

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21636

研究課題名(和文) PETを機軸とするアルツハイマー病態カスケード診断法の確立

研究課題名(英文) Development of PET imaging diagnostics to assess pathological cascade in Alzheimer's disease

研究代表者

下條 雅文 (SHIMOJO, MASAFUMI)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部・研究員(任常)

研究者番号：20455348

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、アルツハイマー病の発症機序における神経機能障害の診断法確立を目的とし、認知症モデルマウス脳における代謝型グルタミン酸受容体5(mGluR5)の分子動態を蛍光生体イメージングとポジトロン断層撮影(PET)で評価する事を通じて、同受容体の画像診断バイオマーカーとしての有益性を検証した。その結果、蛍光生体イメージングによる同受容体を利用した病態評価は実現まで至らなかったものの、rTg4510系統モデルマウス脳におけるタウ病変依存的な神経機能障害をmGluR5プローブ[11C]ABP688によるPET撮像法で検出できる事が見出された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to develop potential imaging diagnostics utilizing dynamic of metabotropic glutamate receptor subtype 5 (mGluR5) for neuronal and synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. In vivo assessment of mGluR5 in the brains of rTg4510 tau transgenic mice by two photon microscope and positron emission tomography (PET) was conducted. Although there is still space to improve technical limitation by fluorescence imaging, PET analysis with [11C]ABP688, a highly specific radioactive probe against mGluR5, successfully detects alteration of mGluR5 metabolism related to tau neurotoxicity.

研究分野：神経科学

キーワード：PET 蛍光 診断法

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病発症機序において、中核病変である脳内タウ蓄積とその毒性が引き金となり神経炎症や細胞死を生じる一連の病態カスケードが提唱されており、その中でも神経機能障害(シナプス病変)を画像診断する事の重要性が注目されている。大脳皮質の興奮性シナプスにおいて重要な役割を担う代謝型グルタミン酸受容体 5(mGluR5)は、特異的プローブ ^{11}C]ABP688 により PET 撮像が可能であり、代表者らの薬理的な予備検討によると、ポストシナプス側でイオンチャネル型NMDAグルタミン酸受容体(iGluN)と機能連結し動的挙動を共にする事を示唆する PET 所見が得られている。従って、これら mGluR5 受容体の蛍光イメージングで詳細に解析し薬理的な作用などの裏付けを得る事で、同受容体の分子動態を指標としたシナプス病変の PET 画像診断が実現できると見込まれた。

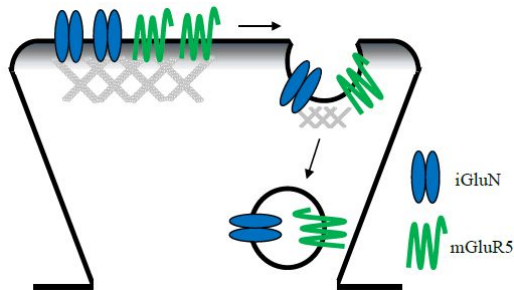


図1：ポストシナプスにおけるグルタミン酸受容体の動態

2. 研究の目的

本研究課題では、mGluR5 受容体と iGluN 受容体間の機能連結を蛍光生体イメージングと PET で評価し得る事を分子動態の裏付けを得ながら検証し、認知症モデルマウス脳におけるタウ病変とその毒性により生じる神経機能障害を検出する新しい画像診断マーカーとして有益かどうか明らかとする事を目的とした。

3. 研究の方法

(1) mGluR5 受容体動態の蛍光生体イメージング：マウス大脳皮質に蛍光蛋白質を融合した mGluR5 受容体蛋白質を発現させ、同受容体の膜輸送動態を介した表面提示量変化を検出可能な実験系の構築を試みた。また、mGluR5 受容体アゴニストである DHPG やグルタミン酸投与時に生じる同受容体の動態変化を検証すると共に、iGluN 受容体アンタゴニストである PCP 投与時に生じる mGluR5 表面提示量の変化を指標とし、mGluR5-iGluN 受容体間の機能連結も併せて定量評価を試みた。

(2) mGluR5 受容体動態の PET 評価：mGluR5 特異的プローブ ^{11}C]ABP688 を用いてマウス脳における PET 撮像法を確立した。また、PCP 投与時に生じる mGluR5 プローブ ^{11}C]ABP688 結合能の変化を指標として、mGluR5-iGluN 受容体間の機能連結の定量評価を試みた。

