

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：12602

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2010～2014

課題番号：22110002

研究課題名(和文) 発達障害・変性疾患のシナプスダイナミックパソロジーの解明

研究課題名(英文) Elucidation of dynamic pathologies of developmental and neurodegenerative diseases

研究代表者

岡澤 均 (Okazawa, Hitoshi)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授

研究者番号：50261996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 155,800,000円

研究成果の概要(和文)：脳疾患モデルマウスおよび培養神経細胞への治療的あるいは病態加速的な分子介入を行って、種々のニューロン細胞機能障害の最終的アウトプットであるシナプス形態異常を指標に、2光子顕微鏡によるin vivoイメージング、共焦点顕微鏡によるin vitro liveイメージングによって分子介入の効果を判定し、アルツハイマー病、ポリグルタミン病、知的障害、小頭症における分子異常からシナプス機能障害に至る過程を明らかにした。さらにAAVを用いた遺伝子治療により分子異常の修正を図り、脊髄小脳失調症、知的障害、小頭症、アルツハイマー病をマウス個体レベルあるいはシナプスレベルで治療可能であることを示した。

研究成果の概要(英文)：By in vivo imaging with two-photon microscopy and by live imaging with confocal microscopy, we revealed the pathological processes from molecular dysfunctions to synapse dysfunctions in Alzheimer's disease, polyglut diseases, intellectual disability and microcephaly. Moreover, we showed the possibility of AAV-based gene therapies to restore molecular dysfunctions in the brain and to recover the symptoms of spinocerebellar ataxia, intellectual disability and microcephaly and to improve synapse level abnormality of Alzheimer's disease in each mouse model.

研究分野：神経科学

キーワード：神経変性疾患 発達障害 シナプス 神経回路 分子病態

1. 研究開始当初の背景

申請者は1990年代からポリグルタミン病の機能病態因子をYeast Two-Hybrid法による結合蛋白スクリーニング、トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析など網羅的オミックス手法を組み合わせ研究してきた。また、ポリグルタミン病研究領域においては国内外の研究グループが、同様の方向性で、様々な手法によって疾患タンパクのターゲットとなる正常タンパクを明らかにしてきた。この結果として明らかになってきたのは、ポリグルタミン病タンパクが、細胞内の様々な場所で種々の正常タンパクと結合し、それらの機能を阻害することである。核においては、転写因子、RNA結合タンパクと結合し、転写、スプライシング、DNA修復など多様な核機能を阻害する。一方、細胞質においては、小胞体輸送、軸索輸送、ミトコンドリア機能を阻害するとともに、時にはタンパク分解系の機能も低下させることが明らかになった。神経変性疾患において神経細胞死は病的に非常に緩慢なプロセスであり、マウスのデータも踏まえ、神経細胞機能障害が発症の直接原因と考えられつつある。さらに、シナプスにおいても、ハンチントン病、SCA6タンパクの沈着がみられることなどから、シナプス機能変化の詳細が興味の焦点になりつつある。

一方、申請者がポリグルタミン病結合タンパクとして発見した新規分子PQBP1(Waragai et al. Hum Mol Genet 1999)は、種々の行動異常を伴うヒト精神遅滞原因遺伝子であることが明らかになった(Kalscheuer et al. Nat Genet 2003)。PQBP1はスプライシング、転写に関与し、遺伝子発現のtranscriptional/post-transcriptional controlに関与することが明らかになりつつある。特に、PQBP1機能低下はNMDA受容体NR1サブユニットの発現低下を起こし、NR1の発現補正によって学習障害・記憶障害が改善することが明らかになってきた(Ito et al. Hum Mol Genet 2009; Tamura et al. J Neurosci in revision)。このような遺伝子発現制御(transcriptional/post-transcriptional)からシナプス受容体へ至る病態経路は脆弱X症候群(Fragile-X syndrome)を含む複数の発達障害性疾患と共通している。また、発達障害の研究領域において、過去数年間のGWAS(Genome-Wide Association Study)手法によって、shank3, neurexinをはじめとして自閉症スペクトラム疾患群の有力な原因遺伝子候補が出現してきた。さらに、同じくneurexin-neurologin系の分子であるcontactin-associated protein-like 2 (CNTNAP2)を有力な候補遺伝子とする3報の論文がAmerican Journal of Human Genetics誌に連続して報告された(Alarcón et al. 2008; Bakkalogu et al. 2008; Arking et al. 2008)。これらのヒトゲノム解析の結果は、シナプスの安定化に関わるneurexin-neurologin系の異常が自閉症の背景にあることを強く示唆している。

