

領域略称名：脳タンパク質老化
領域番号：3608

平成28年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「(生物系) 脳タンパク質老化と認知症制御」

(領域設定期間)

平成26年度～平成30年度

平成28年6月

領域代表者 (名古屋大学・医学部・特任教授・祖父江 元)

目 次

研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	5
2. 研究の進展状況	7
3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況	10
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	12
5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	15
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	20
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	22
8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	23
9. 総括班評価者による評価	24
10. 今後の研究領域の推進方策	26

研究組織 (総括：総括班，支援：国際活動支援班，計画：総括班及び国際活動支援班以外の計画研究，公募：公募研究)

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00 総括	26117001 脳タンパク質老化と認知症制御	平成26年度～ 平成30年度	祖父江 元	名古屋大学・医学系研究科・特任教授	7
Y00 支援	15K21714 脳タンパク質老化と認知症制御に関する国際共同研究を加速するための国際活動支援	平成27年度～ 平成30年度	祖父江 元	名古屋大学・医学系研究科・特任教授	13
A01-1 計画	26117002 脳タンパク質老化と神経回路破綻の可視化	平成26年度～ 平成30年度	祖父江 元	名古屋大学・医学系研究科・特任教授	2
A01-2 計画	26117003 蛋白特異的PETイメージングによる神経回路破綻機序の解明	平成26年度～ 平成30年度	谷内 一彦	東北大学・医学系研究科・教授	4
A02-1 計画	26117004 タウのタンパク質老化と毒性機序	平成26年度～ 平成30年度	高島 明彦	学習院大学・理学部生命科学科・教授	8
A02-2 計画	26117005 タンパク質の老化基盤と病原性タンパク質の伝播機構	平成26年度～ 平成30年度	長谷川 成人	東京都医学総合研究所・分野長	2
A02-3 計画	26117006 核酸代謝の乱れからみた蛋白質の老化基盤とその排除機構	平成26年度～ 平成30年度	小野寺 理	新潟大学・脳研究所・教授	2
A03-1 計画	26117007 ヒトiPS細胞と霊長類モデルを用いた治療開発の基盤整備	平成26年度～ 平成30年度	岡野 栄之	慶應義塾大学・教授	2
A03-2 計画	26117008 脳イメージングを基軸としたタンパク質老化モデルの治療評価系の開発	平成26年度～ 平成30年度	佐原 成彦	放射線医学総合研究所・サブリーダー	5
計画研究 計9件					
A01 公募	15H01555 βアミロイドおよびタウを標的としたSPECTイメージングプローブの開発	平成27年度～ 平成30年度	小野 正博	京都大学・薬学研究科・准教授	1

A01 公募	15H01563 認知症における大脳皮質可塑性障害のメカニズムの解明と新たな早期診断法開発への応用	平成27年度～平成30年度	村上 丈伸	福島県立医科大学・助教	1
A01 公募	15H01571 アルツハイマー病の微小回路可視化による破綻過程の解明	平成27年度～平成30年度	水田 恒太郎	独立行政法人理化学研究所・研究員	1
A02 公募	15H1550 筋萎縮性側索硬化症やパーキンソン病などの神経変性疾患における病態解明とトランスレーショナルリサーチ	平成27年度～平成30年度	青木 正志	東北大学・医学系研究科・教授	1
A02 公募	15H01551 CADASIL 型 Notch3 タンパク質の老化と毒性機序の解明	平成27年度～平成30年度	伊藤 素行	千葉大学・薬学研究院・教授	1
A02 公募	15H01552 細胞間伝播を導くタウの細胞外放出の分子機構の解明	平成27年度～平成30年度	山田 薫	東京大学・医学系研究科・助教	1
A02 公募	15H01553 神経変性疾患におけるVCP補助因子 p47 の機能解析	平成27年度～平成30年度	柴田 佑里	東京大学・医科学研究所・助教	1
A02 公募	15H01556 A β オリゴマーによるシナプス機能変性過程の解明	平成27年度～平成30年度	田中 洋光	京都大学・理学研究科・助教	1
A02 公募	15H01557 M16 メタロプロテアーゼによる脳タンパク質老化と認知症制御機構	平成27年度～平成30年度	大野 美紀子	京都大学・医学系研究科・助教	1
A02 公募	15H01560 プリオンの増殖と病原性獲得に重要なプリオンの細胞内移動に関する分子の同定	平成27年度～平成30年度	坂口 末廣	徳島大学・疾患酵素学研究センター・教授	1
A02 公募	15H01561 老化神経細胞モデルによる神経変性疾患発症機構の解析	平成27年度～平成30年度	松本 弦	長崎大学・医歯薬学総合研究科・講師	1
A02 公募	15H01562 脳支援・防御機構としてのヒト脳関門におけるイ	平成27年度～平成30年度	伊藤 慎悟	熊本大学大学院・生命科学部・助教	1

	ンスリン受容体機能の解明				
A02 公募	15H01564 タウ蛋白質の異常代謝開始点から見るタウ蓄積と神経毒性獲得に関わる因子の同定	平成27年度～平成30年度	安藤 香奈絵	首都大学東京・理工学研究科・准教授	1
A02 公募	15H01565 iPS 細胞を用いたタウによる神経変性機構の解明	平成27年度～平成30年度	太田 悦朗	北里大学・医療衛生学部・講師	1
A02 公募	15H01566 脳タンパク質老化の伝播性と感染症を検証する線虫モデルの確立	平成27年度～平成30年度	吉川 良明	慶應義塾大学・理工学部・准教授	1
A02 公募	15H01567 NF-YA 欠損によるユビキチン蓄積病態の解析	平成27年度～平成30年度	貫名 信行	同志社大学大学院・脳科学研究科・教授	1
A02 公募	15H01570 記憶と脳の安定性を保持する LGI1 リガンドの老化と認知症における役割	平成27年度～平成30年度	深田 正紀	生理学研究所・教授	1
A02 公募	15H01572 脳タンパク質老化とその毒性機序における小胞体カルシウムの役割	平成27年度～平成30年度	濱田 耕造	理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員	1
A03 公募	15H01554 新規オートファジーによる脳老化タンパク質調整機構の解析と創薬開発研究	平成27年度～平成30年度	清水 重臣	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授	1
A03 公募	15H01558 パーキンソン病マーマセットにおける iPS 由来 a-syn 蛋白伝播	平成27年度～平成30年度	望月 秀樹	大阪大学大学院・医学系研究科・教授	1
A03 公募	15H01568 患者 iPS 細胞由来ニューロンにおける異常タンパク凝集を促すストレスシグナルの解析	平成27年度～平成30年度	岡田 洋平	愛知医科大学・医学部内科学講座・准教授	1
公募研究 計 21 件					

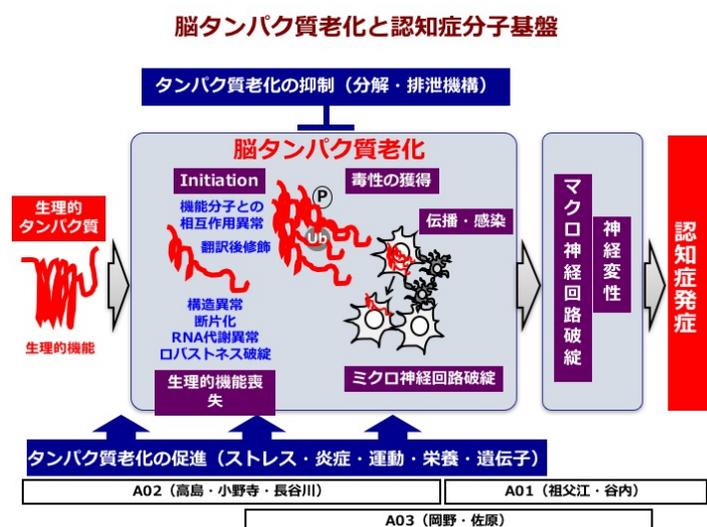
研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ以内）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

① 我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域である点

加齢に伴う脳老化は、認知症の最も強力かつ本質的な要因であり、その主要な分子基盤をなしているのは神経系を構成するタンパク質の生理機能の喪失および毒性・病原性の獲得による神経回路の破綻である。本領域では、こうした機能タンパク質の毒性獲得のプロセスを「**脳タンパク質老化**」と定義した。脳タンパク質老化の背景には、これらのタンパク質の修飾・構造変化などの質的变化とともに、その発現量の量的変化など種々の分子変化が存在すると考えられる。さらにこの脳タンパク質老化を抑制、促進する多くの要因（分解、排泄機構、ストレス、炎症、遺伝要因など）が存在する。例えば、アルツハイマー病、前頭側頭葉変性症、レビー小体型認知症など神経変性型認知症ではそれぞれ $A\beta$ 、TDP-43、タウ、FUS、 α -シヌクレインなどのタンパク質が老化し、生理機能を喪失し、機能分子との相互作用を失い病原性を獲得して神経細胞に蓄積し広がることが脳機能を支える神経回路の破綻をきたし、認知症に至る神経変性の根本的分子基盤と考えられる。



しかし、脳タンパク質老化が、どのようなプロセスで起こり、どのように神経毒性を発揮し、それが神経回路をどう破綻するのかは全からかになっていない。即ち我々は、神経変性の最も重要な部分の解答を持っていない。本領域で行う研究は、正常に機能していたタンパク質が、ある時期から変質し、機能を失うあるいは神経細胞に対して毒性を持つようになり、神経細胞の機能障害、変性、伝播を介して、神経回路破綻を来し最終的には認知に至る過程、すなわち脳タンパク質老化に基づく神経変性について、その分子基盤の解と認知症予防に結びつけるものである。脳機能タンパク質の老化から神経回路破綻・変性

に至る長いプロセスの分子基盤を明らかにすることが新しい学問領域の創成につながり、認知症の予防・先制治療、さらに我が国の神経科学・神経変性疾患研究の学術水準の向上・強化につながると確信している。

② 応募領域の着想に至った経緯

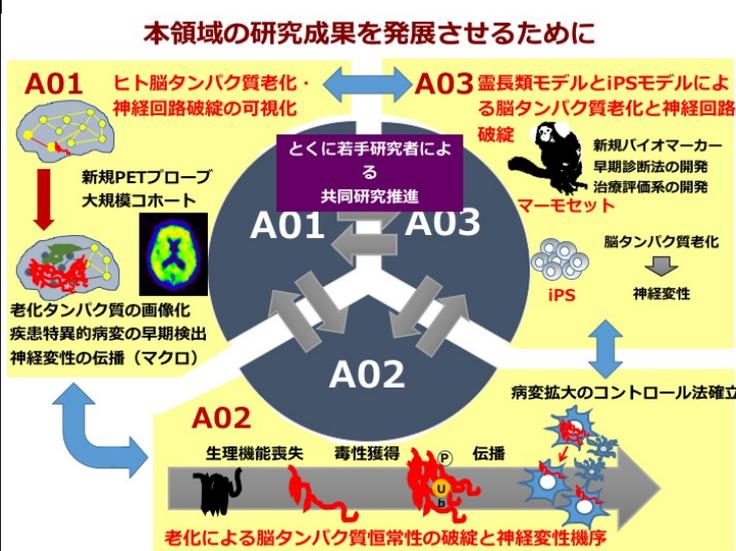
我が国で460万人とも数えられる認知症の予防と制圧は21世紀医学の最も大きな課題である。脳タンパク質老化が認知症に共通する分子機序であることは明らかであるが、脳のタンパク質レベルでの老化と脳組織レベルでの神経回路破綻・神経変性および個体レベルでの神経機能障害・認知症発症との関連は解明されていない。本研究領域は、脳タンパク質老化を軸に、分子レベルから個体レベルまでを視野に入れ、正常から神経変性に至る時間軸を重要な研究要素と位置づけ、次世代型先端技術を駆使して様々な角度から学際的に解析することで、脳におけるタンパク質老化学を切り開くものである。こうした学際的アプローチは新しい学問領域の形成によって大きく加速することが期待され、脳タンパク質老化の分子基盤の解明とその病原性の解明は、認知症とともに難治性神経変性疾患の画期的治療法開発へ向けたブレイクスルーに繋がることが大きく期待される。

脳タンパク質の凝集から毒性発現や、本領域にかかわる変性型認知症研究においては、我が国は先進的な役割を果たしてきた。脳ポリグルタミンタンパク質の老化・凝集が引き起こす機序を球脊髄性筋萎縮症において明らかにし(領域代表 祖父江)、その病態機序に基づき、凝集を抑制する分子標的治療の開発を世界に先駆けて進展させている。同様に SCA2, DRPLA, SCA3 の病因ポリグルタミンタンパク質の同定と、

CREBの神経変性機構における重要性を明らかにしている(計画班員 小野寺ら)。変性型認知症に広くみられるタウについては、その凝集機序の解明と認知機能との関連を世界に先駆けて示しており(計画班員 高島)、認知症と筋萎縮性側索硬化症の蓄積タンパク質 TDP-43 の同定も我が国から報告されており(計画班員 長谷川)、TDP-43、 α -シヌクレインの毒性タンパク質の伝播モデルも世界に先がけて我が国で確立されている(計画班員長谷川)。さらに認知症などの高次脳機能の研究では霊長類モデルが極めて重要であるが、マーモセットでの TDP-43、タウ、 α -シヌクレインの遺伝子改変モデルの作成で世界をリードしている(計画班員 岡野)。一方、老化タンパク質の脳内蓄積の可視化については、タウ、 α -シヌクレインのPETプローブの開発と画像化に世界に先駆けて成功している(計画班員 佐原、谷内、連携研究者 樋口、須原)。このように本領域に係わる個々の要素となる問題については、世界をリードする水準で我が国発の研究が行われているが、本領域のテーマである、なぜ脳タンパク質の老化が起こり毒性を獲得するのか、どのように神経回路破綻を来し、認知症に至るのか、また最終的な認知症予防につながるのかなど、本質的な問題にはいずれも解答を示せていない。このためには、これらの研究者・領域を超えて研究力を結集し、新たな学問領域の形成を目指して研究を推進することが極めて重要である。若い次世代研究者を引き込んで、大きな領域の形成につなげたい。

③ 応募時までの研究成果を発展させる内容

認知症や神経変性疾患の共通基盤であるタンパク質老化の分子基盤について、**基礎から臨床に至る多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、また次世代技術を集結し、異なる学問**



分野の研究者の連携推進により、脳タンパク質老化研究領域の新たな展開を目指すものである。本領域の研究の発展が神経科学や医学の多様な研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすと考えられる。

脳機能タンパク質の機能や動態を解析出来る研究者、iPS細胞や霊長類モデルを作出出来る研究者、タンパク質老化の開始・進展・去の機序を探索出来る研究者、病的タンパク質をマウスや霊長類で可視化出来る研究者さらにはヒトのタンパク質老化を評価・検証出来る研究者等が集うことにより、multi-disciplinaryな新学術領域として当該領域を発展させる。本研究領域の成果は、認知

症や脳老化に伴う様々な疾患に対する画期的創薬の創出に繋がることを期待される。

本研究領域は、in vitro、細胞、マウス、霊長類、ヒトにおいて脳タンパク質老化に携わる研究者を含むとともに、特に研究の出口としてのヒトにおける病的タンパク質の可視化と疾患発症との関連を検証出来る研究者、および脳タンパク質老化の制御法を開発する研究者を含んでいることが特徴である。

個々の研究推進とともに、共通して病態に深く関与している分子機構を解明するために、画像などのバイオマーカーを一つの連結点として基礎研究と臨床研究の交流を真の意味で活性化していくことは、我が国の脳研究レベルの向上と強化につながる。さらに、公募では若手枠を設け、若手との交流、教育を図るプロジェクトを打ち出すことで、脳研究に貢献し、多様な将来像を描ける人材の育成を図る。

