトが慢性的に活性化し、脳内の恒常性が乱された結果、神経変性が生じている可能性がある。脳脊髄液や血液中におけるアストロサイト活性化マーカーの上昇が、認知機能の低下と関連する報告もあり、アストロサイト活性の正常化は、重要な治療標的と考えられる。そこで、 $A\beta$ 病理モデルマウスを用い、反応性アストロサイトの活性化を抑制することで、青斑核など脳深部から投射する神経軸索の変性を抑止できるかを調べる。

これまでに、 $A\beta$ 斑の蓄積が引き起こす神経炎症などの脳病態を反映する血液バイオマーカーを探索する目的で、 $A\beta$ 病理モデルマウス血漿中のメタボローム解析を、キャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析計 (CE-TOFMS) 法により行った。その結果、 $A\beta$ 病理モデルマウスの血漿中で最も変動の大きい代謝物としてニコチンアミドを同定し、パスウェイ解析からも、代謝物の変動が NAD^+ 代謝経路に集積することを見出した (図 5A)。次に、血中ニコチンアミドの変動の原因を探索するために、 $A\beta$ 病理モデルマウス脳における NAD^+ 代謝経路の変化を調べたところ、生体内の主要な NAD^+ 消費酵素である CD38 遺伝子のタンパク質発現が、 $A\beta$ 病理モデルマウスの脳内で顕著に増加していること (図 5B)、また免疫組織学的解析からは、CD38 が $A\beta$ 斑を取り囲むアストロサイトで強く誘導されてい

ることを見出した(図6)(Sekiya, et. al., *Neurobiology of Disease*, 2024, Hirota et. al., 論文準備中)。

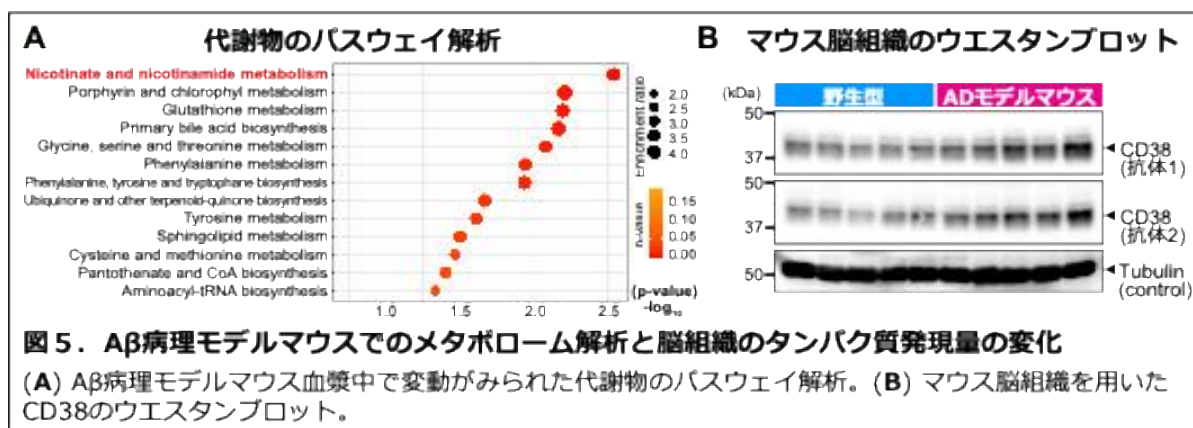
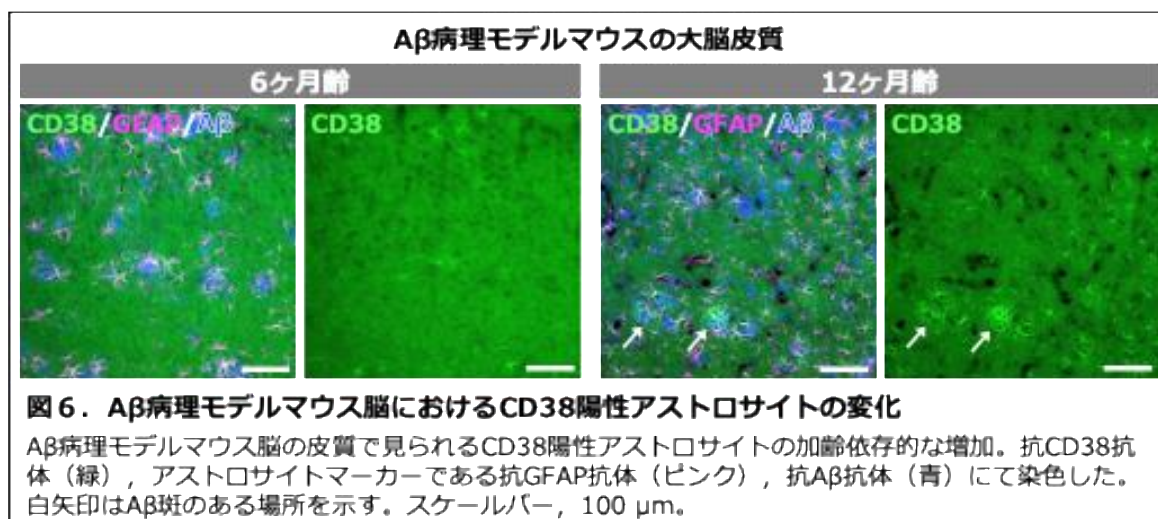


