

令和 4 年 5 月 16 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16574

研究課題名(和文) 白質機能制御に焦点を当てたアルツハイマー型認知症に対する治療法開発

研究課題名(英文) Development of therapies for Alzheimer's disease with a focus on white matter function

研究代表者

加藤 大輔 (Kato, Daisuke)

名古屋大学・医学系研究科・講師

研究者番号：10712292

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はアルツハイマー型認知症(AD)で生じるオリゴデンドロサイト(OL)及びその前駆細胞(OPC)の機能応答と髄鞘の形態変化を同定することである。研究代表者は髄鞘に着目し、髄鞘障害に伴う学習障害と背景にある神経基盤を解明してきた。そこでOL/OPCのカルシウム活動を2光子顕微鏡で検証した。その結果、ADモデルマウスではWTマウスに比べ、OL/OPCのカルシウム応答頻度と強度が上昇していた。またこれらの上昇はATP阻害剤投与で低下したため、細胞死などで増加するATPの関与が示唆された。さらに電子顕微鏡による髄鞘評価により、髄鞘の微細な構造変化は時期・脳領域特異的に出現することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られるOL/OPCの機能障害に伴う学習障害の背景にある神経回路活動に関する知見は、神経回路基盤に基づいたADの臨床症状・病態把握に役立ち、神経回路を標的とした創薬の礎となると考えられる。また、髄鞘を形成するOL/OPCの機能応答に関わる分子メカニズムを同定し、OL/OPCの機能を直接操作することで白質機能を制御する試みは、これまでにないADに対する治療法となるため社会への貢献も大きいと考えられる。また、統合失調症・多発性硬化症などの病初期から白質機能が障害される疾患に対する治療法にも適応できる可能性も高く、より広い分野・学術・社会への波及効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to identify the functional responses of oligodendrocytes (OL), their progenitor cells (OPCs), and the morphological changes in the myelin that occur in Alzheimer's disease (AD) mice. I have elucidated the learning deficits associated with myelin impairment and the underlying neural circuitry. Therefore, calcium responses in OL/OPC were examined using two-photon microscopy. The results showed that the frequency and intensity of calcium responses in the OL/OPC were elevated in AD mice compared to WT mice. These elevations were also decreased by ATP inhibitor treatment, suggesting the involvement of ATP, which is increased by cell death. Furthermore, myelin structural evaluation by electron microscopy revealed that microstructural changes in the myelin appear in an age- and brain region-specific manner.

研究分野：神経科学、神経内科

キーワード：アルツハイマー型認知症 白質機能障害 オリゴデンドロサイト 2光子顕微鏡

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー型認知症(AD)の病態解明・治療法開発に対する社会的ニーズは極めて高い。そのため多くの基礎研究が行われ、その結果 AD の原因はアミロイド β(Aβ)とするアミロイドカスケード仮説が提唱され、近年では可溶性 Aβ オリゴマーがシナプス機能を阻害し認知機能を低下させることが判明したため、Aβ オリゴマーを標的とした治療法が開発されている。また、Aβ だけでなくその他の視点による治療戦略も精力的に模索されている。このような現状の中、頭部 MRI 画像を用いた研究により、白質病変が AD 患者の早期から認められ、かつ認知機能低下を促進させること(Amlie et al., *Neuroscience*, 2014)、さらには家族性 AD の原因遺伝子保因者では発症前から出現することも判明した(Lee et al., *Ann Neurol*, 2016)。白質は髄鞘化された軸索で構成され、脳の多領域をつなぐケーブルとして機能し、軸索は髄鞘化されることで活動電位の伝播速度を約 50 倍まで速めることができる。そして髄鞘化の程度により伝播速度は緻密に制御されるため、神経回路活動は時間的に制御され効率化されている(Nave, *Nature*, 2010)。このように白質は、神経回路活動の時間的制御を行うことで学習などの高次脳機能に大きく貢献するにも関わらず、神経細胞やシナプスに比べ、その学習における可塑的变化についての議論はこれまでほとんどされてこなかった。

ところが MRI を用いたヒトの研究により、ジャグリングやピアノなどの訓練で白質の信号強度が増強すること(Scholz et al. *Nat Neurosci*, 2009)、またマウスを用いた研究により、運動学習に伴う MRI での白質の信号変化は、髄鞘関連タンパク質の 1 つであるミエリン塩基性タンパク質(MBP)の変化量と相関することも証明されたため(Sampaio-Baptista et al. *JNS*, 2013)、神経活動依存的な白質の可塑的構造変化が大変注目されている。