本領域は、A01、A02、A03 各班の研究成果の相互活用が容易なことが特徴で、脳タンパク質老化解析過程で見出された基礎研究の成果を、タンパク質老化の可視化を通じて臨床研究にタイムラグなく応用出来るとともに、逆に臨床における疑問・発見を高い基礎研究レベルで検証できることが特徴である。さらに、iPS細胞、霊長類モデル、PET、神経回路解析は本領域の研究推進に欠かせない重要なツールであり、そのスペシャリストが集合していることも本領域の特色であり、さらなる新しい領域を生み出すことが期待される。

2. 研究の進展状況〔設定目的に照らし、研究項目又は計画研究ごとに整理する〕（3 ページ以内）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在までにどこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究ごとに記述してください。

A01「脳タンパク質老化と神経回路破綻」

① 研究期間内に何をどこまで明らかにしようとしたのか

脳タンパク質の老化と蓄積は、認知症発症と関連する。これらの老化タンパク質の蓄積を生体で計測する PET 検査は、治療薬開発におけるサロゲートマーカーとしての活用の可能性があり、早期治療介入や発症予防に貢献する技術として期待される。本研究項目では、谷内らが独自に開発したタウの蓄積を選択的に検出する PET プローブ[18F]THK-5351 を用いてタウや A β 蓄積の形成プロセスを縦断的に評価する。さらに同時に MRI を用いて神経回路(コネクトーム)や脳萎縮などを評価し、臨床所見も対比することで、例えばタウの蓄積がどのように神経変性や認知機能発現と関係するのかなど明らかにする。そこで、機能的・解剖学的脳内神経回路とタンパク質蓄積との関係を健常者、at risk 例、認知症発症例において検討し、認知症発症に至る病態を解明する。一連の解析により、1) 正常から認知症に至るヒトでの脳タンパク質老化の過程の可視化を通じた認知症発症機序、2) 病的タンパク質蓄積にもかかわらず認知症を呈さない例の臨床画像特徴解明、3) 経時的臨床像、各種バイオマーカーと脳タンパク質老化との関係をそれぞれ明らかにする。また一方では脳タンパク質蓄積の新規プローブの開発、タンパク質蓄積に至る超早期病態の可視化、蓄積する病的タンパク質の可視化の感度と特異度向上、画期的バイオマーカーの開発を、分子、細胞、動物、ヒトの各レベルで推進する。

② 応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしてどのように発展したか？

1) 老化タンパク質の可視化: THK-5351 は、アルツハイマー病 (AD) 患者ではタウ病理の好発部位で高度な集積上昇を認めることを明らかにした(祖父江、谷内)。また4リポートタウオパチーである進行性核上性麻痺と皮質基底核症候群の症例でも特徴的なプローブ集積が観察されることを示した(谷内)。THK-5351 は、白質の非特異的集積は少なく、タウ PET プローブとして、軽微なタウ病変の縦断的評価に適していることを確認した(祖父江、谷内)。次に、軽度認知障害から認知症へと至る過程で大脳皮質タウ病変が急激に進展し、その集積分布が臨床症候や脳萎縮と強く関連することを示した(谷内)。さらに健常者でも、皮質に高度なタウ蓄積を示すプレクリニカル症例が確認され、アミロイド病理がタウ病理の大脳皮質への進展を加速させる可能性が示唆された(谷内)。一方で、アミロイド β 病理像とは独立して、側頭葉内側部を中心とした高度なタウオパチーの疑われる高齢者も確認された(祖父江)。このように、タウタンパク質の可視化とそれを用いた病態評価は応募時に比して飛躍的に進展した。

α シヌクレイン蛋白を検出する新規 PET プローブ候補化合物のスクリーニングも進め、レビー小体型認知症患者脳切片におけるレビー小体を明瞭に染色するプローブ候補化合物を新たに見出している(谷内)。

2) 神経回路破綻の可視化・脳タンパク質蓄積との関連解析: 祖父江は大規模健常者イメージングゲノムコホートを構築し、コホートへの申込み者は高齢者を中心として750名を超え、95%以上の被験者からDNAを採取し、85%以上の被験者が2年目の2回目の検査に参加するなど順調に推移している。本コホートにおいてMRIを用いた加齢に伴う解剖学および機能的神経回路変化の特徴を示し、加齢に伴って辺縁系を中心とした脳萎縮、前方の側脳室周囲を中心とした解剖学的回路の破綻を認める一方で、後方系の機能的神経回路における機能的結合の増強を認めることを明らかにした(祖父江)。さらに脳内神経回路およびタウ蓄積の統合的な検討から、ADの発症に関連するタウの空間的蓄積分布の特徴としてデフォルトモードネットワークや遂行機能ネットワークへの蓄積が重要な役割を果たす可能性を明らかにするとともに、タウの蓄積が局所的な安静時機能的ネットワーク破綻を来すことを示した(祖父江)。また、タウの蓄積に代償する脳内神経回路機構の解析を進めている。応募時に比して、老化と認知症に伴う脳内神経回路変化の病態理解が大きく進んだと言える。

また、TDP-43 (J Neurol. 2016, J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2016, Neurobiol Aging. 2016, Mol Brain. 2015, JAMA Neurol. 2014)、FUS (Nat Commun. 2015, Genes Dev. 2015)、ポリグルタミン (J Neurosci. 2016, Hum Mol Genet. 2016, Mol Ther. 2016, Hum Mol Genet. 2015, Neurology. 2014, Hum Mol Genet. 2014) をはじめとするタンパク質の病態解明を通じ、バイオマーカー開発研究を推進した。

A02「脳タンパク質老化の分子基盤」

① 研究期間内に何をどこまで明らかにしようとしたのか

神経変性性認知症関連タンパク質はいずれも脳に常在する生理的タンパク質であるが、加齢に伴ってリン酸化、メチル化、断片化、重合化、機能分子との会合変化等の修飾を受け病原タンパク質となり、認知症を引き起こす。これらタウ、 α -シヌクレイン、TDP-43、FUS の細胞内蓄積は認知症発症の病理学的指標であり、これらの脳タンパク質が生理状態から病原タンパク質に転換し神経機能低下を引き起こす機構を見だし、タンパク質老化から脳老化に至るプロセスを明らかにするために、タウ、 α -シヌクレイン、TDP-43、FUS について剖検脳、動物モデル、iPS 細胞を含む細胞モデルを用いて分子レベルから個体レベルまでの脳老化過程を解析する。さらに、1) ヒト剖検脳において mass imaging を用いて神経原線維変化形成に関わる因子を検索する、2) 神経変性疾患は「進行性」であるという観点からタウ、 α -シヌクレイン、TDP-43 タンパク質の構造変化と増殖機構をプリオンとの対比で病原タンパク質の脳内伝播機構の解明につなげ、病態形成、発症の分子機構の解明にあたる、3)病原タンパク質への引き金となる mRNA の代謝のゆらぎとタンパク質の排泄など脳タンパク質の老化促進や、分解機構について TDP-43、 α -シヌクレインを例に検討し、タンパク質老化のきっかけとなる過程 (initiation) の分子機構を明らかにし、予防・先制治療開発につなげる。

② 応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしてどのように発展したか？

1) **タウのタンパク質老化と毒性機序**: 領域班内でタウアイソフォーム特異的抗体を共同作製し、力価の高いモノクローナル抗体を樹立した。またリン酸化程度を明らかにする手段として Phos-tag 法をタウに適用する方法を確立した(久永)。これらの手法を用いてタウリン酸化がタウ凝集に先んじることを明らかにした。タウは生理状態では軸索に局在しているが、これにはタウのプロモーター活性調節が寄与しており(宮坂)、過活動刺激により樹状突起で発現が亢進し、神経変性時にはタウの局在が軸索から樹状突起で観察されるようになる機構を明らかにした(宮坂)。3R、4R タウの役割について FUS の研究から4R タウ増大は神経変性、リン酸化タウ蓄積とともに海馬過活動引き起こすことを見出した(石垣)。海馬過活動は老齢期マウスでタウ依存的に引き起こされ、 β アミロイドを蓄積する APP マウスでも若齢期でタウ依存的な海馬過活動のあることを見出した(高島)。さらに病原タンパクとなるタウタンパク凝集体には Cys 残基が重要で神経細胞死を引き起こすタウ凝集体(顆粒状オリゴマー)の同定に成功した(高島)。以上からタウは生理的には軸索に分布しているが、老化、 β アミロイドにより神経の過活動が起こると樹状突起でタウの過剰発現が起こり、リン酸化タウ凝集蓄積が始まる。タウが顆粒状タウオリゴマーとなると神経細胞死が始まり、認知症を引き起こすと考えられる。タウのタンパク質老化と毒性機序の解明が進んでいる。

タンパク質の老化基盤と病原性タンパク質の伝播機構: 様々な疾患脳に蓄積する異常型タウとそのトリプシン耐性種は、疾患ごとに特徴的なパターンを示し、プリオン病における Proteinase K 耐性種と同じように、その生化学分類に有用であることを示した(長谷川)。また、AD の原因遺伝子である APP が異常型タウのリセプターとして働き、タウ蓄積やその伝播を促進することを報告した(長谷川)。プリオン病の研究では、代表的なプリオン病の MM1 と VV2(MV2)があらゆるヒトの遺伝子型モデルに感染することを証明した(北本)。また、VV2(MV2)プリオンが、コドン 129Met/Met の遺伝子型のヒトに感染した場合孤発性 CJD では認められない表現型を示すことを証明した(北本)。加えて、MM2C(皮質型)と MM2T(視床型)のプリオンが、ヒト型 PrP を遺伝子導入したノックインマウスに感染しないことを証明した(北本)。老化タンパク質とプリオンタンパク質の伝播機構の共通性や病態解明が大きく進んでいる。

2) **核酸代謝の乱れからみた蛋白質の老化基盤とその排除機構**: TDP-43 の発現調節機構を明らかにし、その乱れが ALS 等の病態を起こすことを明らかにした。TDP-43 は、その mRNA の選択的 polyA 結合を変化させ、選択的スプライシングを介した mRNA 分解機構を変化させることにより、その量を調節していることを明らかとした(小野寺)。次に ALS の病的運動神経細胞にて、TDP-43 mRNA の細胞内局在、スプライソゾームの構成が異なることを見出した。これらの細胞では本来核にある TDP-43 が細胞質に移動し、TDP-43 を持続的に産生する結果、量調節が機能しないことを示した。これらの結果から TDP-43 の細胞内動態をモデル化し、TDP-43 に関する諸因子の変動に対する核内 TDP-43 タンパク質の量をシミュレーションし、核内タンパク量の持続的減少を起こすことを示した。これらの事実は ALS で TDP-43 mRNA の制御異常が存在することを示唆した。そこで、これを立証するために、マウスにてスプライシング部位特異的なアンチセンス核酸の髄腔内投与にて内在性 TDP-43 過剰状態を引き起こすことに成功し、TDP-43 の断片化や、アポトーシス促進因子である BIM mRNA の増加を見出した(小野寺)。一方、排除機構では、TGF β シグナル亢進によ

り、排除機構に関わる脳微小循環系の脳小血管にて平滑筋細胞の周皮細胞の変性を来すことを見出した。TDP-43 を基軸として老化とそれに基づく神経変性疾患の背景にある RNA 代謝の乱れ、さらには周皮細胞を介した排除機構の理解が進んでいる。

A03 「脳タンパク質老化に対する治療開発」

① 研究期間内に何をどこまで明らかにしようとしたのか

患者と健常者の iPS を樹立し、ニューロン・グリア・血管などに分化させ、脳タンパク質老化による細胞間ネットワークの変調から神経変性への過程を解明する。1) 患者由来 iPS を用い、タンパク質老化による機能喪失・毒性獲得機序に関わる分子や、タンパク質老化過程を抑制・促進する分子を明らかにする。さらにタンパク質老化に伴うニューロン変性モデルを構築する。2) iPS の遺伝・臨床情報と細胞レベルでの変性の程度を比較検討し、タンパク質老化と神経機能に及ぼす遺伝子的背景との関連を解析する。また患者由来 iPS を用い、タンパク質老化によるニューロン変性を抑制・促進する要因を明らかにする。3) 健常者由来 iPS の変化を患者由来 iPS と比較し、正常加齢と神経変性の異同を解明する。さらにタンパク質老化がニューロン・グリアなどの細胞間相互作用に及ぼす影響を解析し、タンパク質老化を検出する化合物を同定し、病態を反映するバイオマーカーを開発する。また、タンパク質老化によるニューロン変性過程、神経回路破綻をマーマセットレベルで比較する。4) タンパク質老化を抑止する低分子化合物をハイスループットで探索し、マーマセットモデルを用いた治療研究へと繋げる。

② 応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしてどのように発展したか？

1) **ヒト iPS 細胞と霊長類モデルを用いた治療開発の基盤整備**: タウ遺伝子変異 R406W をもつ FTDP-17 家系の患者 2 名より iPS 細胞の樹立を行った。リプログラミング因子を導入した末梢血単核球から、未分化能を維持し、正常核型を持つ iPS 細胞クローンを、両患者からそれぞれ 3 クローンずつ選別した。さらに CRISPR/Cas9 のゲノム編集技術を用いて、患者の遺伝的背景で野生型タウ遺伝子を発現するコントロール iPS 細胞の作製を行った。次に、患者における変異型タウの影響を調べるため、前脳領域の興奮性神経細胞、および前脳領域のオルガノイド細胞塊を分化誘導する系を確立した。これらの開発ツールを用いて、タウオパチー疾患の発症分子機序に関する包括的理解を深めていく体制が整備された。

神経細胞特異的及びテトラサイクリン応答性に P301L 変異のタウ遺伝子を発現させるレンチウイルスベクター、及び遍在性プロモーター下に P301S 変異のタウ遺伝子を発現させるレンチウイルスベクターを構築し、高力価のレンチウイルスを得ることができた。産生したレンチウイルスをマーマセット初期胚(前核期卵)へ感染させ、蛍光タンパク質の発現を指標にトランスジーンの導入が確認された胚を選別し、仮親となるマーマセットの子宮へ移植、トランスジェニックマーマセットを産出させた。CMV-P301S のレンチウイルスを感染した初期胚でトランスジーンの導入が確認された胚が 1 個得られたため、仮親のマーマセット子宮へ移植し、トランスジェニックマーマセット作出を行っている。今後、安定的にライン化したトランスジェニックマーマセットを育成・繁殖させ、領域内の研究者と連携して、定期的なタウ PET や MRI イメージングを行い、タウ病変の形成や脳組織の委縮を縦断的に解析する。さらに認知機能解析、及び行動解析を行い、野生型マーマセットとの比較を行うことでタウオパチーモデルとしての有用性を評価する。In vitro モデル系で得られた有用と思われる薬剤を、モデルマーマセットへ投与することで in vivo での効果を前臨床的に評価する。

2) **脳イメージングを基軸としたタンパク質老化モデルの治療評価系の開発**: タウ病変と脳萎縮を加齢依存的に呈するタウオパチーマウスモデル (rTg4510 マウス)を用いた生体イメージングによる創薬プラットフォームの構築に成功した。タウ病変の生体観察には¹¹C]PBB3-PET を活用し、形態 MRI で見られる脳萎縮との相関も認められた。神経炎症マーカーでありミクログリアやアストロサイトで増加する TSPO (translocator protein) を評価する PET を並行して行なうことで、神経炎症と病態との関連性も明らかとなり、TSPO-PET のバイオマーカーとしての有用性も確認された。PBB3 が蛍光特性を有することを活用して、二光子顕微鏡による細胞レベルのタウ病変進行過程を追跡することに成功した。一連のシステム開発により、イメージングバイオマーカーを用いた病態モニタリングシステムを連結点とした基礎研究と臨床研究の交流の活性化が期待されるとともに、他の領域で見出された病態解析や、創薬開発につながる重要なプラットフォームが構築された。

