

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21587

研究課題名（和文）量子ドットによるパーキンソン病態変化の可視化と治療介入に役立つ新規生体指標の探索

研究課題名（英文）Visualizing Pathological Changes in Parkinson's Disease with Quantum Dots and Exploring New Biomarkers for Potential Therapeutic Interventions

研究代表者

今村 行雄（Imamura, Yukio）

京都大学・工学研究科・研究員

研究者番号：90447954

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：この研究報告では、パーキンソン病の病因と進行機序に関する理解を深めるため、 α -シヌクレインタンパク質の凝集体の動態とその神経細胞間の伝播メカニズムを解明することを目的としています。特に、量子ドットを用いた画像化技術を活用し、これらの凝集体の動態を可視化しました。この技術により、パーキンソン病の早期診断や新たな治療法の開発に貢献する新しい病態モデルが開発され、病態の進行を抑制する薬剤の同定も行われました。この研究成果は、高齢化が進む社会において、パーキンソン病の理解と治療に重要な影響を与えると期待されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究の学術的意義は、パーキンソン病の原因物質である α -シヌクレインタンパク質の凝集体とその伝播メカニズムを明らかにする新しい手法を開発した点にあります。特に、量子ドットを用いたイメージング技術により、これらの凝集体の動態を詳細に追跡し、その結果を基に早期診断や治療法の開発に繋げることが可能となりました。社会的意義としては、高齢化が進む社会において、パーキンソン病の患者が増加する中、本研究による新たな治療法や診断技術の開発は、多くの患者の生活の質の向上に寄与するとともに、医療費の削減にも繋がることと期待されます。

研究成果の概要（英文）：This research report focuses on deepening the understanding of the etiology and progression mechanisms of Parkinson's disease. The study aimed to elucidate the dynamics of α -synuclein protein aggregates and their propagation mechanisms between neurons, utilizing quantum dot imaging technology. This approach enabled the visualization of these aggregates' dynamics, contributing to the development of new disease models that could aid in early diagnosis and the development of new treatments for Parkinson's disease. The identification of drugs that can inhibit the progression of the disease was also achieved. These research findings are expected to significantly impact the understanding and treatment of Parkinson's disease in an aging society.

研究分野：神経内科学

キーワード：Parkinson disease

1. 研究開始当初の背景

本研究は、パーキンソン病の病因と進行機序に関する理解を深めることを目的としています。パーキンソン病は、振戦、筋固縮、姿勢保持障害などの運動症状を主症状とし、患者の生活の質を大きく低下させます。この病気は高齢者に多く見られ、我が国の急速な高齢化に伴い、社会的な問題としても注目されています。病因としては、 α -シヌクレインタンパク質凝集体の異常な蓄積が関与しており、これが脳内の神経細胞の死に至らせることが知られています。しかしながら、これらの蓄積がなぜ起こるのか、またどのように神経細胞に影響を与えるのかの詳細はまだ十分には解明されていません。

これまでの研究では、 α -シヌクレインの凝集体が見られることが確認されていますが、これがどのようにして神経細胞間で伝播し、脳全体に広がっていくのかのメカニズムは未だ不明です。本研究では、量子ドットを用いた画像化技術により、これらの凝集体の動態を可視化し、その伝播メカニズムを明らかにすることを目指します。量子ドットはその高輝度と安定性から、長時間の生体内イメージングに適しており、本研究での利用が期待されます。

さらに、本研究では量子ドットを活用した新しい病態モデルの開発にも取り組みます。これにより、パーキンソン病の初期段階での変化を捉え、早期診断や新たな治療法の開発につなげることが可能になると考えられます。このようにして、パーキンソン病の病理の解明と治療法の開発に貢献することを目指しました。

2. 研究の目的

パーキンソン病 (PD) は神経変性疾患で、主に運動機能の障害を特徴とします。PD の進行は、 α -シヌクレインタンパク質の凝集および神経細胞間での伝播により引き起こされるとされています。本プロジェクトの主目的は、 α -シヌクレインの伝播メカニズムを解明し、その抑制に向けた治療法を探求することにあります。

3. 研究の方法

本研究では、パーキンソン病などのシヌクレイノパチーにおける α -シヌクレイン (α -syn) 凝集体のプリオン様伝播を解明し、その拡散を抑制する薬物の同定を目的としています。具体的には下記の手法に基づいて実験を行いました。