以上の背景から、申請者は、変性疾患と発達障害の両グループに共通する『疾患タンパク発現』→『神経細胞機能障害』→『シナプス機能障害』への一連の病的過程を包括的に解明する必要を認識するに至った。

2. 研究の目的

ポリグルタミン病領域において、異常タンパク凝集の時間的・空間的過程と各種神経細胞機能の対応関係は明らかではない。「凝集体

は毒性を持つのか、それとも細胞保護的なのか？」という論争は、既に10年近く行われている。従来の解析手法はこの問いに確定的な答えを導けなかったと言っても過言ではない。その理由は、従来型研究が細胞死とタンパク凝集(結果)を基盤とした解析であり、機能障害と凝集過程(プロセス)の対応についてニューロンレベルの時空間的解析がなされていなかったからである。本研究において、申請者は種々のニューロン細胞機能障害の最終的アウトプットであるシナプス機能障害を指標にして、2光子顕微鏡を用いたin vivoイメージング、およびin vitro liveイメージングを用いて、この問題に取り組む。また、『ニューロサーキットの選択的脆弱性』も現状では解明に程遠いが、これも同様に、従来の研究のほとんどが細胞死を基準に行われて来たためである。シナプス機能の観点からこの問題に対しても取り組む。さらに、細胞機能障害から細胞死へのスイッチ機構についても現状では信頼性に足る知見がない。単純なアポトーシスでは説明困難であることを多くの研究者が認識している。本研究によって、この点についても基本的な知見が得られる可能性がある。

一方、発達障害性疾患においても、機能的障害につながる原因タンパク質発現閾値については、ほとんど知見がない。劣性遺伝形式の発達障害においては(遺伝性発達障害の多くはX-linkedである)、PQBP1病をはじめとして、保因者ではskewingが起きていることは良く知られており、発現閾値は1/2ではない可能性が高い。また、原因タンパク質からシナプス機能異常に至る分子過程についても明らかではない。治療とも直接関わるこれら問題点についても、本研究から閾値を直接的に明らかにすることが出来る。さらに、公募班員との協力によって、より多数の発達障害遺伝子の異常とシナプス機能の関連を調べる事が可能であり、発達障害性疾患の共通病態の解明につながる事が期待できる。

3. 研究の方法

2光子顕微鏡を用いたin vivoイメージングを変性疾患ならびに発達障害のモデルマウスを対象に行うことにより、異常タンパク質を発現によって、異常タンパク質どのような時間的経過で凝集体をニューロン細胞のどの場所(ドメイン)で形成していくかを観察する。疾患タンパクと異なる蛍光でラベルしたシナプス構成タンパク質を共発現して、疾患タンパクの細胞内蓄積の時間的・空間的経過とシナプス部分でのシナプス構成タンパク変化の相互関係をlive imagingで観察する。また、シナプス構成タンパク質の局在変化とシナプス・スパイン形態の変化の関連を捉える。

また、発達障害性疾患のもモデルマウスについても、原因遺伝子の異常がシナプス形態あるいは他の神経細胞機能異常に、どのような分子機構と介在分子を経て至るのかを詳細に検討する。

これらの結果を踏まえて、シナプス機能補正を単一ニューロンレベルとマウス個体レベルで試みる。この際シナプスの病的段階に注目し、変性疾患治療の臨界点(シナプス機能が復帰しうる病的段階)を探る。