図5. Aβ病理モデルマウスでのメタボローム解析と脳組織のタンパク質発現量の変化

(A) Aβ病理モデルマウス血漿中で変動がみられた代謝物のパスウェイ解析。(B) マウス脳組織を用いたCD38のウェスタンブロット。



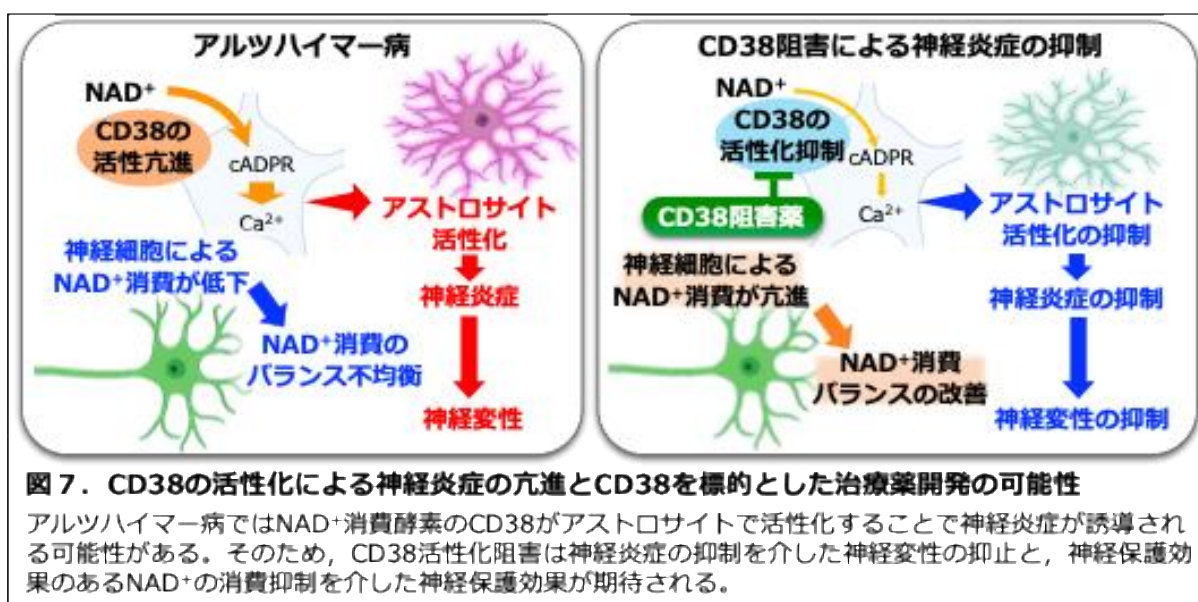
さらに, Aβ病理モデルマウスの大脳皮質でのAβ斑蓄積, 反応性アストロサイトの汎マーカーであるGFAP陽性アストロサイトの出現, そしてCD38陽性アストロサイト出現の時空間的な関係について, 免疫組織学的解析により調べた。その結果, GFAP陽性アストロサイトは6ヶ月齢から増加するのに対し, CD38はそれに遅れて9から12ヶ月齢頃から顕著に増加することが明らかになった(図6)。さらに, ヒト剖検脳を用いた免疫組織解析からも, 大脳皮質の脳実質へのAβ斑や, 血管アミロイドシスの周囲に, CD38陽性アストロサイトが出現することを見出した(Hirota et. al., 論文準備中)。