1. **量子ドット標譜:** α -syn 前駆体線維 (PFFs) に量子ドット (QDs) を結合させ、これを用いてマウス脳スライス内でのシードの挙動を視覚化しました (参考: 図 1)。
2. **脳スライス実験:** 標譜された α -syn PFFs を用いて、マウスの脳スライスに導入し、神経ネットワーク内でのシードの移動と拡散を詳細に観察しました (参考: 図 2)。
3. **薬物試験:** リルゾールをはじめとする複数の臨床利用可能な薬剤を使用し、これらが α -syn シードの脳内での伝播に与える影響を評価しました (参考: 表 1)。
4. **RNA 発現解析とバイオマーカーの同定:** 神経細胞とオリゴデンドロサイトから分離した RNA を分析し、 α -シヌクレイン凝集体の存在下での

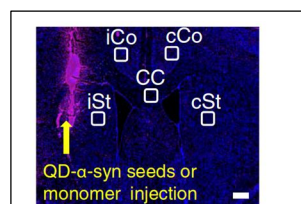


図 1 シードの視覚化
(: 脳の各領域)

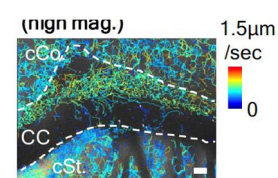


図 2 シードの移動
と拡散の計測

RNA 発現変動を評価しました。具体的には、比較対象群として設けられたのは、量子ドット未使用の PBS 群、量子ドットのみ使用した QD 群、および量子ドットとアルファ-シヌクレイン複合体を使用した QD-a-syn 群です。組織サンプルの mRNA 発現プロファイルを分析し、階層的クラスタリングと主成分分析(PCA)を実施しました。これにより、病態発現に関わる可能性のある新たなバイオマーカーを同定しました。データ測定は理化学研究所 CBS 及び株式会社 DNA チップ研究所に委託しました。

以上の実験により、 α -シヌクレイン凝集体の神経細胞間伝播のメカニズムの解明と、その制御に向けた新たなアプローチが可能となりました。また、量子ドットを用いたイメージング技術の進展により、パーキンソン病の早期診断や治療法開発に対する新たな展望が開かれました。

Drugs	Results summary	Slices (in vitro)		In vivo	
		Effect	Number of seeds		Velocity
Colchicine	Inhibitor of Microtubule polymerization	↓↓	↓↓		
BoNT	Blockade of neurotransmitter release	↓↓	→		
Chill D	Inhibitor of retrograde transport	↓↓	↓↓		
STLC	Inhibitor of anterograde transport	↓↓	↓↓		
GABA	GABA receptor agonist	↓	→		
Bicuculline	GABA _A receptor antagonist	↑	→		
Ampakine	Positive allosteric modulator	↑↑	→		
DNQX	AMPA receptor antagonist	↓↓	→		
AP5	NMDA receptor antagonist	↓↓	→		
TTX	Inhibitor of voltage-gated Na channel	↓↓	→		
Riluzole	Inhibitor of NMDAR and Kainate-R and Na channel	↓↓	→	↓↓	
Perampanel	AMPA receptor antagonist	↓↓	→	↓	
Sertraline	Inhibitor of clathrin-dependent endocytosis	↓↓	→	↓	
Rifampicin	Inhibitor of A β oligomerization	→	→	↓	

↓ or †: p < 0.05; ↓↓ or ††: p < 0.01 against pre or control; →: no significant difference.

表 1 薬物実験

4. 研究成果

1. シードのダイナミクスと伝播: 量子ドットを用いた標譜技術により、 α -syn シードが神経細胞間でどのように伝播するかを実時間で追跡できるようになりました。このプロセスは、特に軸索輸送とエンドサイトーシスに依存していることが明らかにされました(参考: 図 3, 表 1) (文献 2, 4).

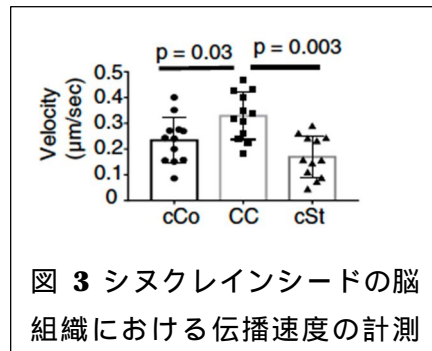


図 3 シヌクレインシードの脳組織における伝播速度の計測

2. 薬物の効果の確認: リルゾールは α -syn シードの拡散を顕著に抑制することが示され、この効果は神経活動の抑制を通じてシードの細胞内取り込みを減少させることによるものです(参考: 図 4) (文献 2)

3. 薬理的介入の機序解明: α -syn シードの伝播は神経活動に大きく依存しており、シードが神経細胞に取り込まれる過程は薬物によって調節可能であることが確認されました。リルゾールの他にセルトラリンやリファンピシンも伝播過程に影響を与えることが確認されましたが、リルゾールの効果が最も顕著でした(参考: 図 5) (文献 2).