3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況（2 ページ以内）

審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

当該コメント: タンパク質老化学に精通した専門科の参画が少ない。タンパク質化学・構造生物学にまで広がることによってタンパク質老化というタイトルに相応しい内容となる。これらに精通した研究者が構成員に不足しているとの意見が複数見られたため、体制の更なる充実を図ること

対応策: タンパク質化学・構造生物学に精通した専門科として、A03-2 佐原グループ研究分担者1名(山口)が、さらに公募にて3名(濱田、望月、古川)が加わった。

山口は、tau 凝集体と PET 薬剤候補となるベンゾチアゾール骨格を持つチオフラビン T 類縁体との相互作用様式を溶液 NMR 法により原子レベルで解明するため、溶液 NMR 法に適したヘパリンフリーのタウ凝集体を調製することに成功し、このタウ凝集体はチオフラビン T および PBB5 と結合することが各種 NMR 法により確認した。得られた知見はタウ凝集体に高親和性で結合する PET 薬剤の合理的デザインに貢献することが期待される。現在はタウ凝集体の性状解析、NMR 測定条件の最適化、リガンド化合物の選定を行っており、タンパク質凝集体と薬剤の相互作用を原子レベルで明らかにすることは、より親和性・特異性の高い PET プローブの開発につながると期待される。今後、本知見を放射線医学総合研究所において活用していく予定である。また、東北大学や長寿医療研究センターなどにおける PET プローブ開発にも大きな波及効果を及ぼすと期待される。

濱田は、膜タンパク質の品質管理・分解除去・分泌、小胞体ストレス、ミトコンドリアへのカルシウム供給、オートファジーなどを制御する小胞体において、小胞体カルシウムチャネルのアロステリック構造変化が小胞体ストレスとオートファジーを調節し神経変性を起こすことを示した。さらにタウタンパク質の発現プラスミドを構築して培養細胞に発現させ、細胞内カルシウムイオン濃度測定や小胞体カルシウム放出を評価するとともに、細胞におけるタウタンパク質と小胞体カルシウムチャネルの分布を共焦点顕微鏡下で観察することで、タンパク質老化と小胞体カルシウムとの機能的または構造的な相互作用を調べ、細胞内でタウタンパク質と小胞体カルシウムチャネルが構造的に相互作用する可能性の検討を進めている。本検討は、認知症の発症過程で認めるタンパク質がモノマーからオリゴマーそして繊維状構造へと構造が変化する際の細胞内制御過程、タンパク質老化により生じた物質の細胞毒性獲得機序の解明につながるとともに、タウ以外のタンパク質研究へ応用することで、さらなる発展に寄与すると考えられる。

望月は、 α シヌクレインとパーキンソン病や Lewy 小体型認知症の特徴的な封入体である Lewy 小体の構造解析を X 線小角散乱と顕微赤外分光・X 線解析（非結晶）を用いて Spring-8 と共同で解析を進めている。まず、 α シヌクレインは、大腸菌で発現させたタンパク質もヒト赤血球から生成したタンパク質も溶液中で大部分が構造を持たない単量体として存在することが明らかとなった。さらに、Lewy 小体は、剖検脳の検討により β シート構造を多く有し、halo においてその割合が高く、アミロイド線維に特徴的なクロス β 構造は有していない可能性を示した。今後、 α シヌクレインから Lewy 小体の形成されるプロセス、細胞毒性・無毒化機序解明への発展が期待される。

古川は、家族性筋萎縮性側索硬化症の原因である銅・亜鉛スーパーオキシドディスムターゼ(SOD1) 遺伝子に着目して、SOD1 オリゴマーを特異的に認識する抗体を作製し、そのエピトープ部位を解析することでオリゴマーの構造的特徴を免疫化学的な構造解析アプローチを試みた。SOD1-ALS に見られる変異 SOD1 のミスフォールディングは、SOD1 構造の内部が溶媒側に露出するような変化を伴っており、病変部位特異的に進行することから、疾患発症につながる毒性発揮にも関連した重要な構造異常である可能性を見出した。

これら一連のタンパク質化学・構造生物学研究は、それぞれのタンパク質の構造の変化を介した老化機序の解明に大きく寄与するだけではなく、本領域の計画研究ならびに公募研究と連携が進むことにより、タンパク質老化を可視化する新規 PET プローブ開発研究、タンパク質老化機序の解明研究、タンパク質老化が疾患を引き起こす機序やそれに基づく治療法開発研究への展開へと拡がっており、本領域の発展とタンパク質老化学の構築に多大な貢献を果たしている。さらに、それぞれの手法は、現時点では特定のタンパク質を標的として研究されているが、その考え方を含めて他のタンパク質への応用や発展が可能であり、当領域の重要な共通プラットフォームになっている。

このようにタンパク質老化学に精通した専門科が複数参画することで、体制の更なる充実が図られ、タンパク質化学・構造生物学にまで本領域は広がっている。

当該コメント:大型グループ研究とは言え、研究費は年間 3 億円と限られている。その中で世界をリードする成果を挙げるためには、異常タンパク質の神経経路特異的伝播など、我が国の独創性の高い研究を特に重視・推進すべきであるという意見もあった。

対応策:計画班員の A02-2 には、病原タンパク質伝播の提唱者でもある長谷川、さらにプリオン研究の第一人者である北本が加わっている。また公募においても伝播研究に精通する研究者(山田、坂口、青木・長谷川(隆))が加わった。

長谷川(成)、北本は、2. 研究の進展状況においても記載したように、両者の共同研究を強化しつつ、当該分野における世界における先進的な研究を推進し、成果を発信している。

山田は、タウの細胞外分泌に着目し、細胞外に存在するタウタンパク質の性状解析と、細胞外分泌の分子機構解明を介して、タウ病理の細胞間伝播という新規現象の解明に取り組んでいる。これまで、シナプス活動に依存して分泌されるタウは、細胞内型タウと異なり複数のサイトで脱リン酸化を受けていること、シナプス活動がタウ分泌亢進にさきがけて細胞内タウを脱リン酸化すること、細胞内凝集に伴いタウの分泌様式が変化することなどを明らかにしている。一連の研究は、どのようなタウタンパク質が、どのような分子機構で細胞外へ放出され、細胞間伝播を生じるのかを解明することに繋がると期待される。

坂口は、プリオン病の病原体「プリオン」が感染すると、タンパク質運搬分子の一つである Sortilin の低下が起こること、その結果、正常プリオンタンパク質や異常プリオンタンパク質の細胞内輸送が変換し、持続的な複製、持続感染を可能とする可能性を見出した。一連の研究は、正常プリオンタンパク質が異常プリオンタンパク質に構造変換することにより、増殖する細胞メカニズムを明らかにすることにつながり、プリオン病の創薬開発にも結びついていくと考えられる。

青木・長谷川(隆)は、異常蛋白伝播阻止に立脚したシヌクレイノパチー進行抑制療法の開発を進めている。パーキンソン病やアルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患において、異常凝集タンパクの細胞間伝播による病変進展が指摘されている。細胞モデルを用いたスクリーニングにおいて、複数の選択的セロトニン受容体阻害薬が線維化 α シヌクレインの細胞内取り込みを抑制することを確認した。これと並行して Convection enhanced delivery (CED)装置を用いた線維化 α シヌクレイン脳内接種マウスモデルを作製し、セルトラリン経口摂取下における脳内 α シヌクレイン伝播抑制効果の検証を実施した。異常タンパク伝播阻止によるシヌクレイノパチーの疾患修飾療法の可能性を示す研究である。

さらに望月は、ヒト由来 α シヌクレインより fibril formation を起こし、それを脳内へと投与する手法を用い、マーモセットやマウスモデルの構築を推進し、 α シヌクレインの伝播機構の解明研究に着手、推進している。谷内グループでは長谷川グループの作成した α シヌクレインモデルマウスを用いて、新規開発中の α シヌクレインプローブを用いた進展様式の可視化研究にも取り組んでいる。山田は、高島グループや祖父江グループと、さらに坂口は長谷川・北本グループと連携を組むことで、それぞれの研究の発展にも寄与している。

本領域では、岡野は、マーモセットモデルや iPS 細胞を用いて、これら病的タンパク質の伝播がどのように疾患を引き起こすかについて、応用的な研究を推進している。さらに祖父江は、我が国の独創性の高いタウタンパク質を可視化する PET と β アミロイドを可視化する PET を用いるとともに、MRI や脳磁図のネットワーク解析を併用して機能的神経回路や解剖学的神経回路を可視化することで、ヒトの加齢および加齢から認知症を発症する過程においてタンパク質の伝播様式がどのようになっているか、またそれにより神経回路にどのような変化が生じるのかを前方向的な研究を推進し、それらの解明に努めている。

伝播は老化タンパク質の重要な特性で、神経変性の進展や治療ターゲットにもなる。異常タンパク質の神経経路特異的伝播という、我が国の独創性の高い研究については、基礎レベル、動物・霊長類レベル、ヒトレベルにおいて、一貫通貫的な連携を行いながら、特に重視・推進しており、本領域における我が国の最先端の研究者は本領域に集約している。

一連の研究をさらに発展、融合させることで、世界をリードする成果を挙げ、タンパク質老化学の確立へ結びつけていく。

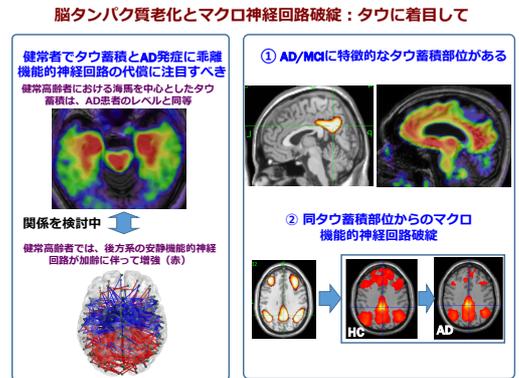
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

(3 ページ以内)

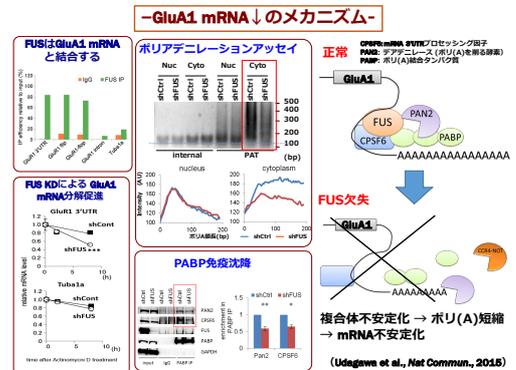
本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

計画研究における主な研究成果

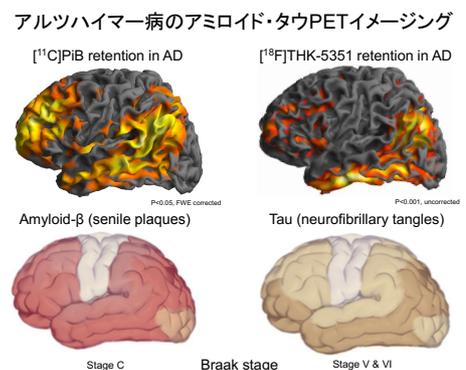
◎祖父江は、谷内、岡村ら (THK-5351 *Brain. 2014 Curr Opin Neurobiol. 2016*)、および樋口、須原、佐原ら (PBB3 *Neuron. 2013*)と共同で、彼らの開発したタウ PET プローブを導入し、加齢に伴うタウ蓄積の分布の研究を進め、高齢健常者と早期認知症患者のタウ蓄積と、それに伴う脳内神経回路破綻や代償機転について名古屋大学で構築した大規模健常者イメージングゲノムコホートとの対比もしながら、MRI 解析で実績のある田邊らと (*NeuroImage 2016 a, b*)解析を進めた。特筆すべき成果として、アルツハイマー病 (AD) 発症にかかわる特異的なタウの蓄積分布がデフォルトモードネットワークや遂行機能ネットワークの構成領域の分布と一致しており、このタウの沈着の分布が認知症進展にとって極めて重要であることを明らかにした。また、タウ蓄積部位からの機能的神経回路は障害され、健常者でもタウ蓄積を認めるが、症状を出さない背景として機能的神経回路の代償が働いている可能性があることを見出し、脳タンパク質老化と神経回路破綻の関係を明らかにしつつある。タウタンパク質の蓄積と神経回路破綻の解析を組み合わせた研究は、世界的にも先駆的であり、脳タンパク質老化と神経機能の関係を明らかにする重要な知見を提供している。現在、投稿準備中である。



◎祖父江は、脳タンパク質老化とマイクロ神経レベルの関係においても新しい知見を見出した。FUS は筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、及び前頭側頭葉変性症 (FTLD) の原因となる RNA 結合タンパク質であるが、その病態機序は不明であった。高島らとの共同研究により、FUS の機能喪失がシナプスにおけるタンパク質発現、機能、形態、及び高次行動に及ぼす影響を解析し、FTLD の病態発現への寄与を調べた。FUS の発現抑制は AMPA 受容体サブユニットである GluA1 の発現を低下させた。FUS は GluA1 mRNA の 3' 末端に結合し、ポリ(A) 鎖の調節を介して、mRNA の安定性を制御することを明らかにした。FUS を海馬特異的に抑制したマウスでは成熟スパインの割合が減少し、多動・脱抑制・社会性の欠如などの行動異常を呈し、これらは GluA1 を強制発現することで回復することができた。以上の結果から、FUS が GluA1 の mRNA 安定化と後シナプスの機能を担っており、FTLD 様の行動異常について関与していることが明らかになった (*Nat Commun 2015, Genes Dev 2015*)。

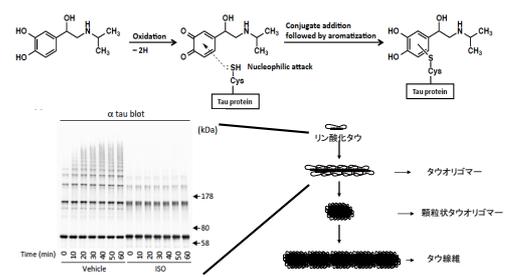


◎谷内は、新規開発タウ PET トレーサー[18F]THK5351 は AD 患者脳切片のタウ病理像に選択的に結合し、従来型トレーサーよりも生体内動態に優れていたこと、AD 患者を対象とした PET 検査を実施したところ、海馬傍回や側頭・頭頂葉領域を中心にトレーサー集積を認め、病理研究で報告されているタウ蛋白病理像の分布と一致していることを示した (*J Nucl Med 2016 a, b*)。これらの知見は祖父江の検討でも確認された。さらに、4 リpeat タウオパチーである大脳皮質基底核変性症 (CBD) において、同疾患におけるタウ病理好発部位とされる中心溝付近や淡蒼球においてトレーサーの顕著な集積上昇を認め、非 AD タウ病変の画像化にも本手法が活用できることを確認した (*Neurology 2016 in press*)。本トレーサーはタウ病理を鋭敏に描出可能であることを示す結果であり、タウ病変の優れたバイオマーカーとして国内外の多くの臨床施設に普及しつつある。