4. 研究成果

1) SCA1病態におけるバグマングリアの保護効果をもたらす分子の同定

変性病態としてグリア細胞を介する神経細胞障害(non-cell autonomous pathology)が近年注目されている。脊髄小脳失調症7型(SCA7)あるいは筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態においてはグリア細胞の関与が疑われており、グリア細胞の一種であるアストログリアが何らかの毒性物質を放出して神経細胞を障害することが想定されている。私たちは、脊髄小脳失調症1型(SCA1)の小脳細胞で発現変化を示す分子の網羅的検索から、小脳細胞においてのみ遺伝子発現が低下し、ハンチントン病などの別の変性疾患では発現が変化しない新規分子MAXERを発見した。解析の結果、MAXERは進化的に保存されている小胞体膜分子であること、またMAXERが減少すると細胞周期がG1期に停滞すること、さらにMAXERが細胞質・核の間を行き来するサイクリンD1の抑制因子であるCDK5RAP3の局在制御を行い、これによって細胞周期を制御することが明らかになった。同時に、SCA1におけるMAXERの減少がバーグマングリアの減少を招き、結果として神経細胞に対してグルタミン酸毒性が増加して神経細胞変性に関与することを示した(Shiwaku et al. *EMBO J.* 2010)。

2) Ataxin7の微小管の安定性化作用と変異による不安定化の解明
SCA7は小脳失調に加えて網膜色素変性を伴う点で特徴的な常染色体優性遺伝の変性疾患である。その原因遺伝子であるAtaxin-7は酵母タンパク Sgf73のホモログと考えられている。Sgf73はクロマチンリモデリング複合体であるSAGA複合体の構成要素である。SAGA複合体にはSpt, Ada およびGcn5 acetylaseが含まれており、ヒストンタンパク質のアセチル化を行う。このhistone acetyltransferase (HAT)活性によって、転写、DNA損傷修復、DNA複製などに多面的に関与している。哺乳類におけるSAGA複合体のホモログはTFTC, STAGA, PCAF/GCN5の3種類が知られており、Ataxin-7はTFTC複合体とSTAGA複合体に含まれることが質量解析から明らかになっている。さらに、Ataxin-7の機能低下が、網膜形成・維持に必要な遺伝子群の発現低下につながることも示されている。一方で、Ataxin-7が細胞質にも存在することが報告されている。しかし死後脳あるいは培養細胞における結果であり、後者においてはNLSあるいはNES配列が、細胞質局在と関連していることも報告されている。これまで細胞質に存在するAtaxin-7が機能的意味を持つかどうかは明らかではなかった。私たちは、Ataxin-7とDsRedなどの蛍光タンパクの融合タンパク質の発現を通じて、Ataxin-7が微小管と共局在すること、Ataxin-7が微小管の安定化に寄与していることを示した。また、封入体へのAtaxin-7の取り込みが、微小管の不安定性につながっている可能性が示唆された(Nakamura et al, *Hum Mol Genet* 2012)。

3) Ku70によるハンチントン変性病態の改善
私たちは先にDNA修復タンパク質Ku70の機能不全がハンチントン病態として重要な役割を果たすこと、Ku70の補充がトランスジェニックマウスモデルで顕著な治療効果を示すことを報告した(Enokido et al, *JCB* 2010)。今後、Ku70に基盤をおいた分子標的治療を開発する為には、この結果をさらに確認する必要がある。そこで、ショウジョウバエモデルを用いてこの再確認を行った。シ

ョウジョウバエモデルは私たちのオリジナルに開発したものであり、OK6ドライバーを用いて運動ニューロン特異的に変性タンパク質を発現すると寿命が短縮するというものである。これと同じドライバーでKu70を共発現させると寿命が顕著に回復した。この結果を得て、さらにKu70による分子標的治療開発を進める予定である(Tamura et al, *PLoS ONE* 2012)。