CD38は, NAD⁺を消費してカルシウムシグナリングを活性化するADPR, cADPRを産生し, アストロサイトの活性化を引き起こすことが知られるが, AD病態形成への関与は知られていない。また, NAD⁺は神経細胞の機能や生存に必須であり, 特にNAD⁺の欠乏は, 神経軸索変性を引き起こすことが報告されている。従って, 反応性アストロサイトでの慢性的なCD38活性の上昇により, 脳内の細胞間でのNAD⁺消費バランスが崩れ, 神経変性が惹起される可能性もある。そこで, CD38の発現を遺伝学的に低下させることで, Aβ病

理が惹起するアストロサイトの活性化を抑制し、脳内での NAD⁺消費バランスを正常化することで、青斑核ノルアドレナリン神経などの投射軸索変性を抑止できるかを調べる実験を開始した（図 7）。

当初は、AAV を用いて CD38 に対する microRNA をアストロサイト特異的に発現させ、CD38 の発現を抑制する計画であった。しかし、AAV によるノックダウン効率が限定的であることや、CD38 ノックアウト (CD38KO) マウスが国内で入手できることから、CD38KO マウスを利用する研究計画へと変更した。昨年度、体外受精による個体化を実施し CD38KO マウス（ヘテロ）を得ることができた。本年度は、A β 病理マウス、ヒトタウノックインマウスとの交配を進め、A β 病理 (APP-KI)・ヒトタウノックイン (Tau-KI)・CD38KO ヘテロマウスを作出した。現在、交配を進めており、APP-KI/Tau-KI/CD38^{+/+}、APP-KI/Tau-KI/CD38^{+/-}、APP-KI/Tau-KI/CD38^{-/-}マウスを準備中である。今後、CD38 の発現抑制（ヘテロならびにホモ欠損）が、アストロサイトの活性化を抑制するか、青斑核ノルアドレナリン神経などの軸索変性を抑止するか、認知機能を改善するか、さらに脳内や血液、末梢組織での NAD⁺代謝に及ぼす影響を網羅的に解析し、CD38 活性の抑制による治療効果を明らかにする。

さらに、CD38 の阻害剤による検討も開始した（図 7）。11 ヶ月齢の A β 病理モデルマウスに CD38 阻害剤 A を 1 ヶ月間投与し（飲水投与に週 1 回の経鼻投与を組み合わせる実施）、上記と同様にアストロサイトの活性化を抑制するか、青斑核ノルアドレナリン神経などの投射軸索の変性を抑止するか、認知機能を改善するか、について生化学的、組織学的、行動学的解析を進めている。また、CD38 阻害剤の薬効評価については、脳や肝臓での NAD⁺量（ジェロサイエンス研究センター・伊藤博士との共同）、末梢血の免疫細胞の組成変化（研究推進基盤センター・錦見博士との共同）等により評価する。