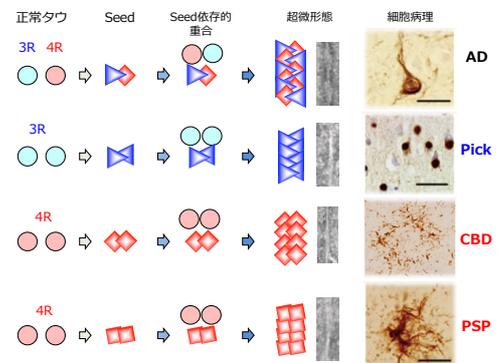


◎高島は、久永らとの共同で、AD で認める凝集体のリン酸化について Phos-tag 法により解析をしたところ、ブラークステージ V で非リン酸化型が減少し、正常脳でも見られるリン酸化型が亢進していること、リン酸化が亢進したタウは凝集体を形成することを示した。一方、他のタウオパチーである皮質基底核変性症では異なるリン酸化パターンが観察された。タウのリン酸化という観点から AD と他のタウオパチー認知症は異なる可能性を示した (*Am J Pathol* 2016)。さらに、動物モデルで神経脱落阻害を起こす顆粒状タウオリゴマー形成阻害化合物を見出した。この化合物の作用機序はタウの Cys 残基に共有結合することでタウタンパク質を修飾した凝集の最初の段階であるタウオリゴマー形成を阻害することを示した (*Nat Commun* 2015)。本研究は、領域内の同志社大にて化合物を合成し、放医研から動物モデルが提供された。名古屋大にて本タウ凝集阻害剤を用いた臨床研究の可能性を探索している。

システイン残基はタウオリゴマー形成の最初に必要な部位である



◎長谷川(成)は、AD、ピック病、CBD、PSP、FTDP-17 を検討し、それぞれのタウ病変は異常タウの断片バンドとトリプシン耐性バンドで分類可能であり、病型は最初に形成される異常タウの重合構造の違い(strain の違い)により生じる可能性を示した (*Acta Neuropathol* 2016, 2015)。この結果は、多様なタウオパチーが、プリオンと同様にプロテアーゼ耐性バンドの違いで客観的生化分類が可能で、その病態形成がプリオン様伝播で説明できることを強く示唆する。次に、ALS を引き起こす変異アクチン結合タンパク質プロフィリン 1 (PFN1) は細胞内でユビキチン、p62 陽性凝集体を形成すること、その PFN1 凝集体に TDP-43 が結合し構造変化を引き起こし、TDP-43 が鋳型依存的にアミロイド様線維化して凝集することを示した (*Hum Mol Genet* 2016)。PFN1 の構造異常により、本来は凝集しにくい TDP-43 が異常 PFN1 との相互作用で構造変化が誘導され、そこで形成された異常 TDP-43 がプリオンと同様、鋳型依存的に正常 TDP-43 を異常型にすることを見出した。いずれも北本が第一人者であるプリオンタンパクと同様の特性をタウや TDP-43 の脳タンパク質老化が有することを示した結果であり、異常タンパク質の伝播機序解明に向けた大きな進捗である (*Ann Neurol* 2016, *Sci Trans Med* 2016)。



◎小野寺は、これまで HTRA1 遺伝子ホモ接合変異で発症する家族性脳小血管病を見出し、脳の老化タンパク質排泄機能をもつ小血管の病態が TGF-β ファミリーシグナル亢進によることを解明した (*N Engl J Med* 2009)。この知見に基づき、今回、5.3% の孤発性重症脳症血管病患者に HTRA1 遺伝子のヘテロ接合変異のあることを見出した。さらに変異 HTRA1 蛋白が、3 量体形成を介する正常な HTRA1 蛋白の活性化を阻害することを解明した (*Neurology* 2016, *Nucl Acids Res* 2016)。本研究成果は *Neurology* 誌の表紙として採用されている。

変異型HTRA1の三量体形成に関連する優性阻害効果 重症脳症血管病の5%

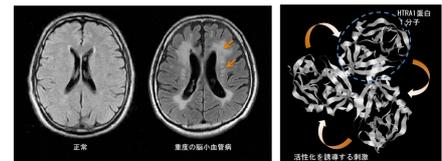


図1 脳小血管病患者のMRI画像
脳小血管病患者では、白質深部に白質病変(白点)が形成されます。

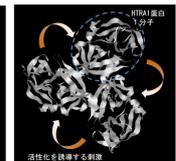
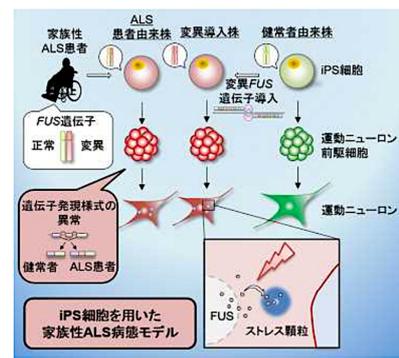


図2 HTRA1蛋白の活性化機構
HTRA1 E123は3量体を形成し、阻害する分子を活性化します。この機構を阻害する変異はヘテロ接合でも脳小血管病を誘発します。



患者由来iPS細胞とゲノム編集によるFUS遺伝子変異家族性ALSの病態モデルの作製

◎岡野は iPS 細胞を用いた病態解析・再生医療研究を、世界をリードして進めてきており (*Nat Biotechnol* 2009, *Stem Cell Reports* 2016 a)、今回、家族性 ALS の原因遺伝子の一つ FUS 遺伝子に変異を有する患者から iPS 細胞を樹立し、神経細胞へと分化させた。この神経細胞をコントロールと比較し、神経突起長の短縮、ストレス顆粒の形成等の異常を示した。これらの表現型は、ゲノム編集により人工的に作出した変異型 FUS 遺伝子を持つ iPS 細胞でも再現された。 (*Stem Cell Reports* 2016 b)。本 ALS 病態モデルをはじめ、iPS モデルの構築とその応用は (*Stem Cell Reports* 2015, *Nature* 2016, *Nat Genet* 2016)、新規病態解明と創薬研究への展開が期待される。



◎佐原らは、MRI、[11C]PBB3 タウ PET イメージング (*Neuron* 2013)、神経炎症を評価する TSPO-PET イメージングを行なうことで、脳萎縮、タウ病変、神経炎症の進行過程を追跡し、治療効果判定の基盤を確立することに成功した。さらに二光子顕微鏡を用いた解析システムも併用し (*Front Neurosci* 2015, *J Nucl Med* 2015)、マウスモデルでのタウ凝集体産生・消失過程の可視化に成功し、現在投稿準備中である。本システムを活用することで個体間誤差を軽減しうるとともに、治療介入時期の効率的な探索が可能となった。このマルチモーダルイメージング技術を用いることで治療薬候補評価の時間短縮、創薬開発研究への大きな貢献が期待される。また報酬系などを中心とする高次脳機能解析を同時に推進している (*Neuron* 2016, *Nat Neurosci* 2016)。

公募研究における主な研究成果

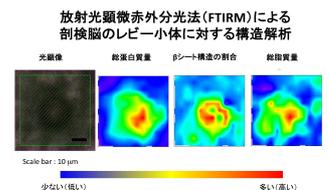
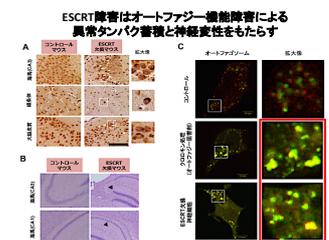
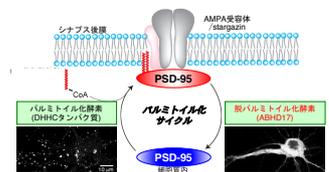
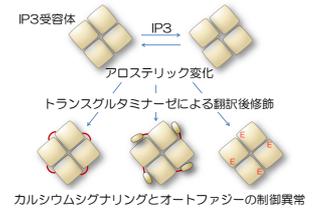
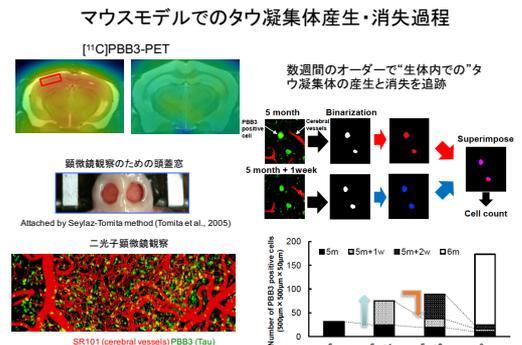
濱田は、小胞体カルシウムチャネルの制御異常が認知症の機能障害や毒性機序に関与するという新しい仮説について研究を推進しており、小胞体カルシウムチャネルの細胞質ドメインのX線結晶構造解析を行いチャネルのゲーティング機構を解明した。今回明らかにしたゲート機構は新規の創薬ターゲットを提供し新しい治療法の開発に繋がることと期待される (*Nat Commun* 2016 in revision, *PNAS* 2015)。

深田は、足場タンパク質 PSD-95 は、AMPA 受容体や NMDA 受容体など、様々なシナプス膜タンパク質を裏打ちし、シナプス伝達・形成の中核的な役割を果たす。今回、PSD-95 の局在を制御する「脱パルミトイル化酵素 ABHD17」を同定し、ABHD17 が海馬培養神経細胞の PSD-95 と AMPA 受容体のシナプス局在を制御することを見出した。 (*J. Neurosci* 2016, *JCI* 2015, *PNAS* 2016)。

青木・長谷川は、Lewy 小体や AD にみられる顆粒空胞変性体の構成成分で、その遺伝子異常により FTD-ALS 等の神経変性疾患を生じる小胞輸送制御因子 ESCRT 構成分子を検討した。マウスと細胞モデルを駆使し、変性疾患関連タンパクのオートファジー分解に ESCRT-0/Hrs 必須で、同機構の障害は ER ストレス誘導性アポトーシスとネクローシスを誘導することを示し、ESCRT 障害による異常タンパク蓄積、神経細胞死を阻止する創薬の可能性を示した (*Sci Rep* 2016)。

望月は、岡野らと共同でパーキンソン病患者剖検脳のレビー小体がβシート構造を多く有することを SPring-8 における放射光顕微赤外分光法を用いて世界で初めて確認し、蛋白質や脂質の量はコアで多く、βシート構造の割合はハローで高いことを示した (*Sci Rep* 2015)。脳内凝集体の2次構造レベルの構造解析は画期的であり、フィブリル伝播仮説の検証にも有用となり得る。

小野は、[125I]64 ([125I]SBI-2) が SPECT 用タウプローブとして有効である可能性を示した (*J Med Chem* 2015)。安藤は、リン酸化タウと神経細胞死との関係を示し (*PLoS Genet* 2016)、山田は脳内にタウの in vivo 半減期を網羅的に解析し、細胞内・外で半減期が非常に長いこと、凝集・リン酸化状態により安定性が変化することを示した (*Mol Neurodegener* 2015)。貫名は、ハンチントン病核内封入体転写因子 NF-YA の機能を検討し、タンパク質分解系を制御する転写因子としての USF を発見した (*FEBS J* 2016)。伊藤(素)は、脳神経の様々な分化過程で重要な働きをもつ Notch と Notch リガンドが結合後に細胞に取り込まれ代謝されるメカニズムを示した (*Genes Cells* 2016)。古川は、異常型の SOD1 タンパク質の構造的特徴を明らかにした (*J Biol Chem* 2016)。清水は新規オートファジーがゴルジ体から細胞膜への輸送系の破綻に関連して誘導されることを見出した。 (*EMBO J* 2016, in revision)。松本は、ミトファジーにおいて異常ミトコンドリアがオートファゴソームに取り込まれる際の分子機構を明らかにした (*Hum Mol Genet* 2015)。太田は、LRRK2 遺伝子変異を有する遺伝性パーキンソン病患者由来の iPS 細胞を樹立し、病態の解明および再現に成功した (*Hum Mol Genet* 2015)。



5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

- 論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。
- 別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したもの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したもののについては、冒頭に▲を付してください（前項と重複する場合は、「◎▲・・・」と記載してください）。
- 一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

A01-1

- ◎Xu Y, (他5名), Katsuno M, Adachi H, *Sobue G, Jordan CL. Defects in Neuromuscular Transmission May Underlie Motor Dysfunction in Spinal and Bulbar Muscular Atrophy. *J Neurosci*. 2016;36(18):5094-106.
- ◎Shahrizaila N, *Sobue G, (他 16 名), Kiernan MC. Amyotrophic lateral sclerosis and motor neuron syndromes in Asia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016. [Epub ahead of print]
- ◎Bott LC, (他8名), Katsuno M, *Sobue G, Rinaldi C. A small-molecule Nrf1 and Nrf2 activator mitigates polyglutamine toxicity in spinal and bulbar muscular atrophy. *Hum Mol Genet*. 2016. [Epub ahead of print]
- ▲◎Masuda M, (他 14 名), Watanabe H, Atsuta N, Sobue G. Involvement of the caudate nucleus head and its networks in sporadic amyotrophic lateral sclerosis – frontotemporal dementia continuum. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2016. [Epub ahead of print]
- ◎Pourshafie N, Lee PR, Chen KL, Harmison GG, Bott LC, Katsuno M, *Sobue G, Burnett BG, Fischbeck KH, Rinaldi C. MiR-298 counteracts mutant androgen receptor toxicity in spinal and bulbar muscular atrophy. *Mol Ther*. 2016;24:937-45.
- ◎Watanabe H, Atsuta N, Watanabe H, Ito M, Katsuno M, (他 26 名), *Sobue G. A rapid functional decline type of amyotrophic lateral sclerosis is linked to low expression of TTN. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016. [Epub ahead of print]
- Nakamura R, Atsuta N, Watanabe H, Katsuno M, (他 25 名), *Sobue G; Japanese Consortium for amyotrophic lateral sclerosis (JaCALS). Next-generation sequencing of 28 ALS-related genes in a Japanese ALS cohort. *Neurobiol Aging*. 2016;39:219.e1-8.
- Koike T*, Tanabe HC*, (他8名), Sadato N (2016.1) “Neural substrates of shared attention as a social memory: A hyperscanning functional magnetic resonance imaging study.”, *NeuroImage*, [Epub ahead of print].
- Sahashi K, Katsuno M, Hung G, Adachi H, Kondo N, Nakatsui H, Tohna G, Iida M, Bennett CF, *Sobue G. Silencing neuronal mutant androgen receptor in a mouse model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Hum Mol Genet*. 2015;24:5985-94.
- Masuda A, Takeda J, Okuno T, Okamoto T, Ohkawara B, Ito M, Ishigaki S, *Sobue G, Ohno K. Position-specific binding of FUS to nascent RNA regulates mRNA length. *Genes Dev*. 2015;29:1045-57.
- ▲◎Udagawa T, (他 12 名), Watanabe H, Katsuno M, Ishigaki S, *Sobue G. FUS regulates AMPA receptor function and FTL/ALS-associated behavior via GluA1 mRNA stabilization. *Nat Commun*. 2015;6:7098.
- Mitsui J, Matsukawa T, Sasaki H, (他 23 名), Watanabe H, Ito M, *Sobue G, (他 41 名), Tsuji S. Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015;2(4):417-26.
- Endo F, (他7名), Katsuno M, *Sobue G, Yamanaka K. Astrocyte-derived TGF- β 1 accelerates disease progression in ALS mice by interfering with the neuroprotective functions of microglia and T cells. *Cell Rep*. 2015;11(4):592-604.
- Maesawa S, (他4名), Watanabe H, Mori D, *Sobue G, Wakabayashi T. Evaluation of resting state networks in patients with gliomas: connectivity changes in the unaffected side and its relation to cognitive function. *PLoS One*. 2015;10(2):e0118072.
- Watanabe H, Atsuta N, Watanabe H, Katsuno M, (他 21 名) *Sobue G. Factors affecting longitudinal functional decline and survival in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2015;16(3-4):230-6.
- Iida M, Katsuno M, (他6名) Watanabe H, Yamamoto M, Kishida K, *Sobue G. Pioglitazone suppresses neuronal and muscular degeneration caused by polyglutamine-expanded androgen receptors. *Hum Mol Genet*. 2015;24(2):314-29.
- Matsuyoshi D, Morita T, Kochiyama T, Tanabe HC, Sadato N, Kakigi R. “Dissociable cortical pathways for qualitative and quantitative mechanisms in the face inversion effect.”, *J. Neurosci*. 2015;35:4268-79.
- Ito K, (他 14 名), Ikeda M, SEAD-J Study Group: Prediction of outcomes in MCI by using ^{18}F -FDG-PET: A multicenter study. *J Alzheimers Dis*. 2015; 45:543-52.
- Tohna G, Katsuno M, (他 9 名), Watanabe H, Yamamoto M, Ohtsuka K, *Sobue G. Paenoniflorin eliminates a mutant AR via NF-YA-dependent proteolysis in spinal and bulbar muscular atrophy. *Hum Mol Genet*. 2014;23:3552-65.
- ◎Ohkawa T, Satake S, Yokoi N, Miyazaki Y, Ohshita T, *Sobue G, Takashima H, Watanabe O, Fukata Y, Fukata M. Identification and characterization of GABA(A) receptor autoantibodies in autoimmune encephalitis. *J Neurosci*. 2014;34:8151-63.
- Riku Y, Watanabe H, Katsuno M, (他 9 名), *Sobue G. Lower motor neuron involvement in TAR DNA-binding protein of 43 kDa-related frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA Neurol*. 2014;71:172-9.
- Nakajima K, Minami T, Tanabe HC, Sadato N, Nakauchi S “Facial color processing in the face-selective regions: An fMRI study.”,