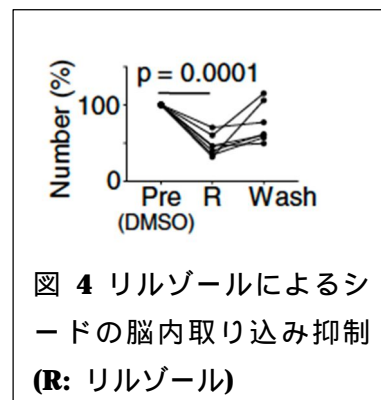


図 4 リルゾールによるシードの脳内取り込み抑制 (R: リルゾール)

4. パーキンソン病の発症に関わるバイオマーカーの

同定 : QD-a-syn シード群では、アルファ-シヌクレインによる影響が顕著に観察され、特にマイクログリア活性化パスウェイ、酸化ストレス関連遺伝子、および炎症応答パスウェイが活性化されていました。

さらに、PCA 分析により、病態刺激に応じた脳神経細胞の活動に関わる遺伝子の発現変動が確認され、これらの変動は病態の進行と密接に関連していることが示されました (文献 3, 及び未発表データ)。

本研究では、-syn シードのプリオン様伝播をリアルタイムで視覚化し、その拡散を抑制する薬物を特定しました。また、量子ドットを用いた新しいアプローチにより、パーキンソン病のバイオマーカーとして炎症応答および酸化ストレス関連遺伝子が特定され、これらは病態の進行を理解する上で重要な指標となり得ます。これらの成果は、シヌクレイノパチー(パーキンソン病の病因の一つ)の進行機構を解明し、疾患の進行を遅らせる可能性のある新たな治療戦略の開発に向けた基盤を提供します。今後は、さらに多くの薬剤がこのアッセイを使用して評価され、これらのバイオマーカーを用いた診断法および治療法の開発とともに、臨床への応用に向けたさらなる検証が期待されます。

<参考文献>

1. Okuzumi, A. et al. Rapid dissemination of alpha-synuclein seeds through neural circuits in an in-vivo prion-like seeding experiment. *Acta Neuropathol. Commun.* 6, 96 (2018).
2. Imamura, Y., Okuzumi, A., Yoshinaga, S. et al. Quantum-dot-labeled synuclein seed assay identifies drugs modulating the experimental prion-like transmission. *Commun Biol* 5, 636 (2022). <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03590-8>
3. Junya Kasahara, Yukio Imamura, Akiko Hiyama, Tomoyuki Yamanaka, Haruko Miyazaki, Nobuyuki Nukina, Proteomic Analysis of Subcellular Compartments Containing Disseminated Alpha-synuclein Seeds. *Neurosci Res* 170, 341-349 (2021)
4. Yukio Imamura, Akiko Hiyama, Haruko Miyazaki, Tomoyuki Yamanaka, Nobuyuki Nukina, Amyloids facilitate DNA transfection in vivo. *Neurosci Res* 180: 99-107 (2022).