【研究計画 3】アルツハイマー型認知症の併存病理に関する研究

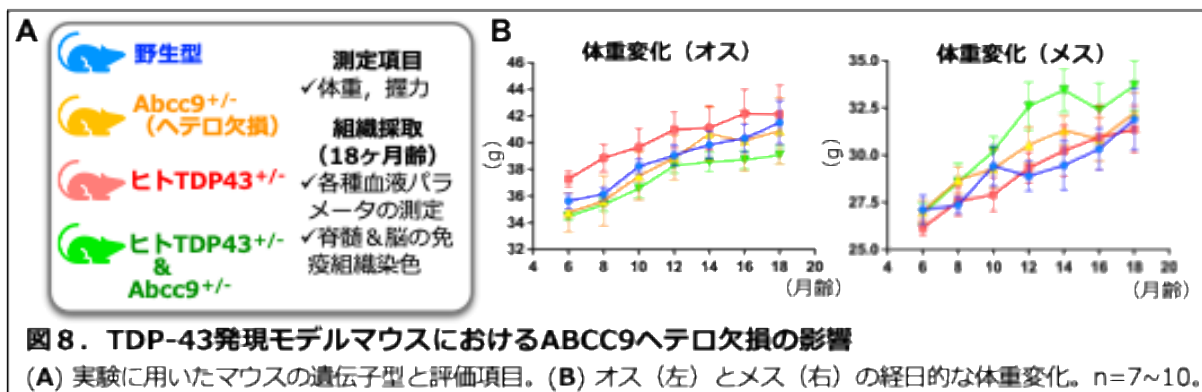
3-1) TDP-43 病理が引き起こす神経変性への病態修飾因子 *ABCC9* 遺伝子に関する研究

TDP-43 病理は AD の 30~60% に併存し、記憶障害や海馬萎縮と相関することから、重要な治療標的と考えられる。これまでに、ATP 依存性カリウムチャネルの活性調節サブユニットであり、加齢性海馬硬化症のリスク遺伝子として知られる *ABCC9* (Dugan et. al., *Acta Neuropathol Commun.*, 2021) の発現低下が、TDP-43 病理や神経変性を抑制することを、ショウジョウバエモデルを用いて見出した (Sakakibara, et. al. 論文準備中)。本計画では、TDP-43 病理モデルマウスを用い、*ABCC9* の発現低下による TDP-43 病理形成や神経毒性への抑制効果と、その機序を解明する。

すでに導入済みのヒト TDP-43 発現マウスを加齢し、報告されている表現型(体重減少、後肢反射の消失、後肢握力の低下)が表出する時期の確認を行った。その結果、24 ヶ月齢まで加齢飼育を行なった個体でも、これらに顕著な変化は認められなかった。一方、18 ヶ月齢を超える個体では、加齢による脱肛等の障害、また突然死の確率が高くなることから、18 ヶ月齢をエンドポイントとし、組織採取を行った。ヒト TDP-43 発現マウスで、最も顕著な変化が認められる脊髄の免疫組織解析を行ったところ、ヒト TDP-43 の発現が確認でき、凝集タンパク質の指標であるユビキチン化タンパク質の増加傾向も認められたため、18 ヶ月齢での組織採取が妥当であると考えられた。

本実験として、ヒト TDP-43 を発現する遺伝子組換えマウスと、*ABCC9* ノックアウトマウス (*ABCC9* KO) を交配し、野生型マウス、TDP-43 発現マウス、*ABCC9* のヘテロ欠損マウス、TDP-43 発現/*ABCC9* のヘテロ欠損マウス、の 4 種類のマウスを得た。本年度は、これらのマウスについて、経時的な体重、後肢反射、後肢握力の変化について測定を行い、18 ヶ月齢に達した時点で、血液ならびに、脳、脊髄、筋肉組織を採取した (図 8 A)。

その結果、体重は 6 ヶ月齢から 18 ヶ月齢まで増加し、4 群間での違いは認められなかった (図 8 B)。握力も 6 ヶ月齢から 18 ヶ月齢にかけて、増加する傾向を示した。雄マウスでは 4 群間で違いは認められなかったが、雌マウスでは、TDP-43 発現マウスと比べて TDP-43