4) 精神遅滞原因遺伝子PQBP1の発現量と知能および寿命との関係の解明

私たちはポリグルタミン配列に結合するタンパク質としてPQBP1を10数年前に発見した(Waragai et al., *Hum Mol Genet* 1999)。また、PQBP1遺伝子変異自体は、ヨーロッパから西アジア、アフリカにかけての地域(およびアメリカ大陸)で、頻度の非常に高い精神遅滞の原因遺伝子であることが、明らかになってきた。今回、PQBP1の発現量変化が個体レベルで寿命とどのような関係にあるかを複数のショウジョウバエモデルを用いて検討した。特異的なドライバーを用いてPQBP1の発現をショウジョウバエの全身で、あるいは、神経細胞のみで上昇させることによって、学習障害および寿命短縮に対してどのような効果があるかを観察した。その結果、PQBP1遺伝子発現量と寿命においては、正常ハエ発現量以下ではおよそ正の相関が見られるが、正常ハエ発現量を上回ると逆に寿命が短縮することが分かった。また、PQBP1遺伝子発現量と学習能力においては、正常ハエ発現量以下においては、やはり正の相関が認められるが、正常ハエ発現量を上回っても学習能力の悪化は認められなかった。次に、PQBP1のノックダウンを、全身発現と神経細胞発現のドライバーを用いて組織特異的に行ったところ、全身発現では極端な寿命短縮を認めたが、神経細胞に於けるノックダウンは軽度な寿命短縮に止まった。また、神経細胞のみの過剰発現では寿命の短縮は見られなかった。これらの結果は、全身組織におけるPQBP1の過剰あるいは過少発現は寿命に大きな影響を与えうるが、脳においては過少発現が学習能力低下と若干の寿命短縮につながるものの、脳の過剰発現は学習能力を改善するに止まり、寿命の短縮も延長も起こさないことを意味している。これは、将来に向けて治療戦略を考える上で有用な知識である。(Tamura et al, *Neurobiol Aging* 2013)

5) 前頭側頭葉変性症原因遺伝子VCPによるポリグルタミン病の共通病態制御
私たちは10数年前に、ポリグルタミン配列に結合する新規タンパク質をyeast two-hybrid法により検索し、PQBP1と共にTERA/VCPを発見した(Imafuku et al., *BBRC* 1998)。その後、VCP遺伝子変異自体が前頭側頭葉変性症の原因となることも明らかとなっている。今回、Ataxin-1(脊髄小脳失調症1型(SCA1)の原因遺伝子)、Ataxin-7(脊髄小脳失調症7型の原因遺伝子)、アンドロジェン受容体(球脊髄性筋萎縮症の原因遺伝子)、ハンチンチン(ハンチントン病(HD)の原因遺伝子)の、4種のポリグルタミン病タンパク質にVCPがポリグルタミン配列依存的に結合することを示した。さらに、VCPの疾患タンパクとの結合に依る機能阻害がDNAダメージの修復不全を介して病態に関与することを示した。(Fujita et al, *Nat Commun* 2013)

6) PQBP1の構造解析

私たちはKing's College of LondonのグループとPQBP1の構造解析について共同研究を

行っている。PQBP1 の N 末側から約 3 分の 1 に位置する WW ドメインの構造解析については既に Nature 姉妹誌などに報告があるが、中央から C 末端の C-terminal ドメインについては構造が十分には分かっていなかった。彼らの構造解析は、C-terminal ドメインは天然変性タンパク質としての性質を有することが明らかになった。さらに富山大学の水口教授との共同研究において、C-terminal ドメインの特定の配列がスプライシング因子である U5-15kD との結合に必須であることが明らかになった。

(Mizuguchi et al, *Nat Commun* 2014)

7) SCA1 病態を制御する DNA 修復分子 RpA1 ポリグルタミン病の共通病態として DNA 損傷修復異常が分かったが、VCP による改善は完全ではない。一方、私たちはハンチントン病に特異的な DNA 修復異常の分子機構をすでに明らかにしている (Enokido et al., *JCB* 2010)。そこで、ポリグルタミン病の他の疾患にも着目し SCA1 における DNA 損傷修復異常について検討するため、寿命短縮という表現型によって SCA1 ショウジョウバエモデルを用いた DNA 損傷修復病態への関連遺伝子を *in vivo* スクリーニングした。スクリーニングの結果、8 つの寿命回復遺伝子と 12 の短縮遺伝子を見出した。これらの遺伝子を IPA ソフトウェアを用いてネットワーク解析したところ、寿命延長遺伝子ネットワークにおいては RpA1 が短縮遺伝子ネットワークにおいては chk1 がそれぞれ中心的な役割を果たしていることが推定された。変異型 Ataxin 1 が RpA1 をトラップすることでその機能を阻害し、DNA 二重鎖切断がうまく修復されずに蓄積してしまうことを示した。RpA1 は homologous recombination (HR) による二重鎖切断修復に特に重要な機能を持っているが、SCA1 モデルマウスでは成体のブルキン細胞において細胞周期の再活性化を確認した。(Barclay et al, *Hum Mol Genet* 2014)