さらに研究代表者は、神経活動依存的な髄鞘化が障害されたマウスでは、視床運動核から大脳皮質運動野第 2/3 層(L2/3)錐体細胞に対する入力タイミングに時間的分散が生じるため、L2/3 錐体細胞の自発活動が増加し、その結果学習機能が低下することを証明した。そして、オプトジェネティクス法を用い、行動に同期して視床運動核から運動野へ投射する軸索を光刺激し時間的分散を神経回路レベルで補正することで、学習機能が改善することも示した(Kato et al., *GLIA*, 2020)。これは運動学習において、髄鞘が規定する神経伝導速度によって制御される神経細胞集団の同期的な活動が、学習効率を規定することを示した重要な研究である。そのため、神経活動依存的に髄鞘を形成するオリゴデンドロサイト(OL)およびその前駆細胞(OPC)の機能制御そのものがまさに、神経回路活動の時間的制御につながると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、OL/OPC が神経活動依存的に示す機能応答の生理学的特性を解明し、この機能応答が損なわれることで白質機能低下が生じるのか、また OL/OPC の機能を制御することで AD における学習機能が改善するのか検証することである。

研究代表者はこれまで、2 光子顕微鏡、マルチユニット記録法を駆使することにより、神経活動依存的な髄鞘化の障害が神経回路活動の異常を惹起することで運動学習障害をもたらすことを証明し、さらに光遺伝学的手法を用いてこの異常な神経回路活動を神経回路レベルで補正することで学習機能を改善させることに成功した(Kato et al., *GLIA*, 2020)。また近年の研究で、OPC は生体マウスにおいても分裂し、さらに神経活動依存的に髄鞘を形成する OL へ分化することが示されている(Hill et al., *GLIA*, 2014)。そのため、研究代表者は包括的に白質機能と認知機能を関連づけて考えるに至り、髄鞘そのものの機能を操作し白質機能を制御することで、学習機能を改善させることを着想した。しかしながら、これまで OL/OPC がどのように神経活動依存的な髄鞘化に関与しているのか、その機能的特徴も全く分かっていなかった。そこで本研究では、運動学習に寄与する視床運動核から髄鞘化された軸索投射を受けている運動野 L2/3 に着目し、OL/OPC の活動を 2 光子顕微鏡により可視化することで、神経活動に対する OL/OPC の機能的応答およびその生物学的意義の解明を試みる。そして観察から得られた知見を WT マウスと AD モデルマウス(APP ノックインマウス(Saito et al., *Nat Neurosci*, 2014))間で比較し、その差異を解析する。さらに OL/OPC の機能応答に関わる分子群を同定し、OL/OPC の機能を直接制御することで、AD モデルマウスにおける学習機能が改善するか検証する。

3. 研究の方法

(1) AD 患者では白質障害が認知機能障害の出現することが示されている(Lee et al., *Ann Neurol*, 2016)。そこでまず、WT マウスと AD モデルマウスを用い、学習機能および、髄鞘の構造(免疫染色法、電子顕微鏡により)の経時的変化を評価後、2 群間でその差異を比較した。

(2) OL/OPC のカルシウム上昇は、MBP の局所発現と相関するため(Wake et al., *Science*, 2011)、OL/OPC のカルシウム応答を評価することで髄鞘化を推定できると考えられる。そこで、OL/OPC 特異的に GCaMP6f が発現したマウス(PLP-tTA::tetOGCaMP6f マウス)を作製し、AD モデルマウスと掛け合わせを行った(APP-PLP-tTA::tetOGCaMP6f マウス)。そして、2 光子カルシウムイメージングを用いて OL/OPC の活動を経時的に観察し、学習障害が出現する過程で変化する OL/OPC のカルシウム応答を抽出後、カルシウム応答頻度や強度の差異を 2 群間で比較した。

(3)最後に、OL/OPCのカルシウム応答を制御するメカニズムを検証した。そのために、2光子カルシウムイメージングを用い、OL/OPCのカルシウム応答の制御と関わる薬剤(テトロドトキシン、ATP阻害剤)投与前後で生じるOL/OPCのカルシウム応答変化を評価後、カルシウム応答頻度や強度の差異を2群間で比較した。