発現/*ABCC9*ヘテロ欠損マウスにおいて、握力が増加する傾向が認められた。また TDP-43 発現マウス（ホモ）では、腰部の脊髄前角運動神経細胞の脱落が報告されていることから（Wils et. al., *PNAS*, 2010）、パラフィン切片を作製し、前角運動神経細胞数の計数を行ったところ、野生型マウスと比較して、TDP-43 発現マウスでは神経細胞数が減少する傾向にあり、雄の TDP-43 発現/*ABCC9*ヘテロ欠損マウスで神経細胞数の減少が抑制される傾向が認められた。また、*ABCC9*KO マウスでは、組織へのグルコースの取り込みや、血中グルコースの濃度に変化が認められるという報告があることから（Chutkow et. al., *PNAS*, 2001）、上記 4 群のマウスの血液中の糖、脂質、インスリン濃度の測定を行ったところ、野生型マウスと比較して、雌の TDP-43 発現/*ABCC9* のヘテロ欠損マウスにおいて血中グルコースの有意な増加が認められた。今後、脊髄、脳について順次解析を進め、論文作成を進める（Sekiya, et. al. 論文準備中）。

3-2) 脳領域特異的に α -シヌクレインを蓄積する新規モデルマウスの開発

レビー小体病理（ α -シヌクレイン凝集体）は、AD にも比較的高い頻度で併存する。パーキンソン病（PD）では、レビー小体病理は末梢自律神経系から脳幹を上行し中脳や大脳に拡大すると考えられ、一方 AD では、扁桃核から海馬を中心にレビー小体病理が認められる。従って、領域特異的なレビー小体病理の形成機序や、疾患特異的なバイオマーカー探索には、新たなモデルマウスが必要である。本計画では、末梢神経や脳領域特異的に α -シヌクレインを蓄積するモデルマウスを作製し、さらに大脳皮質の A β 病理、脳幹の青斑核や海馬にタウ病理を併存する新規モデルマウスを作製する。

脳領域特異的に（Cre/loxP 発現システム）ヒト α -シヌクレインを発現するモデルマウスを作製するために、Cre 発現依存的にヒト α -シヌクレインを発現する loxP マウスの作製に取り組んでいる。昨年度から、受精卵へのマイクロインジェクション法にて、CRISPR-Cas9（ドナーベクター、ガイド RNA、酵素）を導入し、遺伝子組換えマウスの作出を試みた（研究推進基盤センター・小木曾先生、メディカルゲノムセンター・下田先生の研究協力）。4 回のインジェクションで、計 53 匹の個体を得たが、組換え体は得られなかった。ゲノムの標的部位へのニックングの有無を確認しながら、インジェクション試薬の濃度等を変更したが、効果は得られず、本手法でのマウスの作製は中止することとした。

そこで、マイクロインジェクション法のように習熟した技術を要さず、簡便に効率よく遺伝子組換え体を得る方法として、CRISPR-Cas9 を AAV とエレクトロポレーションの両方を利用して遺伝子導入する方法を新たに検討することとした（研究推進基盤センター・由利先生の研究協力）。本年度は、2 前核期の受精卵に Cas9 タンパク質とガイド RNA をエレクトロポレーションにて導入し、その後、AAV6 セロタイプで作製した AAV ターゲティングベクターを感染させ、2 細胞期胚を仮親に移植した。約 150 の胚移植から、18 匹の生存個体を得た。現在のところ、組換え体は認められないが、CRISPR-Cas9 による切断が認

められることから、条件の調整により組換え個体が得られる可能性がある。現在、条件を変更して、再度検討を行う準備を進めている。

D. 考察と結論

脳内の A β 斑やタウ病理を検出する血液・画像バイオマーカー開発が進み、アルツハイマー病 (AD) の発症前診断が可能になりつつある。また、抗 A β 抗体薬が実用化され、AD の治療に新たな選択肢が加わった。しかし、抗体医薬の適応範囲や治療効果は限定的であり、新たな治療薬や、抗体医薬と併用できる治療法の開発が課題である。