8) 脊髄小脳失調症モデルマウスの遺伝子治療に成功

私たちは 2007 年に網羅的タンパク質質量解析を用いて、SCA1 およびハンチントン病の神経細胞モデルで共通して減少するタンパク質として HMGB1 を発見し、その補充によって SCA1 ショウジョウバエモデルの神経変性が改善することを報告した (Qi et al, *Nature Cell Biology* 2007)。

この研究成果を臨床応用に近づけていくために、米国・ベイラー医科大学のゾービ教授らが開発した SCA1 モデルマウス (ヒト患者の ataxin-1 遺伝子エクソン 7 の CAG 部分を挿入したノックインマウス) を用いて、HMGB1 の補充による治療効果を確認した。寿命延長効果においては、SCA1 モデルマウスとして世界最高水準の治療成績を示した。さらに、今回の研究では、HMGB1 が核 DNA のみならず、ミトコンドリア DNA の損傷修復に関与することを新たに明らかにした。

(Ito et al, *EMBO Mol Med* 2014)

9) 小頭症モデル動物の人為的脳サイズ回復に成功

脳サイズは動物間あるいはヒト個人の間で異なるが、知能、感情を初めとする様々な脳活動の違いを生み出す根本的な要素と考えられている。脳サイズ調節の分子メカニズムを解明する糸口として期待されてきたのが、小頭症と呼ばれる脳サイズの縮小を来す疾患である。近年、その原因遺伝子が相次いで明らかになったが、その一つに PQBP1 がある。PQBP1 は変性疾患ポリグルタミン病におい

て中間病態を担うタンパクとして我々が 15 年前に発見した分子であるが (Waragai et al., *Hum Mol Genet* 1999, Okazawa et al., *Neuron* 2002)、その後、欧米の大規模研究から PQBP1 遺伝子変異が X 染色体連鎖知的障害/精神遅滞家系 (XLID/XLMR) で高頻度に見つかり、PQBP1 が知的障害の主要な原因遺伝子であることが示されている (Kalscheuer et al., *Nature Genetics* 2003 等)。今回の研究では、1) 従来知られていなかった新たな脳サイズ調節機構、2) PQBP1 異常症における小頭症の発症メカニズム、3) PQBP1 異常症の遺伝子治療の道筋、を明らかにした。

小頭症は従来、神経幹細胞の分化効率率が上昇する (このために幹細胞が枯渇する)、神経幹細胞の細胞死が亢進する、分化ニューロンの細胞移動が障害されるという 3 つのメカニズムが重要な役割を果たすと考えられてきた。ところが、我々の作成した神経幹細胞内の PQBP1 を欠損するモデルマウス、PQBP1 Nestin-Cre-conditional KO (PQBP1-cKO) は、小頭症は再現するものの、これらの何れのメカニズムにも当てはまらず、その代わりに胎児の脳形成期における細胞周期時間が異常に延長していることが分かった。この延長こそが神経幹細胞の分裂回数を減らし、結果としてニューロン産生を減らしているものと考えた。

さらに、PQBP1-cKO マウスとコントロールマウスを比較すると、PQBP1 のスプライシング障害により、数百個の M 期、S 期などの細胞周期調節タンパク質やユビキチンプロテアソーム関連タンパク質が影響を受けていることを明らかにした。特に PQBP1 は、間接的に結合しているである APC4 (ユビキチンリガーゼ複合体サブユニット) の減少により細胞周期延長に貢献していることも判明した。また、PQBP1 欠損による神経幹細胞の細胞増殖抑制は、APC4 を補うことにより回復し、胎生期の PQBP1-cKO マウスに APC4 を補うことにより、大脳皮質形成が回復した。