A01–2

1. *Brendel M, (他 11 名), Okamura N, Herms J, Rominger A. Small-animal PET imaging of tau pathology with ¹⁸F–THK5117 in 2 transgenic mouse models. *J Nucl Med.* 2016; 57:792–798.
2. ▲Harada R, Furumoto S, Yoshikawa T, Ishikawa Y, Shibuya K, Okamura N, Ishiwata K, Iwata R, *Yanai K. Synthesis and characterization of ¹⁸F–interleukin–8 using a cell–free translation system and ¹⁸F–fluoro–L–proline. *J Nucl Med.* 2016; 57: 634–639.
3. ▲◎Togo T, *Furumoto S, Okamura N, Harada R, Adachi H, Ishikawa Y, Yanai K, Iwata R, Kudo Y. Structure–activity relationship of 2–Arylquinolines as PET imaging tracers for tau pathology in Alzheimer’s disease. *J Nucl Med.* 2016; 57: 608–614.
4. ▲◎Harada R, *Okamura N, Furumoto S, (他 14 名) Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y. ¹⁸F–THK5351: A novel PET radiotracer for imaging neurofibrillary pathology in Alzheimer’s disease. *J Nucl Med.* 2016; 57: 208–214.
5. ▲◎Ishiki A, *Okamura N, Furumoto S, (他 9 名), Tashiro M, Yanai K, Kudo Y, Arai H. Longitudinal assessment of tau pathology in patients with Alzheimer’s disease using [¹⁸F]THK–5117 positron emission tomography. *PLoS One.* 2015; 10: e0140311.
6. ◎Shidahara M, *Watabe H, Tashiro M, Okamura N, Furumoto S, (他 10 名), Yanai K. Quantitative kinetic analysis of PET amyloid imaging agents [¹¹C]BF227 and [¹⁸F]FACT in human brain. *Nucl Med Biol.* 2015; 42: 734–744.
7. Lemoine L, Saint–Aubert L, Marutle A, Antoni G, Eriksson JP, Ghetti B, Okamura N, Nennesmo I, Gillberg PG, *Nordberg A. Visualization of regional tau deposits using ³H–THK5117 in Alzheimer brain tissue. *Acta Neuropathol Commun.* 2015; 3: 40.
8. ◎Li Y, (他 8 名), Furumoto S, Furukawa K, Arai H, Kudo Y, Okamura N, *de Leon MJ. Cortical laminar binding of PET amyloid and tau tracers in Alzheimer disease. *J Nucl Med.* 2015; 56: 270–273.

<公募>

1. Makino A, Arai T, Hirata M, Ono M, Ohmomo Y, Saji H. Development of novel PET probes targeting phosphatidylinositol 3–kinase (PI3K) in tumors. *Nucl Med Biol.* 2016;43(1):101–107.
2. Kimura H, (他 5 名), Ono M, Saj H. Development of ^{99m}Tc–labeled Asymmetric Urea Derivatives that Target Prostate–Specific Membrane Antigen for Single–photon Emission Computed Tomography Imaging. *Bioorg. Med. Chem.* 2016;24(10):2251–2256.
3. ◎Kadowaki S*, Enomoto H., Murakami T, Nakatani–Enomoto S., Kobayashi S., Ugawa Y. Influence of phasic muscle contraction upon the quadripulse stimulation (QPS) aftereffects. *Clin Neurophysiol* 2016; 127: 1568–1573.
4. ▲Ando K*, (他4名), Iijima KM. Stabilization of microtubule–unbound tau via tau phosphorylation at Ser262/356 by Par–1/MARK contributes to augmentation of AD–related phosphorylation and Aβ 42–induced tau toxicity. *PLoS Genetics* 2016;12:e1005917.
5. Furukawa Y, Suzuki Y., Fukuoka M., Nagasawa K., Nakagome K., Shimizu H., Mukaiyama A., Akiyama S. A molecular mechanism realizing sequence–specific recognition of nucleic acids by TDP–43. *Sci. Rep.* 2016;6:20576.
6. Freyermuth F, (他 16 名), Nukina N, (他 25 名). Splicing misregulation of SCN5A contributes to cardiac–conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy. *Nat Commun.* 2016;7:11067.
7. *Klionsky DJ et al. “Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition).” *Autophagy.* 2016;12:1–222.
8. Choong CJ, Sasaaki T, Hayakawa H, Yasuda T, Baba K, Hirata Y, Uesato S, Mochizuki H*. A novel histone deacetylase 1 and 2 isoform–specific inhibitor alleviates experimental Parkinson’s disease. *Neurobiol Aging.* 2016;37:103–16.
9. Iikuni S, Ono M, Watanabe H, Matsumura K, Yoshimura M, Kimura H, Ishibashi–Ueda H, Okamoto Y, Ihara M, Saji H. Imaging of Cerebral Amyloid Angiopathy with Bivalent ^{99m}Tc–Hydroxamate Complexes. *Sci. Rep.*, in press.
10. ◎Fuchigami T, (他 8 名), Ono M, Yoshida S, Nishida N, Nakayama M. Characterisation of radioiodinated flavonoid derivatives for SPECT imaging of cerebral prion deposits. *Sci. Rep.* 2015;5:18440.
11. ◎Murakami T, Kell C., Restle J., Ugawa Y., Ziemann U.* Left dorsal speech stream components and their contribution to phonological processing. *J Neurosci* 2015; 35: 1411–1422.

A02–1

1. Takasug T, Minegishi S, Asada A, Saito, T, Kawahara H, Hisanaga S. Two degradation pathways of the p35 Cdk5 activation subunit, dependent and independent of ubiquitination. *J. Biol. Chem.* 2016;291:4649–4657.
2. ▲Kimura T, Hatsuta H, (他 6 名), Hisanaga S. The abundance of nonphosphorylated tau in mouse and human tauopathy brains revealed by the use of Phos–tag method. *Am. J. Pathol.* 2016;186:398–409.
3. ▲Ohta E, (他 9 名), Takashima A, (他 8 名), I2020T mutant LRRK2 iPSC–derived neurons in the Sagamiara family exhibit increased Tau phosphorylation through the AKT/GSK–3β signaling pathway. *Hum Mol Genet.* 2015;24(17):4879–900.
4. ▲Xie C, Soeda Y, Shinzaki Y, In Y, Tomoo K, Ihara Y, Miyasaka T. Identification of key amino acids responsible for the distinct aggregation properties of microtubule–associated protein 2 and tau. *J Neurochem.* 2015;135(1):19–26.
5. ▲Yagishita S, (他4名), Takashima A. Glycogen Synthase Kinase–3β –mediated Phosphorylation in the most C–terminal region of protein interacting with C kinase 1 (PICK1) regulates the binding of PICK1 to glutamate receptor subunit GluA2. *J Biol Chem.* 2015;290:29438–48.
6. ▲Soeda Y, (他 14 名), Takashima A. Toxic tau oligomer formation blocked by capping of cysteine residues with 1,2–dihydroxybenzene groups. *Nat Commun.* 2015;6:10216.

7. Sotiropoulos I, Silva J, Kimura T, Rodrigues AJ, Costa P, Almeida OF, Sousa N, Takashima A. Female hippocampus vulnerability to environmental stress as precipitating factor in tau aggregation pathology. *J Alzheimers Dis*. 2015;43(3):763–74.
8. Foyez T, Takeda-Uchimura, Y, Ishigaki S, (他5名). Microglial Keratan Sulfate Epitope Elicits in Central Nervous Tissues of Transgenic Model Mice and Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Am J Pathol* 2015;185:3053–65.
9. Takahashi M, Miyata H, Kametani F, Nonaka T, Akiyama H, Hisanaga S, Hasegawa M. Extracellular association of APP and tau fibrils induces intracellular aggregate formation of tau. *Acta Neuropathol*.2015;129:893–907.
10. Umeda T, Maekawa S, Kimura T, Takashima A, Tomiyama T, Mori H. Neurofibrillary tangle formation by introducing wild-type human tau into APP transgenic mice. *Acta Neuropathol*. 2014;127:685–98.
11. Furusawa K, Asada A, Saito T, Hisanaga S. The effect of Cyclin-dependent kinase 5 on voltage-dependent calcium channels in PC12 cells varies according to channel type and cell differentiation state. *J. Neurochem*. 2014;130: 498–506.
12. Takano T, Urushibara T, Yoshioka N. Saito T. Fukuda M, Tomomura M, Hisanaga S. LMTK1 regulates dendritic formation by regulating movement of Rab11A-positive endosomes. *Mol Biol Cell*. 2014;25:1755–68.

A02-2

1. Minikel EV, Kitamoto T, (他59名); Exome Aggregation Consortium (ExAC), Daly MJ, MacArthur DG. Quantifying prion disease penetrance using large population control cohorts. *Sci Transl Med*. 2016;8:322ra9.
2. ▲Kobayashi A, (他10名), * Kitamoto T. Sporadic Creutzfeldt–Jakob Disease MM1+2C and MM1 are Identical in Transmission Properties. *Brain Pathol*. 2016;26:95–101.
3. Shimonaka S, Nonaka T, Suzuki G, Hisanaga SI, Hasegawa M. Templated aggregation of TDP-43 by seeding with TDP-43 peptide fibrils. *J Biol Chem*. 2016;291:8896–907.
4. Behrouzi R, (他16名), Hasegawa M. Pathological tau deposition in Motor Neurone Disease and frontotemporal lobar degeneration associated with TDP-43 proteinopathy. *Acta Neuropathol Commun*. 2016;4:33.
5. Tanaka Y, (他3名), * Hasegawa M. Gain-of-function profilin 1 mutations linked to familial amyotrophic lateral sclerosis cause seed-dependent intracellular TDP-43 aggregation. *Hum Mol Genet*. 2016;25:1420–33.
6. Taniguchi-Watanabe S, (他13名), * Hasegawa M. Biochemical classification of tauopathies by immunoblot, protein sequence and mass spectrometric analyses of sarkosyl-insoluble and trypsin-resistant tau. *Acta Neuropathol*. 2016;131: 267–80.
7. Tan R, (他7名), Hasegawa M.Cellebeller neuronal loss in ALS cases with ATXN2 intermediate repeat expansions. *Ann Neurol* 2016 in press.
8. Kimura T, (他7名), Hasegawa M. The abundance of nonphosphorylated tau in mouse and human tauopathy brains revealed by the use of Phos-tag method. *Am J Pathol*. 2016;186: 398–409.
9. ▲Kobayashi A, (他7名), * Kitamoto T. The influence of PRNP polymorphisms on human prion disease susceptibility: an update. *Acta Neuropathol*. 2015;130:159–70.
10. Kobayashi A, (他7名), * Kitamoto T. Transmission properties of atypical Creutzfeldt–Jakob disease: a clue to disease etiology? *J Virol*. 2015;89:3939–46.
11. * Nagata E, (他9名), Hasegawa M, Takizawa S. Inositol hexakisphosphate kinase 2 promotes cell death in cells with cytoplasmic TDP-43 aggregation. *Mol Neurobiol* 2015. [Epub ahead of print]
12. ▲Takahashi M, (他5名), * Hasegawa M. Extracellular association of APP and tau fibrils induces intracellular aggregate formation of tau. *Acta Neuropathol*. 2015;29: 895– 907.
13. * Hosokawa M, (他5名), Hasegawa M, Akiyama H. (2015) Progranulin Reduction is associated with increased tau phosphorylation in P301L tau transgenic mice. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2015;74:158–65.
14. Davidson YS, (他13名), Hasegawa M. Brain distribution of dipeptide repeat proteins in frontotemporal lobar degeneration and motor neurone disease associated with expansions in C9ORF72. *Acta Neuropathol Commun*.2014;2:70.
15. * Hasegawa M, Watanabe S, Kondo H, Akiyama H, Mann DM, Saito Y, Murayama S. 3R and 4R tau isoforms in paired helical filaments in Alzheimer’s disease. *Acta Neuropathol*.2014;127(2):303–5.
16. * Kawakami I, Hasegawa M, (他10名). Tau accumulation in the nucleus accumbens in tangle-predominant dementia. *Acta Neuropathol Commun*. 2014;2(1):40
17. Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Hosokawa M, Kubo M, Shimozawa A, Akiyama H, * Hasegawa M. (2014) Pathological alpha-synuclein propagates through neural networks. *Acta Neuropathol Commun*. 2014;2:88.
18. Yamashita M, Nonaka T, Hirai S, Miwa A, Okado H, Arai T, Hosokawa M, Akiyama H, * Hasegawa M. Distinct pathways leading to TDP-43-induced cellular dysfunctions. *Hum Mol Genet*. 2014;24(5):344–349.