AD は神経細胞死を伴い不可逆的に進行するため、発症前の先制治療が極めて重要になる。しかし、A β 斑の蓄積から発症に至るまでの数十年間に渡る無症候期 (AD プレクリニカル期) に、脳内で進行する神経変性の実体は不明である。そのメカニズムの解明は、新たな先制治療標的の同定や治療薬の開発に加えて、AD の症状がない無症候期から治療を開始することの重要性や意義、さらに治療効果を説明する上での科学的な根拠を与える。

研究計画 1 では、AD プレクリニカル期から初期の周辺症状や認知予備能に関わり、症状改善薬の標的にもなっている青斑核ノルアドレナリン神経系に着目し、AD プレクリニカル期からその投射軸索が変性していること、またその機序に、A β 斑の蓄積やアストロサイトの慢性的な活性化による、アストロサイト由来の神経栄養因子シグナルの低下や、アストロサイトー神経軸索間の接着の破綻に関わる可能性を見出した。さらに、神経栄養因子の分泌増強により神経軸索変性を抑止できることや、抗 A β 抗体薬と併用することで、より高い治療効果を得られる可能性を見出しつつある。これらの研究を継続することで、AD の無症候期に進行する超早期病態を明らかにし、再生可能な段階で神経細胞を保護する治療薬開発への展開や、先制治療の重要性の根拠となるエビデンスの提出を期待できる。

研究計画 2 では、A β 病理モデルマウスの脳内で神経炎症が慢性化するのに伴い、血漿中で NAD⁺の原料であるニコチンアミドが低下すること、また A β 病理モデルマウスや AD 患者脳でのアストロサイトの活性化に、強力な NAD⁺分解酵素である CD38 の発現上昇に関わる可能性を見出した。NAD⁺は神経細胞の生存や機能に必須であり、特に神経軸索の維持に重要であることが報告されていることから、アストロサイトの慢性的な活性化により NAD⁺が大量に消費されると、脳内の細胞間での NAD⁺消費バランスが崩れ、神経変性が惹起される可能性がある。研究計画 2 を継続することで、CD38 の阻害により、アストロサイトの活性化や脳内の NAD⁺消費バランスを正常化することで、神経細胞を保護し、神経変性を抑止する新たな治療薬の開発への展開が期待できる。

アルツハイマー型認知症の多くに、A β やタウ病理に加えて、TDP-43 病理やレビー小体病理が併存し、記憶障害や神経変性に関わることから、重要な治療標的と考えられる。これまでに、TDP-43 病理モデルマウスにおいて、ATP 依存性カリウムチャネルの活性調節サブユニットであり薬物標的でもある *ABCC9* の発現低下により、神経失調や神経変性を改

善できる可能性を見出しており，研究計画3を継続することで，ADの併存病理であるTDP-43に対する治療薬開発への展開が期待できる。

以上の研究を進め，論文発表することで，A β やタウを標的とする医薬とは異なるメカニズムの治療薬開発により，抗体医薬との併用，また抗体医薬の適応から外れる患者への新たな医薬の提供にも貢献する。さらに，AD病態の個人差に応じた，プレシジョンメディシンの開発にもつながる可能性がある。また，種々の病理を併存する新規ADモデルマウスやモデルショウジョウバエの開発により，国内・外の研究者と連携した，トランスレーショナル研究の推進にも貢献できると考えられる。

本研究により，ADに対する革新的な診断・治療薬標的が同定できれば，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される。