最後に本研究では小頭症の治療を主眼として、PQBP1-cKO を対象に胎児期遺伝子治療を試みた。PQBP1 欠損による機能低下を妊娠中の母マウスへ AAV ベクターを腹腔注射して PQBP1 を補充すると、生後の小頭症モデルマウスの脳サイズが部分的に回復し、行動解析においても学習能力など知的障害関連の症状が改善した。本研究成果は、人為的に脳サイズを調節することが可能であることを証明し、遺伝的な脳サイズ・知能の障害を改善しうる治療法への道筋を示したものであり、将来治療に向けた取組がなされる可能性がある。また、PQBP1 は複数の変性疾患の原因タンパク質と結合して機能低下を来すことが既に知られており、本研究で示した遺伝子治療を成人期に用いることが変性疾患に対しても有効である可能性がある。さらに、将来的にはヒト知能を高めることが可能か? という問題にもつながる可能性のある発見でもある。

(Ito et al, *Mol Psychiatry* 2015)

10) アルツハイマー病の発症前・超早期病態を部分的に解明

2000 年代以後、アミロイドベータの脳内凝集メカニズムをターゲットとする主として 2 つの治療法が考案され、アルツハイマー病患者への臨床試験に至っている。その一つは、アミロイドベータに対する抗体を体内に投与して、アミロイドベータが脳内に凝集して老人斑を形成することを抑制するものである。しかし、欧米の複数の巨大製薬会社が

ヒト臨床試験を行ったが、いずれも有効性を立証できなかった。特に重要なことは、死亡時まで追跡した患者の剖検脳において、抗体により老人斑は消失していたにも関わらず、これらの患者の症状は改善していなかったという点である (Holmes et al., Lancet 2008)。また第 2 の方法として、アミロイドペータを産生する酵素であるガンマセクレターゼの阻害剤のヒト臨床試験も巨大製薬会社によって行われたが、副作用によって開発中止に至っている (Doody et al., N Engl J Med. 2013)。これら既存のターゲットでは特効薬に至らなかった経緯を踏まえ、2014 年時点でのアルツハイマー病研究の最重要課題は、発症前あるいはアミロイドペータの凝集前の超早期病態を明らかにすること、さらには、そのような超早期病態に介入することで治療が可能であることを示すことにある。

今回、最新の質量分析技術とスーパーコンピュータを用いたシステムズバイオロジーを駆使して、アルツハイマー病モデルマウスおよびアルツハイマー病患者脳のタンパク質を網羅的に解析し、発症前さらには老人斑と呼ばれる異常タンパク質凝集が開始する前に、タンパク質リン酸化シグナルの異常が超早期病態として存在することを発見した。今回の研究では、アルツハイマー病モデルマウス 4 種類とアルツハイマー病患者の死後脳を対象に最新型の質量分析機を用いてプロテオーム解析を行った。さらに、東京大学ゲノム解析センターの宮野悟教授と共同研究を行い、プロテオーム解析で得られた膨大なデータをスーパーコンピュータで解析した。さらに、これらのビッグデータ解析から最終的にコア分子 17 個を同定した。さらにその中で最も早期に変化を示す MARCKS を標的として、モデルマウスを用いた治療実験を行った。MARCKS は protein kinase C (PKC) の基質であるため、PKC 阻害剤を 5XFAD マウスに投与した後に 2 光子顕微鏡で観察すると、スパイン減少が回復していることが明らかになった。また shRNA を用い、MARCKS 産生を減少させると、やはりスパイン減少が回復していることが示された。以上の結果から、コア病態ネットワークの正しさが概ね証明されるとともに、コア病態タンパク質をターゲットとした治療開発が可能であることが示された。

本研究成果は、アルツハイマー病の発症前、凝集前の超早期病態の一端を捉えた成果と言える。明らかになった超早期のコア病態シグナルネットワークあるいはコア病態分子をターゲットとする治療法を本格的に開発することによってアルツハイマー病の進行を抑制し、治療に導く治療法を開発できる可能性があると考えられる。

(Tagawa et al, *Hum Mol Genet* 2015)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 23 件)