A02-3

1. ▲◎Koyama A, (他 11 名), Kakita A, Onodera O. Increased cytoplasmic TARDBP mRNA in affected spinal motor neurons in ALS caused by abnormal autoregulation of TDP-43. *Nuc. Acids.Res*. in press.
2. Nozaki H, (他 25 名), *Onodera O. Distinct molecular mechanisms of HTRA1 mutants in manifesting heterozygotes with CARASIL. *Neurology*. 2016 Apr 27 [Epub ahead of print].
3. Nozaki H, (他 9 名), *Onodera O. Characteristic features and progression of abnormalities on MRI for CARASIL. *Neurology*. 2015;85:459–63.
4. Tamiya G, (他 14 名), Onodera O, *Hayasaka K. A mutation of COX6A1 causes a recessive axonal or mixed form of

<公募>

1. ©Kikuchi A*, Okamura N*, (他 24 名), Aoki M. *In vivo* visualization of tau deposits in corticobasal syndrome by ¹⁸F–THK5351 PET. *Neurology* 2016, in press.
2. ▲Oshima R, Hasegawa T*, (他 10 名), Aoki M., Tanaka N. ESCRT-0 dysfunction compromises autophagic degradation of protein aggregates and facilitates ER stress-mediated neurodegeneration via apoptotic and necroptotic pathways. *Sci Rep.* 2016;6:24997.
3. ©Ichianagi N, Fujimori K, Yano M*, (他 14 名), Aoki M., Okano H*. *Stem Cell Rep.*2016;6(4):496–510.
4. ©Furukawa Y.(他 7 名). A molecular mechanism realizing sequence-specific recognition of nucleic acids by TDP-43. *Sci. Rep.*2016;6:20576.
5. Furukawa Y., (他 8 名). Conformational Disorder of the Most Immature Cu,Zn-Superoxide Dismutase Leading to Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J. Biol. Chem.*2016;291:4144–55.
6. Freyermuth F, (他 40 名), Nukina N. Splicing misregulation of SCN5A contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy. *Nat Commun.* 2016;7:11067.
7. ▲Matsumoto G., Shimogori T, Hattori N, Nukina N. TBK1 controls autophagosomal engulfment of polyubiquitinated mitochondria through p62/SQSTM1 phosphorylation. *Hum Mol Genet.*2015;24:4429–42.
8. ©Ohta E., Okada Y., (他15名), Mochizuki H., Okano H. I2020T mutant LRRK2 iPSC-derived neurons in the Sagamihara family exhibit increased Tau phosphorylation through the AKT/GSK-3β signaling pathway. *Hum. Mol. Genet.*2015;24:4879–900.
9. Kino Y, (他11名), *Nukina N. FUS/TLS deficiency causes behavioral and pathological abnormalities distinct from amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol Commun.* 2015;3:24.
10. Lovero KL, Fukata Y, Granger AJ, Fukata M., Nicoll RA. The LGI1-ADAM22 protein complex directs synapse maturation through regulation of PSD-95 function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015;112:E4129–37.
11. Suzuki M, Murakami T, Cheng J, Kano H, Fukata M., Fujimoto T. ELMOD2 is anchored to lipid droplets by palmitoylation and regulates ATGL recruitment. *Mol Biol Cell.* 2015;26:2333–2342.
12. Zhu D, (他9名), Fukata M., Hall RA, Olson JJ, Neigh GN, Smith Y, Rainnie DG, Van Meir EG. BAI1 regulates spatial learning and synaptic plasticity in the hippocampus. *J Clin Invest.* 2015;125:1497–508.
13. Hiraoka Y, Matsuoka T, Ohno M., (他10名),* Nishi E. Critical roles of nardilysin in the maintenance of body temperature homeostasis. *Nat Commun.* 2014;5:3224.
14. *Hamada K., (他 7 名), *Mikoshiba K. Aberrant calcium signaling by transglutaminase-mediated posttranslational modification of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111: E3966–75.

A03-1

1. Fox RG, (他 17 名), Okano H., Kim Y, MacLeod AR, Lowy AM and Reya T: Image based identification and targeting of cancer stem cells in pancreatic adenocarcinoma. *Nature*, 2016. (in press)
2. Miyawaki S, (他 18 名), *Okano H. and *Miura K: Tumour resistance in induced pluripotent stem cells derived from naked mole-rats. *Nat Commun*, 2016. (in press)
3. Narumi S., Amano, S., Okano H., Miyake N, Hasegawa T. et al.: SAMD9 mutations cause a novel multisystem disorder (MIRAGE syndrome) and are associated with loss of chromosome 7. *Nat Genet.* 2016. (in press)
4. Bertolin AP, (他 8 名), Okano H., Srebrow A, Wappner P. Musashi mediates translational repression of the Drosophila hypoxia inducible factor. *Nucleic Acids Res.* 2016. [Epub ahead of print]
5. *Fujiiyoshi K, (他 15 名), Okano H. Application of q-Space Diffusion MRI for the Visualization of White Matter. *J Neurosci*2016;36(9):2796–808.
6. ▲*Ichianagi N., (他 17 名), Okano H. Establishment of In Vitro FUS-associated familial amyotrophic lateral sclerosis model using human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports.* 2016;6:496–510.
7. *Matsumoto T., (他 22 名), Okano H. Functional neurons generated from T cell-derived induced pluripotent stem cells for neurological disease modeling. *Stem Cell Reports.* 2016;6:422–35.
8. *Kawabata S., (他 15 名), Okano H. Grafted human iPSC cell-derived oligodendrocyte precursor cells contribute to robust remyelination of demyelinated axons after spinal cord injury. *Stem Cell Reports.* 2015;6:1–8.
9. ▲*Shimojo D., (他 11 名), Okano H., Okada Y. Rapid, efficient, and simple motor neuron differentiation from human pluripotent stem cells. *Mol Brain.* 2015;8:79.
10. ©Sato K, (他 7 名), Okano H., Sakakibara Y. Resequencing of the common marmoset genome improves genome assemblies and gene-coding sequence analysis. *Sci Rep.* 2015;5:16894.
11. *Imaizumi K., (他 5 名), Okano H. Controlling the regional identity of hPSC-derived neurons to uncover neuronal subtype specificity of neurological disease phenotypes. *Stem Cell Reports.* 2015;5:1010–22.
12. *Tsuyama J., Bunt J, Richards LJ, Iwanari H, Mochizuki Y, Hamakubo T, Shimazaki T, Okano H. MicroRNA-153 regulates the acquisition of gliogenic competence by neural stem cells. *Stem Cell Reports.* 2015;5:365–77.

13. Shiratori-Hayashi M, (他 9 名), Okano H, Furue M, Inoue K, Tsuda M. STAT3-dependent reactive astrogliosis in the spinal dorsal horn underlies chronic itch. *Nat Med*. 2015;21:927-31.
14. Belmonte JC, (他 12 名), Okano H, Reynolds JH, Ringach D, Sejnowski TJ, Silva AC, Strick PL, Wu J1, Zhang F. Brains, Genes, and Primates. *Neuron*. 2015;86:617-631.
15. Yamamoto-Hino M, Muraoka M, Kondo S, Ueda R, Okano H, Goto S. Dynamic regulation of innate immune responses in Drosophila by Senju-mediated glycosylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112:5809-14.
16. Tsuboi D, (他 13 名), Okano H, Mikoshiba K, Kaibuchi K. Disrupted-in-schizophrenia 1 regulates transport of ITPR1 mRNA for synaptic plasticity. *Nat Neurosci*. 2015;18:698-707.
17. *Hikishima K, (他 9 名), Okano H. Parkinson Disease: Diffusion MR Imaging to Detect Nigrostriatal Pathway Loss in a Marmoset Model Treated with 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Radiology*. 2015;275:430-7.
18. *Yamada I, (他 8 名), Okano H. Gastric Carcinoma: Ex Vivo MR Imaging at 7.0 T-Correlation with Histopathologic Findings. *Radiology*. 2015;275(3):841-8.
19. *Matsuzaki Y, Mabuchi Y, Okano H. Leptin Receptor Makes Its Mark on MSCs. *Cell Stem Cell*. 2014;15:112-4.
20. Murota Y, (他 6 名) Okano H, Siomi H, Siomi MC. Yb integrates piRNA intermediates and processing factors into perinuclear bodies to enhance piRISC assembly. *Cell Rep*. 2014;8:103-13.

A03-2

1. McCairn KW, (他 7 名), Minamimoto T, Takada M, Isoda M, Matsumoto M. A primary role for nucleus accumbens and related limbic network in vocal tics. *Neuron*. 2016;89:300-7.
2. Eldridge MAG, (他 6 名), Higuchi M, Minamimoto T, Richmond BJ. Chemogenetic disconnection of monkey orbitofrontal and rhinal cortex reversibly disrupts reward value. *Nat Neurosci*. 2016;19:37-9.
3. ▲Shimojo M, Higuchi M, Suhara T, Sahara N*. Imaging Multimodalities for Dissecting Alzheimer's Disease: Advanced Technologies of Positron Emission Tomography and Fluorescence Imaging. *Front Neurosci*. 2015;9:482.
4. Kimura Y*, Ichise M*, (他 9 名), Sahara N, Suhara T, Higuchi M. PET Quantification of Tau Pathology in Human Brain with 11C-PBB3. *J Nucl Med*. 2015;56:1359-65.
5. ▲Kizuka Y, *Kitazume S, (他 11 名), Yamaguchi Y, *Taniguchi N. An aberrant sugar modification of BACE1 blocks its lysosomal targeting in Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med*. 2015;7:175-89.
6. Xie L, (他 12 名), Higuchi M, Suhara T. Development of 1-N-(11)C-Methyl-L- and -d-Tryptophan for pharmacokinetic imaging of the immune checkpoint inhibitor 1-Methyl-Tryptophan. *Sci Reports*. 2015;5:16417.
7. Sahara N*, Murayama M, Higuchi M, Suhara T, Takashima A. Biochemical distribution of tau protein in synaptosomal fraction of transgenic mice expressing human P301L tau. *Fron Neurol*. 2014;5:26.
8. Sahara N*, Ren Y, Ward S, Binder L.I., Suhara T, Higuchi M. Tau oligomers as potential targets for early diagnosis of tauopathy. *J Alzheimers Dis*. 2014;40:S91-6.
9. Sahara N*, (他 7 名). Age-related decline on white matter integrity in a mouse model of tauopathy: an in vivo diffusion tensor magnetic resonance imaging study. *Neurobiol Aging*. 2014;35:1364-74.
10. Ren Y, (他 7 名), Sahara N*. Endogenous tau aggregates in oligodendrocytes of rTg4510 mice induced by human P301L tau. *J Alzheimers Dis*. 2014;38:589-600.
11. Hashimoto H, (他 16 名), Higuchi M, Zhang M-R. Radiosynthesis, Photoisomerization, Biodistribution, and Metabolite Analysis of 11C-PBB3 as a Clinically Useful PET Probe for Imaging of Tau Pathology. *J Nucl Med*. 2014;55:1532-38.
12. Ito H, (他 19 名), Higuchi M, Suhara T. Quantitative analysis of amyloid deposition in Alzheimer disease using PET and the radiotracer 11C-AZD2184. *J Nucl Med*. 2014;55:932-8.

<公募>

1. Miyawaki S, (他19名), Okada Y. Tumour resistance in induced pluripotent stem cells derived from naked mole-rats. *Nat Commun*. 2016 in press
2. ▲◎Ichiyanagi N, (他 16 名), Okada Y, Okano H. Establishment of in vitro FUS-associated Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Model Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports*. 2016 in press
3. Yoshida S, Yano T, Misawa Y, Sugimura Y, Igawa K, Shimizu S, Tomooka K, Hosoya T. Direct thioamination of arynes via reaction with sulfilimines and migratory N-Arylation. *J. Am. Chem. Soc*. 2015;137:14071-4.
4. ▲Araki K, (他 11 名), Mochizuki H. Synchrotron FTIR micro-spectroscopy for structural analysis of Lewy bodies in the brain of Parkinson's disease patients. *Sci Rep*. 2015;5:17625.
5. ◎Shimojo D, (他 11 名), *Okano H, *Okada Y. Rapid, efficient, and simple motor neuron differentiation from human pluripotent stem cells. *Mol Brain*. 2015;8:79.
6. ◎Nori S, Okada Y, (他 15 名). Long-term safety issues of iPSC-based cell therapy in a spinal cord injury model: oncogenic transformation with epithelial-mesenchymal transition. *Stem Cell Reports*. 2015;4:360-73.

以上、全て査読有

6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ以内）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

研究組織は、研究者相互に有機的連携が保たれ、研究が効率的に進められるものとなっている。また、計画研究と公募研究の調和が保たれている。我々のグループの構成を図に示す。

① 計画研究同士、計画研究と公募研究の連携

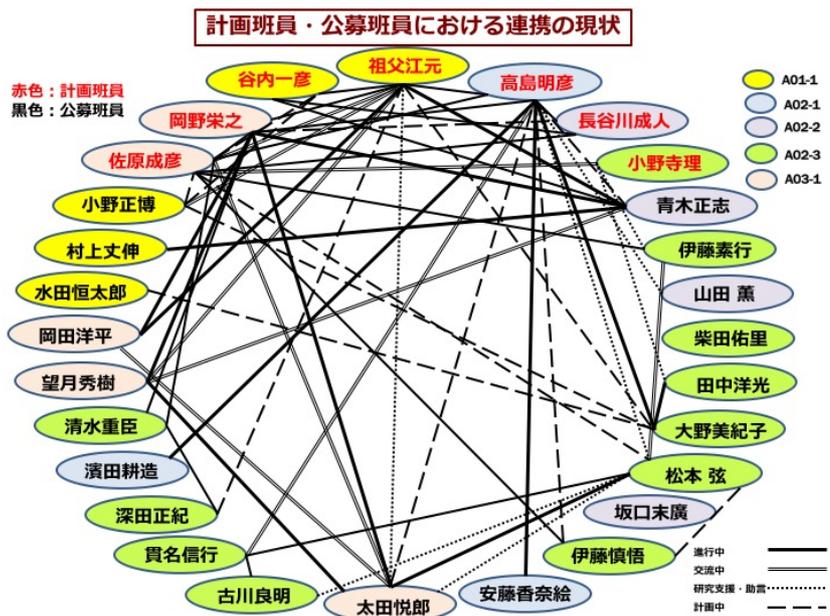
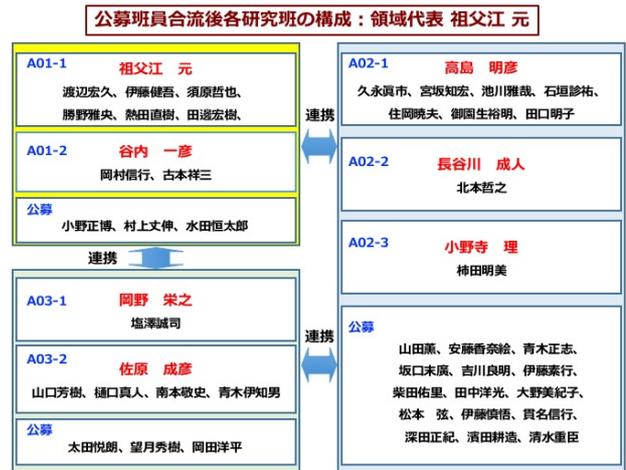
1) 祖父江: 領域発足と同時に、祖父江 (A01-1) は、タウタンパク質の可視化研究を推進するため、谷内 (A01-2)、佐原 (A03-1) と連携し、THK-5351 および PBB3 の導入を行った。THK-5351 の導入にあたっては、谷内 および谷内チームが名古屋大学に訪問し、様々な条件確認を行うとともに、合成テストを行った。また、PBB3 合成に際して出現した問題点についても、佐原チームとの緊密な連携でクリアされ、安定して撮像が出来るようになり、健常高齢者や初期認知症症例の撮像が順調に進められている。

また領域発足後より、祖父江 (A01-1) と石垣 (A02-1) は青木正志 (公募) との共同で FUS の機能喪失についての病態を明らかにした。また FUS KD iPS 細胞の解析を岡田洋平 (公募) と共同で進めることで FUS がヒト iPS 由来の神経細胞においてもタウの isoform の制御に関わることを見出した。さらに FUS KD および Tau KO マウスの解析を高島明彦 (A02-1) と共同で行い、FUS KD マウスモデルで見出したリン酸化タウの蓄積の機序について佐原成彦 (A03-1) と共同で解析を進めている。またタウ isoform の比率変化の病態機序について宮坂知宏 (A02-1) と共同で Tau knock-in マウスの解析を推進している。さらに祖父江 (A01-1) は SBMA で異常タンパク凝集を促すストレスシグナルの解析を岡田洋平 (公募) と共同で開始し、病態に関与するシグナル伝達経路を見出している。

祖父江 (A01-1) は、村上 (公募) と今後の共同研究への計画を進めている。小野 (公募) とは、新しい SPECT プロブの有用性をタウオパチー症例の脳組織切片を使用して検討するとともに、臨床研究を展開していく計画を立てている。線虫モデルを用いた α シヌクレイン伝播研究を望月 (公募) と進めている。