(3) rTg4510 マウス脳におけるシナプス病態解析：2ヶ月齢(タウ病変 - / 脳萎縮 -)、5ヶ月齢(タウ病変 + / 脳萎縮 -)、8ヶ月齢(タウ病変 + + / 脳萎縮 +)の rTg4510 系統タウ病変モデルマウスを使用し、麻酔下 PET 撮像時に Control 群と比較して ^{11}C]ABP688 結合能に相違があるか検証した。また、PCP 依存的な mGluR5-iGluN 受容体間の機能連結を指標とした定量解析も併せて検討し、タウ病変に応じて生じるシナプス機能異常を検出する画像診断バイオマーカーとしての意義を検討する。

4. 研究成果

(1) mGluR5 受容体動態の蛍光生体イメージング：pH 感受性の蛍光蛋白質 SEP を細胞外領域に融合した mGluR5 蛋白質を発現可能なウイルスベクターを構築し、神経細胞に遺伝子導入する事で受容体動態を蛍光イメージングにより評価した。初代培養神経細胞のライブセルイメージング解析によると、SEP-mGluR5 は細胞膜全体に渡って局在し、還流置換法による検討から~80%程度が細胞表面膜に局在する事が明らかとなった。また、高濃度 KCl や NMDA などによる神経細胞の賦活化や、PCP 投与などによる薬理的な操作に反応して生じる mGluR5 膜表面量の変化は微量であり有意な差は検出されなかった。

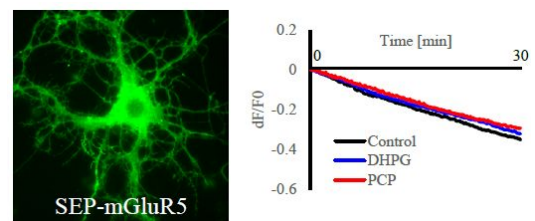


図2：初代培養神経細胞における SEP-mGluR5 局在と薬理的な操作に対する応答

上記の培養細胞の条件下では生体脳の受容体動態を完全に反映し切れない事が示唆された為、マウス大脳皮質の体性感覚野に Cranial Window を設置し、皮質 II/III 層錐体細胞に SEP-mGluR5 受容体を遺伝子導入にする事で二光子顕微鏡による蛍光生体イメージングを試みた。コントロール実験として実施した EGFP やカルシウム感受性蛍光蛋白質の遺伝子導入では発現が確認され、生体脳における

蛍光イメージング実験の実現が証明された。一方、受容体蛋白質のような巨大分子をアデノ随伴ウイルスで遺伝子導入する事は困難である事が判明し、代替案として他のウイルスベクターによる遺伝子導入なども検討はしてみたものの検出するのに十分な発現量を実現するまで至らなかった。遺伝子導入法の改善を引き続き検討しつつ、蛍光色素で同受容体を標識する方法も併せて開発を進めながら検証中である。

(2) mGluR5 受容体動態の PET 評価：

麻酔条件下の C57BL/6j マウスに mGluR5 特異的プローブ^[11C]ABP688 を尾静脈投与して PET 撮像を実施した結果、同受容体が高発現する大脳皮質、海馬、及び線条体領域において放射活性の集積が認められた。mGluR5KO マウス脳では上記プローブ集積は完全に消失し、覚醒条件下の PET 撮像において同様な所見が見出された事からも、同技術が mGluR5 特異的な非侵襲性イメージングとして有益である事が支持された。

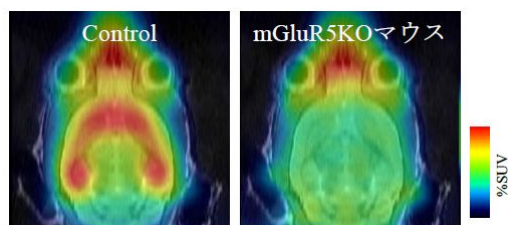


図3：マウス脳における mGluR5 特異的プローブ^[11C]ABP688 特性評価

また、iGluN アンタゴニストである PCP を PET 撮像前に投与するとプローブ結合能の低下が認められ、これは PCP の薬理作用により mGluR5-iGluN 受容体間の機能連結を介して両受容体が協調的に局在変化している事を示唆する所見と考えられた。