4. 研究成果

学習障害が出現する時期を確認するために、Y字迷路試験を用い経時的に(2か月齢、4か月齢、6か月齢)学習機能を評価した。その結果、既報告と同様(Saito et al., Nat Neurosci, 2014)、6か月齢のADモデルマウスにおいて、alternationの障害を認めた。髄鞘の構造を評価するためにMBP抗体を用いた免疫染色法を施行したが、2群間に有意差を認めなかった。そこで、髄鞘をより詳細に評価するために、2か月齢、4か月齢、6か月齢のマウスを用い、様々な脳領域の髄鞘の構造を電子顕微鏡により評価した。その結果、G-ratio(軸索径/神経線維径)に変化を認めなかったが、6か月齢ADモデルマウスではWTマウスに比べ、部分的に髄鞘が損傷されている軸索が多く存在することが判明し、さらにこの髄鞘の微細な構造変化は、時期および脳領域特異的に出現することが明らかとなった。次に、WTマウス(PLP-tTA::tetOGCaMP6fマウス)およびADモデルマウス(APP-PLP-tTA::tetOGCaMP6fマウス)を用い、髄鞘化の指標となるOL/OPCの機能応答を2光子カルシウムイメージングにより経時的に評価した。その結果、2か月齢、4か月齢では、OL/OPCのカルシウム応答頻度および強度に2群間で有意差を認めなかったが、6か月齢ADモデルマウスでは、OL/OPCのカルシウム応答頻度および強度が、WTマウスに比べ有意に上昇していた。これまでにAPPトランスジェニックマウスにおいて、A β 蓄積に伴い神経細胞の活動頻度が上昇することが知られている(Busche et al., Nat Neurosci, 2019)。そこで、6か月齢ADモデルマウスで認めたOL/OPCのカルシウム応答頻度および強度の上昇が、神経細胞活動に依存しているか検証した。そのために、ADモデルマウス(APP-PLP-tTA::tetOGCaMP6fマウス)を用い、OL/OPCの2光子カルシウムイメージングをテトロドトキシン投与前後で行った。しかしながら、テトロドトキシン投与でカルシウム応答頻度および強度に変化を認めなかった。そのためATP阻害剤投与前後におけるADモデルマウス(APP-PLP-tTA::tetOGCaMP6fマウス)のOL/OPCのカルシウム応答の変化を評価したところ、OL/OPCのカルシウム応答強度が低下することが明らかとなった。

本研究により、ADモデルマウスの学習障害が出現する時期の前後で、OL/OPCの機能応答および髄鞘の構造変化が起こることが示され、アルツハイマー型認知症病態の早い時期でOL/OPCが障害されている可能性が示唆された。さらに、spatial transcriptomics解析を用いた最近の研究により、ADモデルマウスやAD患者では、沈着したA β 周囲にあるOLの異常が報告されていることから(Chen WT et al., Cell, 2020)、病態形成においてOLが重要な役割を果たしていると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hirata Y, Nomura K, Kato D, Tachibana Y, Niikura T, Uchiyama K, Hosooka T, Fukui T, Oe K, Kuroda R, Hara Y, Adachi T, Shibasaki K, Wake H, Ogawa W.	4. 巻 -
2. 論文標題 A Piezo1/KLF15/IL-6 axis mediates immobilization-induced muscle atrophy.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Invest	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/JCI154611.	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 Quan X, Kato D, Daria V, Matoba O, Wake H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Holographic microscope and its biological application.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Res	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2021.10.012.	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 該当する
1. 著者名 Kato D and Wake H.	4. 巻 167
2. 論文標題 Myelin plasticity modulates neural circuitry required for learning and behavior.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Res	6. 最初と最後の頁 11-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2020.12.005.	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 Okada T, Kato D, Nomura Y, Obata N, Quan X, Yano Y, Tachibana Y, Morinaga A, Moorhouse AJ, Matoba O, Takiguchi T, Mizobuchi S and Wake H.	4. 巻 19
2. 論文標題 Pain induces stable, active microcircuits in the somatosensory cortex that provide a therapeutic target.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Adv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abd8261.	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 該当する

1. 著者名 Adachi K, Kato D, Kahyo T, Konishi T, Sato T, Madokoro Y, Mizuno M, Akatsu H, Setou M, Matsukawa N.	4. 巻 542
2. 論文標題 Possible correlated variation of GABA A receptor 3 expression with hippocampal cholinergic neurostimulating peptide precursor protein in the hippocampus.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 80-86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.01.010.	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 Kato D	4. 巻 59(22)
2. 論文標題 Implications for White Matter Vulnerability to Anti-interleukin-6 Receptor Antibody Treatment.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 2809-2810
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.5765-20.	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 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 加藤大輔
2. 発表標題 高次脳機能障害を呈する神経精神疾患の神経回路基盤の解明
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会講演
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kato D, Yoshida K, Sugio S, Uchida H, Wake H
2. 発表標題 Activity-dependent responses of oligodendrocytes activities contribute to efficient information processing
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会(国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------