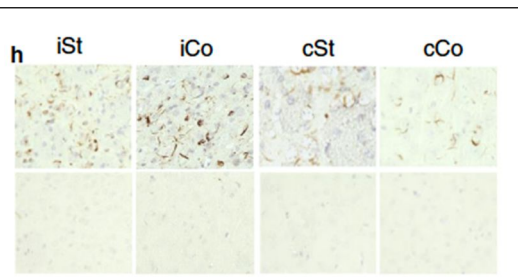


図 5 リルゾールのパーキンソン病体物質の脳内沈着の顕著な抑制 (上段: パーキンソン病、下段: 薬物による治療)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Imamura Yukio, Hiyama Akiko, Miyazaki Haruko, Yamanaka Tomoyuki, Nukina Nobuyuki	4. 巻 180
2. 論文標題 Amyloids facilitate DNA transfection in vivo	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 99 ~ 107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2022.03.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ito Hiroshi, Hosomi Sanae, Koyama Yoshihisa, Matsumoto Hisatake, Imamura Yukio, Ogura Hiroshi, Oda Jun	4. 巻 14
2. 論文標題 Sepsis-Associated Encephalopathy: A Mini-Review of Inflammation in the Brain and Body	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Aging Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnagi.2022.912866	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Imamura Yukio, Okuzumi Ayami, Yoshinaga Saki, Hiyama Akiko, Furukawa Yoshiaki, Miyasaka Tomohiro, Hattori Nobutaka, Nukina Nobuyuki	4. 巻 5
2. 論文標題 Quantum-dot-labeled synuclein seed assay identifies drugs modulating the experimental prion-like transmission	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03590-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 村上 由希、今村 行雄、三谷 智子	4. 巻 31
2. 論文標題 女子大生を対象とした日本語版The Depression Anxiety Stress Scales-21 (DASS-21) の信頼性と妥当性の検討	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本健康医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 380 ~ 389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20685/kenkouigaku.31.3_380	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kasahara Junya, Imamura Yukio, Hiyama Akiko, Yamanaka Tomoyuki, Miyazaki Haruko, Nukina Nobuyuki	4. 巻 170
2. 論文標題 Proteomic analysis of subcellular compartments containing disseminated alpha-synuclein seeds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 341 ~ 349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.11.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 村上 由希、今村 行雄、酒井 大輔、小西 行郎	4. 巻 32
2. 論文標題 妊娠期の母胎炎症によって引き起こされる神経発達障害様モデル	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本生物学的精神医学会誌	6. 最初と最後の頁 120 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11249/jsbpjpp.32.3_120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murakami Yuki, Imamura Yukio, Kasahara Yoshiyuki, Yoshida Chihiro, Momono Yuta, Fang Ke, Nishiyama Toshimasa, Sakai Daisuke, Konishi Yukuo	4. 巻 14
2. 論文標題 The Effects of Maternal Interleukin-17A on Social Behavior, Cognitive Function, and Depression-Like Behavior in Mice with Altered Kynurenine Metabolites	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Tryptophan Research	6. 最初と最後の頁 1 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/11786469211026639	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murakami Yuki, Imamura Yukio, Saito Kuniaki, Sakai Daisuke, Motoyama Jun	4. 巻 10
2. 論文標題 Author Correction: Altered kynurenine pathway metabolites in a mouse model of human attention-deficit hyperactivity/autism spectrum disorders: A potential new biological diagnostic marker	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4034
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-60585-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 馬淵 竜樹、宮崎 崇文、三浦 研、三谷 智子、村上 由希、今村 行雄、孔 相権	4. 巻 443
2. 論文標題 生理指標を用いた空間評価手法に関する基礎的研究(その4)被験者数の増加が異なる食事提供プロセスと表情の関係に及ぼす影響	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本建築学会中国支部研究報告集 日本建築学会中国支部 編	6. 最初と最後の頁 553-556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 今村 行雄、松本 寿健、松本 直也、今村 純、山川 一馬、吉川 直、精山 明敏、村上 由希、三谷 智子、中川 淳一郎、山田 智輝、室谷 卓、島崎 淳也、小倉 裕司、織田 順、嶋津 岳士
2. 発表標題 敗血症性脳症の積極的治療介入方法の探索
3. 学会等名 第49回 日本集中治療学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松本寿健、小倉裕司、清水健太郎、今村行雄、嶋津岳士
2. 発表標題 クラッシュ症候群におけるサイトカインネットワークと臓器障害の関連
3. 学会等名 日本外傷学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Yukio Imamura, Risa Yamano, Yuki Murakami, Ayami Okuzumi, Hisatake Matsumoto	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Nova Science publisher	5. 総ページ数 35
3. 書名 Advances in health and disease	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 遺伝子の導入方法及び導入キット	発明者 貫名信行、今村行雄	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2021-115620	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

【同志社大学特集】ウイルスを用いないin vivo遺伝子導入法の開発
<https://kyoju.net/2021/12/27/2021-12-27-4/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	貫名 信行 (Nukina Nobuyuki) (10134595)	同志社大学・脳科学研究科・教授 (34310)	
研究 分担者	奥住 文美 (Okuzumi Ayami) (90826075)	順天堂大学・医学部・助教 (32620)	
研究 分担者	下郡 智美 (Shimogori Tomomi) (30391981)	国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・ チームリーダー (82401)	
研究 分担者	村上 由希 (Murakami Yuki) (50580106)	関西医科大学・医学部・助教 (34417)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------