1. Ito, H., Shiwaku, H., Yoshida, C., Homma, H., Luo, H., Chen, X., Fujita, K., Musante, L., Fischer, U., Frints SG., Romano, C., Ikeuchi, Y., Shimamura, T., Imoto, S., Miyano, S., Muramatsu, SI., Kawachi, T., Hoshino, M., Sudol, M., Arumughan, A., Wanker, EE., Rich, T., Schwartz, C., Matsuzaki, F., Bonni, A., Kalscheuer, VM. and Okazawa, H. (2014) In utero gene therapy rescues

microcephaly caused by Pqbp1-hypofunction in neural stem progenitor cells. *Mol Psychiatry*. 20:459-71. (査読有)

doi: 10.1038/mp.2014.69.

2. Ito, H., Fujita, K., Tagawa, K., Chen, X., Homma, H., Sasabe, T., Shimizu, J., Shimizu, S., Tamura, T., Muramatsu, SI. and Okazawa, H. (2014) HMGB1 facilitates repair of mitochondrial DNA damage and extends the lifespan of mutant ataxin-1 knock-in mice. *EMBO Mol Med*. 7, 78-101. (査読有)

doi: 10.15252/emmm.201404392.

3. Tagawa, K., Homma, H., Saito, A., Fujita, K., Chen, X., Imoto, S., Oka, T., Ito, H., Motoki, K., Yoshida, C., Hatsuta, H., Murayama, S., Iwatsubo, T., Miyano, S. and Okazawa, H. (2014) Comprehensive phosphoproteome analysis unravels the core signaling network that initiates the earliest synapse pathology in preclinical Alzheimer's disease brain. *Hum Mol Genet*. 24, 540-558. (査読有)

doi: 10.1093/hmg/ddu475.

4. Mizuguchi, M., Obita, T., Serita, T., Kojima, R., Nabeshima, Y. and Okazawa, H. (2014) Mutations in the *PQBP1* gene prevent its interaction with the spliceosomal protein U5-15kD. *Nature Commun*. 5:3822. (査読有)

doi: 10.1038/ncomms4822.

5. Ikeuchi, Y., de la Torre-Ubieta, Y., Matsuda, T., Steen, H., Okazawa, H., and Bonni, A. (2013) The XLID protein PQBP1 and the GTPase Dynamin 2 define a signaling link that orchestrates ciliary morphogenesis in postmitotic neurons. *Cell Rep*. 4, 879-889. (査読有)

doi: 10.1016/j.celrep.2013.07.042.

6. Barclay, S.S., Tamura, T., Ito H., Fujita, K., Tagawa, K., Shimamura, T., Katsuta, A., Shiwaku, H., Sone, M., Imoto, S., Miyano, S. and Okazawa, H. (2013) Systems biology analysis of *Drosophila* in vivo screen data elucidates core networks for DNA damage repair in SCA1. *Hum Mol Genet*. 23, 1345-64. (査読有)

doi: 10.1093/hmg/ddt524.

7. Fujita, K., Nakamura, Y., Oka, T., Ito, H., Tamura, T., Tagawa, K., Sasabe, T., Katsuta, A., Motoki, K., Shiwaku, H., Sone, M., Yoshida, C., Katsuno, M., Eishi, Y., Murata, M., Taylor, JP., Wanker, EE., Kono, K., Tashiro, S., Sobue, G., La, Spada, AR., and Okazawa, H. (2013) A functional deficiency of TERA/VCP/p97 contributes to impaired DNA damage repair in multiple polyglutamine diseases. *Nature Commun*. 4:1816. (査読有)

doi: 10.1038/ncomms2828.

8. Tamura T., Sone M., Nakamura Y., Shimamura T., Imoto S., Miyano S. and Okazawa, H. (2012) A restricted level of PQBP1 is needed for the best longevity of *Drosophila*. *Neurobiology of Aging*. 34:356.e11-20. (査読有)

doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.07.015.