E．健康危険情報

なし

F．研究発表

1．論文発表

- 1) Michiko Sekiya, Yasufumi Sakakibara, Yu Hirota, Naoki Ito, Sachie Chikamatsu, Kimi Takei, Risa Nishijima, Koichi M Iijima, Decreased plasma nicotinamide and altered NAD⁺ metabolism in glial cells surrounding A β plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease* 2024, Nov:202:106694., doi:10.1016/j.nbd.2024.106694. Epub 2024 Oct 5.
- 2) Sachie Chikamatsu, Yasufumi Sakakibara, Kimi Takei, Risa Nishijima, Koichi M Iijima, Michiko Sekiya, Supplementation of essential amino acids suppresses age-associated sleep loss and sleep fragmentation but not loss of rhythm strength under yeast-restricted malnutrition in *Drosophila*. *Journal of Biochemistry* 2025 Mar 4;177(3):225-237. doi: 10.1093/jb/mvae090.
- 3) 関谷倫子, 山本 洵, 飯島浩一, 脳老化とアルツハイマー病がたどる道筋を決めるグリア細胞の多様性 (実験医学ミニレビュー), *実験医学* 43(3), 2025年2月号
- 4) Yu Hirota, Yasufumi Sakakibara, Maho Morishima, Terunori Sano, Manato Hara, Akira Arakawa, Masaki Takao, Shigeo Murayama, Yuko Saito, Michiko Sekiya, Koichi M Iijima, Biomarker-related phospho-tau217 appears in synapses around A β plaques prior to tau tangles in cerebral cortex of preclinical Alzheimer's disease, *Cell Reports*, 2025 Sep 23;44(9):116203. doi: 10.1016/j.celrep.2025.116203.
- 5) Yu Hirota, Jun Yamamoto, Sho Takatori, Yasufumi Sakakibara, Kimi Takei, Tamiko Saji, Michiko Sekiya, Taisuke Tomita, Koichi M Iijima, Impaired microglial

TYROBP/DAP12 signaling exacerbates cortical cholinergic and noradrenergic axonal degeneration in A β amyloidosis, *Molecular Neurodegeneration Advances*, 2026, doi.org/10.1186/s44477-026-00032-1.

2. 学会発表

- 1) 廣田 湧, 榊原泰史, 伊藤尚基, 竹井喜美, 近松幸枝, 竹井喜美, 西島里咲, 飯島浩二, 関谷倫子, アミロイド病理モデルマウスにおける血漿中ニコチンアミドの減少とアミロイド斑周囲のグリア細胞での NAD⁺代謝の変化, **6NC** リトリート 2024, ポスター発表, 4 月 13 日, 国立国際医療研究センター
- 2) Michiko Sekiya, Yasufumi Sakakibara, Yu Hirota, Naoki Ito, Kimi Takei, Sachie Chikamatsu, Risa Nishijima and Koichi M. Iijima, Reduced plasma nicotinamide level and altered NAD⁺ metabolism in glial cells surrounding A β plaques in the mouse model of Alzheimer's disease, **AAIC 2024**, ポスター発表, 7 月 30 日, フィラデルフィア
- 3) Masataka Kikuchi, Akinori Miyashita, Yu Hirota, Norikazu Hara, Mai Hasegawa, Yasufumi Sakakibara, Michiko Sekiya, Yuko Saito, Shigeo Murayama, Koichi M Iijima, Takeshi Ikeuchi, Omics analysis of Alzheimer's disease stratified by the microglial polygenic effect, **AAIC 2024**, ポスター発表, 7 月 30 日, フィラデルフィア
- 4) 近松幸枝, 竹井喜美, 西島里咲, 佐治多美子, 糸 和彦, 飯島浩一, 関谷倫子, ショウジョウバエモデルを用いた加齢時の睡眠障害の発症機序に関する研究, **第 97 回日本生化学会大会**, 2024, ポスター発表, 11 月 6 日, 口頭発表, 11 月 7 日, 横浜
- 5) 関谷倫子, アルツハイマー型認知症のプレクリニカル期を検出する体液バイオマーカーと脳病態の関係, **第 97 回日本生化学会大会**, シンポジウム: アルツハイマー型認知症の診断・治療法開発に向けた基礎研究の最前線 (オーガナイザー: 飯島浩一), 11 月 8 日, 横浜
- 6) 榊原泰史, 廣田 湧, 森島真帆, 佐野輝典, 高尾昌樹, 村山繁雄, 齊藤祐子, 関谷倫子, 飯島浩一, 老化とアミロイド β 蓄積に伴う大脳皮質での青斑核ノルアドレナリン神経軸索の変性様式, **第 43 回日本認知症学会学術集会**, 2024, ポスター発表, 11 月 21 日, 郡山
- 7) 廣田 湧, 榊原泰史, 森島真帆, 佐野輝典, 高尾昌樹, 村山繁雄, 齊藤祐子, 飯島浩二, 関谷倫子, アルツハイマー病プレクリニカル期におけるバイオマーカーリン酸化タウの脳内局在解析, **第 43 回日本認知症学会学術集会**, 2024, ポスター発表, 11 月 21 日, 郡山