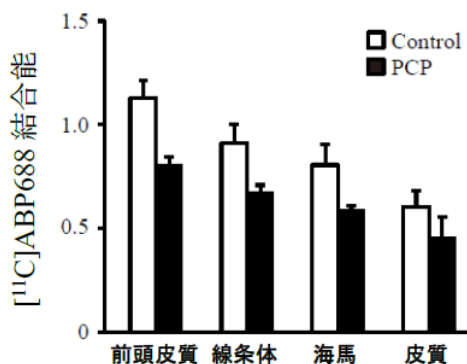


図4：PCP 投与による^[11C]ABP688 結合能低下

(3) rTg4510 マウス脳におけるシナプス病態解析：

進行性のタウ病変と付随した認知障害を生じる rTg4510 系統モデルマウスを利用し、病態進行度の程度が異なる月齢において、小脳を参照領域とした^[11C]ABP688 結合能の PET 定量解析を実施した結果、5ヶ月齢の rTg4510 マウス脳で前脳領域における^[11C]ABP688 結合能の有意な低下が見出された。同月齢の rTg4510 脳では、前脳におけるタウ病変 PET プローブ^[11C]PBB3 により検出される脳内タウ蓄積の亢進と脳体積の低下が生じる所見が得られており、mGluR5 を指標とした PET 撮像がタウ病変により生じる神経機能障害を検出する方法として有益である事が示唆された。また、若齢期の rTg4510 においては、線条体での^[11C]ABP688 結合能の低下や、炎症性ミクログリアマーカーである TSPO の亢進が生じている所見も見出されており、神経機能病態との因果関係を検証している。

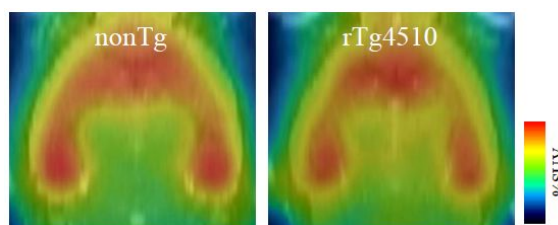


図5：rTg4510 系統タウ病変モデルマウス脳における^[11C]ABP688 所見

PCP 投与による mGluR5-iGluN 受容体間の機能連結評価を実施してみたところ、C57BL/6j で実施した際と比較して薬理学的作用による影響はある程度認められるものの、安定した結果が得られない事が判明した。mGluR5 受容体に関しては、最近になり遺伝子系統背景や雌雄差、日内変動の影響などの影響要因により発現量や PET プローブ結合能の変動が生じ得る事が報告されており、これらの懸念材料を考慮した測定条件を引き続き検討する必要がある。

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2件)

Sahara N, Shimojo M, Ono M, Takuwa H, Febo M, Higuchi M, Suhara T. (2017) In Vivo Tau Imaging for a Diagnostic Platform of Tauopathy Using the rTg4510 Mouse Line. Front Neurol.

8:663.

Ishikawa A, Tokunaga M, Maeda J, Minamihisamatsu T, Shimojo M, Takuwa H, Ono M, Ni R, Hirano S, Kuwabara S, Ji B, Zhang MR, Aoki I, Suhara T, Higuchi M, Sahara N. (2018) In Vivo Visualization of Tau Accumulation, Microglial Activation, and Brain Atrophy in a Mouse Model of Tauopathy rTg4510. J Alzheimers Dis. 61(3):1037-1052.

[学会発表](計2件)

Masafumi Shimojo, Masaki Tokunaga, Hiroyuki Takuwa, Yuhei Takado, Takeharu Minamihisamatsu, Ming-Rong Zhang, Tetsuya Suhara, Makoto Higuchi, Naruhiko Sahara “In vivo assessment of synaptic properties in rTg4510 tauopathy transgenic mouse model by positron emission tomography” Society for Neuroscience, San Diego, Nov 12-16 (2016)

Masafumi Shimojo “Multimodal imaging approach to dissect molecular and cellular mechanism of neuroscience” Invited seminar in Tokyo University, Tokyo, Aug 4 (2016)

[その他]

ホームページ等

<http://www.nirs.qst.go.jp/seika/brain/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下條 雅文 (SHIMOJO, Masafumi)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・脳機能イメージング研究部・研究員

研究者番号：20455348