9. Nakamura, Y., Tagawa, K., Oka, T., Sasabe, T., Ito, H., Shiwaku, H., La Spada, A.R. and Okazawa, H. (2012) Ataxin-7 associates with microtubules and stabilizes

the cytoskeletal network. *Hum Mol Genet.* 21, 1099-1110. (査読有)

doi: 10.1093/hmg/ddr539.

10. Shiwaku, H., Yoshimura, N., Tamura, T., Sone, M., Ogishima, S., Watase, K., Tagawa, K. and Okazawa, H. (2010) Suppression of the novel ER protein Maxer by mutant ataxin-1 in Bergman glia contributes to non-cell-autonomous toxicity. *EMBO J.* 29, 2446-2460. (査読有)

doi: 10.1038/emboj.2010.116.

[学会発表] (計 125 件)

1. Okazawa, H., "DNA damage repair and neurodegenerative diseases", The 37th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Symposium for Regeneration of Genome, Pacifico Yokohama (Yokohama), 2014.11.25 (Symposia)

2. Okazawa, H., "Morphological and molecular changes of synaptic spines in mouse models of PQBP1-linked intellectual disability" The 16th International Workshop on Fragile X, Novotel Barossa Valley Resort (Barossa, Australia), 2013.9.17-20 (Symposia)

[図書] (計 21 件)

1. Shiwaku, H. & Okazawa, H. (2015) Impaired DNA Damage Repair as a Common Feature of Neurodegenerative Diseases and Psychiatric Disorders *Current Molecular Medicine.* 15 (2): pp. 119-128(10)

2. Enokido, Y. & Okazawa, H. (2011) DNA Repair in the Nervous System: A New Research for Neurological Disorders. in DNA Repair: New Research edited by Kimura, S. and Shimizu, S. Nova Science. (ISBN: 978-1-62100-756-2)

[産業財産権]

○出願状況 (計 3 件)

①名称: 脊髄小脳変性症を予防又は治療するための薬剤

発明者: 岡澤均

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: 特願 2013-214155, PCT/JP2014/077258

出願年月日: 2013/10/11, 2014/10/10

国内外の別: 国内, PCT

②名称: アルツハイマー病の診断方法、診断薬、治療薬及びこれら薬剤のスクリーニング方法

発明者: 岡澤均

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: 特願 2013-272189, PCT/JP2014/084424

出願年月日: 2013/12/27, 2014/12/25

国内外の別: 国内, PCT

③名称: 神経幹細胞の増殖の促進に用いられる薬剤、神経幹細胞の減少に関連する疾患の予防又は治療に用いられる薬剤、シナプス後部形成の促進に用いられる薬剤、シナプス後部形成の減少に関連する疾患の予防又は治

療に用いられる薬剤、及びスクリーニング方法

発明者: 岡澤均

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: 特願 2014-136979

出願年月日: 2014/7/2

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 3 件)

①名称: 新規タンパク質及びそれを利用したポリグルタミン病等の神経変性疾患の予防

発明者: 岡澤均

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: 特許第 5103615 号, US7951928, EP1878793

出願年月日: 2004/11/18

取得年月日: 2012/10/12, 2011/5/31, 2011/8/24

国内外の別: 国内、米国、欧州

②名称: ポリグルタミン病の予防・治療剤

発明者: 岡澤均

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: 特許第 4982739 号, US7822975, EP2039367

出願年月日: 2006/6/1

取得年月日: 2012/5/11, 2010/11/16, 2011/4/27

国内外の別: 国内、米国、欧州

③名称: 精神発達遅滞の非ヒトモデル動物及び精神発達遅滞の症状を改善する活性を有する物質をスクリーニングする方法

発明者: 岡澤均

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: 特許第 5066710

出願年月日: 2007/1/25

取得年月日: 2012/8/24

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/mri/shingakuju/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡澤 均 (OKAZAWA, Hitoshi)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授

研究者番号: 50261996

(3) 連携研究者

榎戸 靖 (ENOKIDO, Yasushi)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授

研究者番号: 90263326

田村 拓也 (TAMURA, Takuya)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号: 80396647

曾根 雅紀 (SONE, Masaki)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・特任講師

師

研究者番号: 00397548

小室 晃彦 (KOMURO, Akihiko)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・特任助教

教

研究者番号: 60532950