2) 谷内: TDP-43 プロブの開発は、世界的にも成功していないが、谷内 (A01-2) は、長谷川 (成) (A02-2) に THK-5351 や BF-227 の開発につながったライブラリー化合物を提供し、 α シヌクレイン、TDP-43 を特異的に認識する低分子化合物の探索を進めることで新規 probe 開発と凝集阻害効果の分子探索を実施中である。青木 (公募) とタウオパチーのタウ PET イメージングに関して共同研究が進行している。また同グループと多系統萎縮症に対する α シヌクレイン PET イメージング (BF227) による進行評価も実施している。

3) 高島: 高島 (A02-1) らのグループは、領域班内でタウアイソフォーム特異的抗体を共同作製し、力価の高いモノクローナル抗体を樹立した。これらの抗体は、名古屋大学、慶応大学、同志社大学、首都大学東京、放医研、東京都医学総合研究所、伊藤 (慎) (公募)、安藤 (公募) などにおいて幅広く



活用されており、タウのタンパク質老化と毒性機序について共同研究を推進している。太田(公募)とは老化神経細胞モデルにおける Tau の動態解析で研究協力をしている。久永(A02-1)は、タウオパチー患者髄液を用いた phos-Tag PAGE 解析研究を青木・長谷川(隆)(公募)と解析をする計画を立て、大野とは M16 メタロプロテアーゼのアルツハイマー病における意義解明について研究協力を進めている。宮坂(A02-1)、久永(A02-1)は、貫名(公募)と研究の情報交換を行っている。

4) 長谷川(成):長谷川(成)(A02-2)は、久永(A02-1)らとタウの生化学解析の共同研究を推進しており、岡野(A03-1)と霊長類モデルにおける α シヌクレインの伝播について研究計画中である。

5) 小野寺:小野寺(A02-3)は、核酸代謝の乱れからみたタンパク質の老化基盤とその排除機構について、長谷川(成)(A02-2)と共同研究を推進している。また伊藤(素)(公募)の行っている CADASIL 型 Notch3 タンパク質の老化と毒性機序の解明において助言を行っている。

6) 岡野:岡野(A03-1)は、脳タンパク質老化マーマセットモデルの生体イメージング解析を佐原(A03-2)との共同研究で推進している。青木・長谷川(隆)(公募)とは、患者由来 iPS 細胞を用いた家族性 ALS (FUS 変異)の病態研究を推進している。また、望月(公募)とは、パーキンソン病マーマセットモデルの研究を推進しており、松本(公募)とは老化神経細胞の評価を、岡田(公募)とは、患者 iPS 細胞由来ニューロンにおける異常タンパク凝集を促すストレスシグナルの解析を、それぞれ進めている。

7) 佐原:佐原(A03-2)は、動物を対象としたマルチモーダルイメージングが可能である施設の特徴を最大限に発揮し、リン酸化タウを標的とした新規バイオマーカーの探索を久永(A02-1)、タウオパチーマウスモデルのイメージングマスの解析による新規脳老化因子の同定を池川(A02-1)、タンパク質凝集評価システムを用いたバイオマーカー開発を長谷川(成)(A02-2 計画研究代表者)、CADASIL ゼブラフィッシュモデルの脳イメージング解析を伊藤(泰)(公募)と連携研究を推進している。また、脳小血管病マウスモデルの血流イメージング解析を小野寺(A02-3)、LRRK2 変異をもつ家族性 PD 患者のタウ PET イメージングを太田(公募)、核磁気共鳴スペクトロメトリーによる神経変性疾患治療開発基盤の確立を渡辺(A01-1)と交流中である。さらに選択的オートファジー主要蛋白 p62 を標的とした治療開発を松本(公募)と、新規オートファジー誘導化合物をタウマウスに投与した時の有効性評価について清水重臣(公募)と共同研究を打ち合せ中である。

② 公募研究同士の連携

領域発足後に開催された班員会議、リトリート、国際シンポジウムなどを通じて、公募研究班員同士の共同研究が急速に進展している。

iPS 由来 α -syn 蛋白の伝播研究は、望月(公募)が太田(公募)と連携して推進しており、M16 メタロプロテアーゼのアルツハイマー病における意義解明についての研究は、大野(公募)は田中(公募)と協力して推進し、画像解析研究について小野(公募)、水田(公募)との連携も計画している。認知症における大脳皮質可塑性障害のメカニズムの解明は、村上(公募)が、青木(公募)の協力を得て研究が進行中である。LRRK2 遺伝子変異患者から樹立した iPS 細胞の研究は、太田(公募)が松本(公募)と協力し、岡田(公募)と交流しながら推進している。小胞体ストレスの新しいアロステリック阻害メカニズムは、濱田(公募)が貫名(公募)と連携して研究を進めた。脳タンパク質老化の伝播性と感染症を検証する線虫モデルの確立は、古川(公募)が、貫名(公募)と連携して研究を推進しており、松本(公募)から研究の助言も受けている。松本(公募)は、マイトファジーにおいて異常ミトコンドリアがオートファゴソームに取り込まれる際の分子機構を貫名(公募)と明らかにした。さらに、古川(公募)とは生化学的解析で、太田(公募)とは老化神経細胞の評価で、伊藤(慎)(公募)とは老化神経細胞のプロテオミクスで、それぞれ研究協力している。

深田(公募)は、LGI1-ADAM22 を標的とした drug screening に関する助言を清水(公募)に依頼している。また、青木・長谷川(隆)(公募)は全反射顕微鏡を用いたシナプス構造可視化を田中(公募)から支援と助言を受けている。伊藤(素)(公募)は、松本(公募)と研究に関する情報を交換している。坂口(公募)は、プリオン病ではポストゴルジ小胞輸送が障害され、この障害が神経細胞死に関与する可能性を指摘しているが、ポストゴルジ小胞輸送が共通の病態としてその他の神経変性疾患でもみられるのか明らかにするため、祖父江(A01-1)との連携を検討している。

7. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ以内）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

本領域は、脳タンパク質老化と認知症にかかわる臨床研究と基礎研究が融合することで、分子レベルからヒトのレベルまでシームレスな解析を可能とする新規研究領域である。このため、基礎から臨床までの道程を視野に入れ、分子イメージング、ハイスループット情報解析をはじめとする多様なテクノロジーを駆使してタンパク質老化研究を推進できる若手研究者の育成が極めて重要である。そこで、① 公募では若手枠を設け、② 若手の発表機会を作りつつ交流を活発化するとともに、③ 研究を推進させるための教育プロジェクトを打ち出すことで、脳研究に貢献し、多様な将来像を描ける人材の育成を図り、④ 国際化を推進し、次世代を背負う国際的な研究者創出を促し、⑤必要な研究リソースを提供していくことを目的とした。

① **公募研究若手枠**:若手研究、開拓的・萌芽的研究を積極的に採択した。21 人中 8 人は 39 歳以下であった後半には、若手研究者追加公募も予定している。

② **若手発表・交流機会創出**:前半で採用された若手研究者については、他の研究者との交流を促すため、研究成果の発表・研究者間交流の場として年間 2 回班員会議を実施した。計画班員に加えて公募班員全員が口演するとともに、公募班員はポスター発表も併せて行うこととした。ポスター発表を行うことで、直接的な交流の機会を積極的に増やし、領域内の共同研究を促進につながっている。



③ **教育プロジェクト**:これまでにリトリートを 2 回実施した。第 1 回のリトリートでは、“分子・動物・ヒトの一気通貫型研究を目指して”を総合テーマとし、1) 目で見て良く分るタンパク質老化を基盤とするヒト認知症の臨床、2) 一晩で理解出来る動物のイメージング update という 2 つのセッションを作り、それぞれ臨床と基礎の研究者にとって視野と交流を広げる場とした。第 2 回のリトリートでは、同じ総合テーマの下、みんなで考えるそれぞれの研究の次の一手として、基礎的な話題からヒトと動物の画像の話題までを取り入れたセッションを提供し、活発な意見交換が行われた。また、若手教育のレクチャーコースとして、脳イメージングに関する勉強会を複数開催し、最新の知識の提供を積極的に行った。

④ **国際化**:昨年度は、国際シンポジウムを行い、ポスター発表や意見交換の時間も設定し、海外の一流研究者との情報交換を図る場を提供した。また、本年度は、国際ワークショップを開催し、それぞれの分野における世界のトップランナーの前で多くの若手が発表出来る機会を提供する。さらに、若手研究者の国際学会での発表や国際共同研究を支援し、国際的競争力を有する研究者の育成を促した。国際的に通用する若手の育成および研究成果を海外に発信する為に、海外の研究室との共同研究、海外留学、海の学会での研究発表のための旅費も支援した。

⑤ **研究リソースの提供**:計画班員の有する技術、若手研究者が学べるワークショップやセミナー、若手研究者への技術支援、リソースなどを、下記のホームページにて pdf として公開しており、要望に応じてそれぞれのリソースも提供出来る体制を整備している (<http://www.protein-dementia.jp/>)。

今後も、若手にとって有益な機会を幅広く提供するとともに、若手の登用を積極的に行い、共同研究の場を作りやすくすることなどを通じて、本分野をリード出来る人材を育成する。

計画名	技術支援・リソース	窓口
A01-1 (相父江元)	安静時脳機能MRIや機能的MRIをはじめとする統計画像解析セミナー AAVを用いた部位特異的ノックダウンマウス作成ハンズオン	渡辺宏久
A01-2 (谷内一彦)	アミロイド・タウPETイメージング集中セミナー	岡村優行
A02-1 (高島明彦)	Mn-MRIを用いた行動課題中の脳活動測定 抗タウ抗体、抗MAP2抗体のシェア	高島明彦
A02-2 (長谷川成人) A02-3 (小野寺理)	疾患創検(主に神経変性疾患)やその疾患モデル(細胞、マウス等)の生化学、免疫組織学的解析に関する教育セミナー 技術指導として、タウやシヌクレインのリコンビナントタンパク質の精製法、線維化法、細胞内導入法、マウス脳への導入法などの技術支援。 患者脳(神経疾患などの創検)の生化学解析の技術支援。 リソースとして、タウ、αシヌクレイン、TDP-43の各種プラスミドや抗体の提案や提供	長谷川成人
A03-1 (岡野栄之)	iPS細胞の樹立および培養法の技術指導(受注でのiPS細胞作成は行いません)	塩澤誠司
A03-2 (佐原成彦)	小動物PET, MRIに関する教育セミナー 動物モデル研究の基礎と応用セミナー 共同研究契約を締結の上での共同研究(要相談)	佐原成彦

8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ以内）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

計画研究における研究費の使用状況

脳タンパク質老化と脳内神経回路の可視化は、本領域の重要なミッションである。タウイメージングをはじめとするタンパク質老化の可視化に使用する PET プローブ (THK5351、PBB3、PiB など) の合成、合成に必要な試薬、カラムなどは毎年購入する必要がある。また、脳内神経回路を可視化するための MRI 検査料、新規プローブ候補化合物の開発、その合成の外部委託にも費用を要する。画像から得られるビッグデータを解析するためのハイスペックな PC、目的に合致した最新のソフトウェアの購入も必須である。

化合物スクリーニング、分析に必要な実験器具、薬品、結合実験で使用する合成ペプチド、iPS 細胞の作成、培養、分化、培養細胞に遺伝子導入する諸試薬は各計画班で計上している。中でもヒト iPS 細胞の樹立及び培養は、他の細胞培養に比較して高コストである。また神経細胞分化においては低分子化合物及び成長因子、ホルモンなどが大量に必要となる。更に、解析においては酵素やキット類等が必要になる。また遺伝子解析の費用も相応に要する。このため、計画班によっては消耗品費の割合が比較的大きくならざるを得ない。

ヒトと動物の共通指標を作る事も本領域の大切なミッションである。実験動物 (マウス、ラット、マーモセット) は、組織学、生化学、分子生物学解析、体内分布試験、毒性試験などが必要であり、これらの繁殖維持、さらには研究の進捗により新たに動物モデルを作成し、これを解析するための購入予算、維持管理費を必要とする。さらに、適宜外部委託をする必要もある。特にマーモセットの維持には、マウスやラットに比べて大きな費用を要する。マーモセットモデルの作成とその病態を評価出来る画像設備を有する施設は、それぞれ限られているため、他の計画研究で作出されたトランスジェニックマーモセットなどを別の計画研究へ一時的に搬入・飼育するための費用も必要である。またタウ遺伝子欠失マウスは A02-1 計画班全体で使用している。

各研究計画およびそれぞれの研究内容において、専任であたる専門知識をもった人材を必要とする。近年は、非常に高い知識と技術を要する研究が増えており、例えば、ヒト iPS 細胞の樹立は、当研究室で既に技術が確立されているが重労働であるため、本研究プロジェクトにおけるヒト iPS 細胞の樹立及び解析に特化した専任の研究員の雇用が必要である。また、実験補助や資料の整理などに人件費は必須であり、MRI、PET 参加に対する謝金が施設基準に応じて適宜必要となる。

他の研究者との交流・情報交換を目的として、毎年国内及び国外で学会発表が活発に行われている。また、海外研究協力者との共同研究の進捗状況の情報交換・論文作成のための意見交換を行うため毎年複数回の海外出張が行われており、これらはいずれも研究を進展させる上で必須である。

総括班

東北大学、放射線医学研究所など新学術領域各計画班との共同研究を実施する脳機能画像イメージング研究用 PET 化合物合成のために、PET 研究用多目的合成システム並びにそれに付随する設備備品の購入を行った。既存臨床研究用 PET 化合物製造システムとは独立運用が可能で、かつ既存合成装置との化合物コンタミネーションを防止するため、下流製剤化プロセス機器を既存合成システムと兼用する上で必要となる上流合成プロセスを増設する設備で、安定して良好な結果が得られることが明らかとなり、共同研究へと発展させている。

初年度に当たる平成 26 年度中に班員会議を 2 回開催した。うち一回は東京で開催した公募研究者募集説明会を兼ねた。翌平成 27 年度は班員会議に加え、宿泊を伴うリトリートを開催し、新学術に関わる研究者間の交流を深めた。また同年、海外から 5 名の著名な研究者を迎え国際シンポジウムも開催し、領域内の国際化を図った。これら研究発表に関わる情報交換、共同研究の促進のために旅費を予算執行した。

総括班事務局でプログラムを円滑に遂行するために、専従の実験補佐員を雇用したため人件費を拠出した。会議開催時の補佐や各種連絡事務など、領域内の活動・交流を円滑に行うことを目的とした。

国際シンポジウムで海外から 5 名の講師を招聘したが、その研究発表に対し謝金を支出した。

年度終了時点で活動報告書を作成し、また年一回のニュースレターの作成に予算を執行した。ホームページの開設やその維持、文書印刷、文書発送、消耗品の購入、通信に関わる経費など、研究の促進並びに研究者間の交流のために予算を執行した。

以上、それぞれの計画研究、総括班において、各研究費項目の割合に極端な偏りは認めない。

9. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

① 理化学研究所脳科学総合研究センター発生神経生物研究チーム シニア・チームリーダー 御子柴克彦

「脳タンパク質老化と認知症制御」の研究班が祖父江元領域代表のもと発足して活発に活動を進めてきている。本班は1)脳タンパク質老化と神経回路破綻、2)脳タンパク質老化の分子基盤、3)脳タンパク質老化に対する治療法開発の3研究班から構成されている。各班に公募班員が加わっている。現在の研究班は基礎に力点を置いて生化学、神経化学を軸にしており、強力であり、且つ非常に着実な研究班であると云える。

これ迄に4回の会議が開催されている。第1回の班会議以外は全ての会議に参加してその進捗状況を把握している。2015年10月に国際シンポジウムが開催されて海外から多くの研究者が招聘されて海外からの多くの情報を得ている。2016年2月に第3回目の班員会議が名古屋で開催された。2016年6月に東京で班会議が開催され計画班員、公募班員が全員集合して活発なものとなった。このような頻繁に行われている班会議、リトリートにより、班員相互の連絡が強くとれはじめてきている。4回目の発表会の際は班員同士の情報交換がうまく行っているせいか、班員自身の目標もはっきりとしていて、それぞれの発表も問題点が明確化したかたちで班の目指しているものと一致していた。班員がはっきりとした問題意識をもって研究している様子が見えたとことは大変に喜ばしい事である。本班では新しい形での計画提案で参加している公募班員も多く採択されており、本研究班の研究の幅を広げている。