- 8) 菊地正隆, 宮下哲典, 廣田 湧, 原 範和, 長谷川舞衣, 榊原泰史, 関谷倫子, 齊藤祐子, 村山繁雄, 飯島浩一, 池内健, アルツハイマー病のポリジェニックリスクスコア層別化によるマルチオミックス解析, 第 43 回日本認知症学会学術集会, 2024, ポスター発表, 11 月 22 日, 郡山
- 9) 廣田 湧, 山本 洵, 高鳥 翔, 榊原泰史, 竹井喜美, 佐治多美子, 関谷倫子, 富田泰輔, 飯島浩一, *Tyrobp* 遺伝子欠損によるミクログリア活性の抑制がアミロイド病理モデルマウスの神経変性に及ぼす影響, *JH リトリート 2025*, ポスター発表, 6 月 7 日, 国立がん研究センター
- 10) 関谷倫子, ショウジョウバエモデルを用いたグリア-ニューロン関連に APOE が果たす役割, 第 4 回 APOE 研究会 (世話人: 飯島浩一), 口頭発表, 6 月 14 日, 国立長寿医療研究センター
- 11) 廣田 湧, AD プレクリニカル期に A β 斑周囲のシナプスに出現するリン酸化タウ 217 の病態生理学的意義, *タウ研究会 2025*, 2025 年 8 月 22-23 日, 千葉県船橋市, 日本大学薬学部
- 12) Masataka Kikuchi, Akinori Miyashita, Yu Hirota, Norikazu Hara, Mai Hasegawa, Yasufumi Sakakibara, Michiko Sekiya, Koichi M Iijima, Takeshi Ikeuchi, Multi-omics insights into Alzheimer's disease stratification using a microglial polygenic risk score, *AAIC2025*, 2025 年 7 月 27-31 日, カナダ, トロント
- 13) 飯島浩一 (オーガナイザー), APOE 集中講義: アルツハイマー病の次の治療標的としての Apolipoprotein E 研究の最前線, 第 98 回日本生化学会大会, 2025, シンポジウム, 11 月 4 日, 京都
- 14) 関谷倫子, 榊原泰史, 西島里咲, 近松幸枝, 大日方藍, 池内健, 宮下哲典, 飯島浩一, ショウジョウバエを利用した APOE 多型の機能解析, 第 98 回日本生化学会大会, 2025, ポスター発表, 11 月 5 日, 京都
- 15) 榊原泰史, 関谷倫子, 廣田湧, 森島真帆, 佐野輝典, 原愛徒, 荒川晶, 竹井喜美, 山本洵, 小林憲太, 高尾昌樹, 村山繁雄, 齊藤祐子, 飯島浩一, AD プレクリニカル期のヒト脳における青斑核ノルアドレナリン神経系の変性機序の解析, 第 44 回日本認知症学会学術集会, ポスター発表, 2025 年 11 月 21 日, 新潟
- 16) 廣田湧, 榊原泰史, 森島真帆, 佐野輝典, 原愛徒, 荒川晶, 高尾昌樹, 村山繁雄, 齊藤祐子, 飯島浩一, 関谷倫子, AD プレクリニカル期に A β 斑周囲のシナプスに出現する p-Tau217 の病態生理学的意義, 第 44 回日本認知症学会学術集会, 口頭発表&ポスター発表, 2025 年 11 月 21 日, 新潟
- 17) 廣田湧, AD プレクリニカル期に A β 斑周囲のシナプスに出現する p-Tau217 の病理生

理学的意義，名古屋大学脳とこころの研究センター 第10回拡大ワークショップ，
2026年2月13日，オンライン（Zoom）

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