本研究班の強いところは、殆どの班員が生化学的、神経化学的な手法を用いて常に物質的な基盤を求めている事である。症候論や現象論によくみられる誤った論理展開などが排除されている。物質的な基盤の上に立つからこそ、そこで得られる結果を踏み台にして新しい分子との相互作用も含めて多くの多様領域の研究ともすぐにつながる事が出来るし、他の予想もしなかった現象もきちんと理解する事ができる。その意味で、新学術領域研究班の中では唯一の基礎研究を目指す班であり日本の研究を大きく発展させる意味でも本研究班の活動とその存続は重要である。

病態を把握し発症機序を解明する為に新しい発想が必要となっている。新しい概念に基づく、新しい発想に基づく解釈と理解の仕方が是非とも求められる。研究発表を聞いてみて、班員の中には画期的な発想で自説を立ち上げている発表もある。また1つの現象をとことん追求していくことにより、新しい研究の方向が見えてきている発表もあった。計画班員からの報告もこれ迄の成果に基づいた研究発表に加えてあえてユニークな発想で脳タンパク質の老化や認知症をとらえようとする発表を聞いて本班での最終的な成果が大変に楽しみである。これらはある意味で将来、世界をリードするものになるので現在進められている論文発表をきちんと行う事により日本発の発想をうまくきちんと世界に発信することが出来ると信じており、本班の果たす役割りが大きい。

本班の構成員は多様なメンバーで構成されており、班内での共同研究が進められており頼もしい。班員同士の相互対話が共同研究を進めるドライビングフォースになっている。

まだ本研究班は開始して2年程しか経過していないが、班長、班員の努力により着実に班としての体制を組みながら動いており熱気を感じる。予想外の多くの成果を上げて、しかもきちんとオリジナリティーを確保しつつ、世界に発信して行く事を確信している。

② 東京大学・大学院医学系研究科 水島 昇

本領域は、神経系を構成するタンパク質の生理機能の喪失および毒性・病原性の獲得のプロセスを「脳タンパク質老化」と定義し、それによる神経回路破綻の分子メカニズム解明、神経変性や認知症の発現メカニズムの解明、さらにはそれらの予防や治療の開発に寄与することを目指した研究プロジェクトである。

領域内では、『脳タンパク質老化と神経回路破綻(A01)』、『脳タンパク質老化の分子基盤(A02)』、『脳タンパク質老化に対する治療開発(A03)』の3つの研究グループが、分子レベルから個体レベルを対象に研究を行っている。計画班は国内外の研究をリードするメンバーで構成されており、公募班員も若手がバランス良く配置されている。

疾患オリエンティッドの研究を、分子メカニズムに軸足を置いて推進している点が本領域の特徴であり、中でも、PET を中心とする画像研究、動物モデル創出解析、タンパク質伝搬機構研究、タンパク質の変性・毒性獲得などの独創性の高い研究が進んでいる。領域内での有機的連携も図られており、班員間の共同研究も活発である。いくつかの具体例としては、分子イメージングでは、高齢健常者、早期認知症患者におけるタウの蓄積と、その蓄

積による神経回路破綻の可視化に成功しており、ヒトの認知症の病態理解が格段に進んでいる。タンパク質の伝播についても、タウやTDP-43に関する分子構造と伝搬の関係が明らかにされつつあり、プリオン伝搬との関連でも興味深いアナロジーが見られる。さらにマーマセツ、マウスなど動物モデルの開発・病態解析も進められており、領域形成への高いポテンシャルが示されている。一部にはより長い時間のかかる研究があるため、これから更なる進展が出てくることが期待される。本領域では、若手の人材育成も積極的であり、セミナーやリトリートなど、班の活動に若手研究者が参加しやすくなるような工夫がなされている。

また、国際的活動も積極的であり、班員が高い国際性を持って研究を推進しているとともに、昨年の国際シンポジウムには当該分野の世界トップレベルの研究者が参加して議論を重ねた。今後、国際支援班を通じて、さらなる国際化の高みへと持っていくことが期待される。今年の秋には若手育成も念頭に置いた国際ワークショップの開催も予定されている。

以上、領域代表のリーダーシップの元、本領域の活動は順調に推移していると考えられる。今後2年強で、脳タンパク質老化を引き起こすサイクルの解明、脳タンパク質老化が神経回路破綻を来す機序の解明、脳タンパク質老化がありながら症候を出さない機序の解明などが進むことが望まれる。本領域のように、疾患に焦点を置きながら基礎研究を推進するスタイルは貴重であり、疾患克服にむけた有意義な研究がさらに展開されることが期待される。

③ Arizona State University Paul Coleman

The concept of age-associated change in proteins and the ways in which these changed proteins function in the cell is a very important one. It is already known that certain age-associated changes in selected proteins take place in aging, but the full picture of what these changes may mean, what proteins are affected and the nature of these changes are all still very much unknown. The Project "Brain Protein Aging and Dementia Control" has been extremely productive and has produced important results. I will focus my comments on project A02, since this is an area of my particular expertise.

Project A02 focuses on tau, a critical molecule in the functioning of many cell types. In neurons it is especially critical in the maintenance of the microtubule network that provides the structural basis for transport of vital molecules between the cell body and peripheral cell structures – especially the synapse. It is important to note that Project 02 has discovered that there is increased activation in a crucial brain region, the hippocampus, in old mice and in mice that model Alzheimer's disease. Project 02 has then gone on to make the important observations that excitatory stimulation leads to increased expression of several specific proteins that associate with tau and its message. Although conventional thinking has been that post-translational phosphorylation of tau disrupts the microtubule network and, consequently the vital function of transport of molecules between the cell body and synaptic regions, Project 02 has discovered important alternative views of the role of tau in aging and disease. Project 02 then has gone on to show that the damaging hyperactivation that was found in old mice was eliminated in transgenic tau deficient mice, therefore and importantly establishing tau as a critical component in the damaging age-associated hyperactivation.

This is important work and it is suggested that future work be directed at determining the relationship between tau-dependent hippocampal hyper activation, tau accumulation, and neuronal death. This suggestion is certainly appropriate. This reviewer also suggests that the work of both Project 01, 02 and 03 could be enhanced by applying imaging methods to examine hyperactivation of specific brain regions in aged and AD model mice, as well as tau deficient mice. Imaging determination of brain activity in human brain in conjunction with visualization with tau PET ligand could be an important validation in the human brain of the results of Project 02.

In summary, Project 02 has uncovered a new mechanism to account for the brain deteriorations that take place in many aged brains and in Alzheimer's disease. Further study of the details of this new mechanism would probably lead to therapeutic interventions that would prevent the brain deficits of old age and of Alzheimer's disease.

10. 今後の研究領域の推進方策（2 ページ以内）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募研究での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

本領域で行う研究の目的は、正常に機能していたタンパク質が、ある時期から変質し、機能を失うあるいは神経細胞に対して毒性を持つようになり、神経細胞の機能障害、変性、伝播を介して、神経回路破綻を来し最終的には認知症に至る過程、すなわち脳タンパク質老化に基づく神経変性について、その分子基盤の解明を通じて認知症予防に結びつけるものである。これまで、A01、A02、A03の計画研究と、それに関係する公募班員がオリジナリティ溢れる研究を推進してきた。現在、コホート研究やマーモセット研究など非常に重要でありながら時間を要する研究をはじめ、各領域レベルの研究は順調に推移していることから、まずはそれぞれの研究をまとめ上げる作業が重要であると考えている。また、発足以降、急速に活性化している連携体制の強化も研究領域の推進に大変重要な役割を果たすと考えられる。本研究班は、評価委員からいただいたコメントにあるとおり、基礎と臨床が密接に絡み、班員が分子生物学的、生化学的、神経科学的な手法を用いて物質的な基盤の上に立った研究を進めていることが大きな特徴である。新規分子の新しい作用など多岐に渡る研究を通して多様な領域の研究が繋がりがやすく、また相互理解も容易であるという特徴を有する。こうした特徴を活かす本領域の推進方策について記述する。

① 正常から認知症に至るヒトでの脳タンパク質老化の過程の可視化を通じた認知症発症機序解明（A01）

A01 では、我が国発であるタウ PET が AD やタウオパチー病変の可視化に有用であることを示した。さらにアミロイドの沈着のみならず、病的タウタンパク質の蓄積があっても認知症を呈さない健常高齢者も存在することを示すとともに、機能的な脳内神経回路のダイナミックな結合性の変化が認知機能の維持に重要な役割を果たす可能性のあることを明らかにしつつある。また、タウタンパク質の蓄積分布の検討から、認知症の発症にかかわるハブとも呼ぶべき機能的な重要部位にタウが蓄積すると、関連する脳内神経回路破綻を来し、アルツハイマー病を発症することも示した。この2年間に大きく進んだタウ可視化による成果をオープンな報告を行ってきたい。

名古屋大学は健常高齢者の大規模脳内神経回路コホートも有しており、PET 所見との対比により、脳タンパク質老化が神経回路破綻を来す機序の解明をさらに推進していきたい。さらに、THK5351 のデータを名古屋大学、東北大学で、別のタウプローブである PBB3 のデータを名古屋大学と放医研でそれぞれ突合、比較するプロジェクトを推進するとともに、この4大拠点におけるタウイメージングデータを継続的かつ有機的に合わせることで、世界をリード出来る正常から認知症に至るヒト脳タンパク質老化過程の可視化コホートを生み出すことも目指す。これらのコホートは、 α シヌクレイン、TDP-43 プローブ、タウの改良プローブが作られた際の強固な研究基盤になることが期待される。一連のプロジェクトの推進により、脳タンパク質老化と脳内神経回路の前方向的变化、各種バイオリソースと脳タンパク質老化との関係、新規プローブ開発、タンパク質老化の早期病態の可視化、蓄積する病的タンパク質の可視化の感度と特異度向上を通じ、画期的バイオマーカーの開発を加速する。こうした成果を、A02 と A03 の細胞、動物レベルにおける研究と突合することにより、病態にせまる成果に繋げていきたい。

② 脳タンパク質老化のイニシエーション、その毒性獲得、伝播、老化タンパク質排除機構の解明（A02）

これまでの本領域の研究は、脳タンパク質老化の様々な病態を明らかにしつつある。まず、老化タンパク質で認める細胞、軸索、樹状突起内における局在や量の変化を調節する機序、さらに脳タンパク質のリン酸化が起きる機序、神経細胞死が起きる機序などがタウタンパク質とTDP-43を中心に大きく進んでいる。構造タンパク質の専門家が入ることで、機能的・構造的な相互作用があきらかになり、モノマーからオリゴマーそして繊維状構造へと構造が変化する際の細胞内制御過程、タンパク質老化により生じた物質の細胞毒性獲得機序の解明につながる成果も認めている。さらにAMPA型グルタミン酸受容体を介したシナプス伝達の制御機構研究も進んでいる。また老化タンパク質の排除機構についても、リソソーム・オートファジー経路、およびその機能制御に関与する小胞体輸送制御因子の機能障害の関与、平滑筋細胞の周皮細胞の変性が老化タンパク質の排除機構破綻と密接に関与している可能性がそれぞれ示されている。重要なミッションである老化タンパク質の伝播機構についても、タウとTDP-43を中心に、細胞外分泌プロセス、老化タンパク質とプリオンタンパク質の伝播機構の共通性などの病態

解明が大きく進んだ。

非常に興味深いことは、異なるタンパク質であっても、出てきている結果が相互にリンクしている点であり、認知症に係わる1つの脳タンパク質老化の病態研究の成果が、別の脳タンパク質老化の機序解明と密接に繋がっていることが明らかになってきた。これは、神経変性性認知症という疾患をベースとしながら基礎研究を進めるからこそ見えてきた老化タンパク質の有する共通性であり、本領域の大きな特徴であるとも言える。また、脳タンパク質老化は、健常な脳タンパク質をさらに老化させるが、この脳タンパク質老化を引き起こすサイクルの解明が大変重要なテーマであることも明らかになった。現在A02の領域内で展開されているそれぞれの研究を推進するとともに、それらの融合や共同研究を班員会議、ワークショップ、リトリートなどを通じて促進し、多様なメンバーで構成されている班内・班員同士の共同・連携を進めることで、A01とA03との連携を加速させ、次の研究の方向性を見出していきたい。

③ 脳タンパク質老化の治療法開発 (A03)

霊長類モデルを用いた治療開発の基盤整備は順調に推移しており、トランスジェニックマーマーモセット作出が進行している。革新的な早期診断バイオマーカーの探索、病態を抑制する化合物のスクリーニングを可能とするモデルになると期待される。この研究を推進出来る基盤として、放医研においてげっ歯類、霊長類、ヒトを対象に出来るマルチモーダルイメージング解析システムが構築されたことが非常に大きなメリットである。また、各種疾患のiPS細胞研究も精力的に推進されており、タンパク質老化の初期イニシエーションや毒性発揮などで重要な成果が期待出来る。これらがさらに個体動物モデルと有機的に突合することで、画期的な成果が得られるものと期待される。

本領域ではげっ歯類とマーマーモセットを対象にモデルを作成していることが特徴であり、別の計画研究や公募研究で見つかった早期病態をヒトにつながる形で応用しやすい利点を最大限に活かしていくことが重要と考えている。例えば、タンパク質の構造解析から分かってきた α シヌクレインからLewy小体の形成されるプロセスの検証や、ヒトで有用性が検証されたタウイメージングや脳内神経回路所見などの考え方を応用することにより、革新的な早期診断バイオマーカーの探索、細胞毒性・無毒化機序の解明研究へつながることが期待出来る。既に本領域の計画研究、公募研究は、放医研におけるマルチモーダルイメージングを用いた研究を進めているが、さらにA01、A02、ならびに公募研究者が密接な連携を進め、治療法の開発速度を加速させていく。

このように領域研究を推進する上での特筆すべき問題点を見出すことは現時点では出来ない。

④ 若手の育成と国際化推進

若手の育成は、項目7に記載した内容を、また国際化推進は、国際支援班に記載した内容を、総括班がサポートしながら、さらなる活性化を図っていく。例えば、目標達成に向け、不足していると考えている方法論(スキル)などを有する施設が海外にある場合、また方法論(スキル)を学ぶために海外研究者を招聘する場合に国際支援班を積極的に活用してもらいたい。領域内には、国外の研究者との連携を強力に進めている研究者が数多くいるため、それらの繋がりも大切に、若手の教育機会にも繋げていく。

⑤ 組織の強化

審査結果の所見において指摘を受けた事項として、タンパク質化学・構造生物学に精通した専門科を複数名入れるとともに、異常タンパク質の神経経路特異的伝播など、我が国の独創性の高い研究を特に重視・推進するために、研究者を重点的に配置するなど組織の強化を図った上で研究を推進してきている。これまでに述べてきたように、その成果は十分に上がりつつあり、各領域の連携も順調に進んでおり、若手同士の交流も増えている。これらの研究は、継続して長期間に渡って仕上げていく必要があることを考えると、むしろ、若手を積極的に加える事で、領域を活性化させるとともに、次の2年半の間に若手の成長を促し、この領域を2年半後も牽引するような人材へと育てていくことが、むしろ当該分野における我が国の研究の飛躍に繋がると思われる。当初予定していたように、また、このような領域形成に向けた考え方から、次の公募では若手の採用枠を積極的に増やすように考慮していきたい。