

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07777

研究課題名(和文) 神経変性疾患の早期検出を可能とする画像診断バイオマーカー技術開発

研究課題名(英文) Development of imaging-based early diagnosis biomarkers of neurodegenerative disorders

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、アルツハイマー病の中核病変に位置付けられるタウ病変形成と神経炎症病態に着目し、モデル動物脳における1)タウ凝集病態、2)抑制性シナプス障害、そして3)炎症性アストロサイトを標的とした病態の早期検出に繋がる画像診断バイオマーカー技術開発に取り組んだ。一連の研究を通じて、タウ凝集の初期過程を画像検出し得るレポーターイメージング技術が創出されると共に、認知症モデル動物脳においてタウ病態に付随して生じる神経回路の興奮性/抑制性(E/I)バランス障害をPET画像検出し得る解析法が確立された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

回路E/Iバランスの破綻や神経炎症は幅広い神経精神疾患で観察される共通病態であり、こうした病態を生体イメージングにより画像描出しながら治療効果などを検証する事が可能となる事で、画期的な創薬研究に繋がる。レポーターイメージング法の更なる発展性を追求するとともに、炎症性アストロサイトの生体イメージング技術開発に引き続き取り組む事を通じて、より複雑な脳疾患病態メカニズム解明に向けた研究プラットフォーム構築が期待された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to establish new imaging biomarkers for early detection of 1) tau aggregation, 2) inhibitory synapse, and 3) reactive astrocyte in the pathogenic cascade of Alzheimer's disease. We found that our reporter imaging method enables us to monitor the early stage of tau aggregates. We also found that selective degeneration of inhibitory synapse with hyperexcitability in the cortical circuit is critical early pathophysiology of tauopathy. Taken together, our imaging-based approach can facilitate a broad range of PET assessments for a variety of neurological disorders.

研究分野：神経科学、病態神経科学、細胞生物学、分子生物学

キーワード：生体脳イメージング PET シナプス E/Iバランス 神経炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

老年性認知症の主因となるアルツハイマー病(Alzheimer's disease; AD)において、タウ蛋白質が凝集・沈着して形成される中核病変の毒性が引き金となりシナプス機能障害や神経炎症を生じる発症カスケードが提唱されている。これまで代表者らは、タウ病態を呈する認知症モデルマウスを用いた生体脳イメージング研究を通じて、同モデル動物脳においてタウ蓄積に付随した進行性の脳萎縮と神経炎症が生じる事、タウ病変形成と並行して大脳皮質の興奮性シナプス局在分子マーカーが低下する事、などを明らかとしてきた。従って、次なる目標として、(1) タウ凝集病態、(2)抑制性シナプス障害、そして(3)炎症性アストロサイトを標的とした画像診断バイオマーカー技術開発に取り組む事で、更なる早期検出を可能とする薬剤の創出へと繋がる事が見込まれた。

2. 研究の目的

本研究課題では、イメージングを基軸とした疾患モデル動物研究を通じて、タウ病態早期と関連する分子を可視化する技術の確立を目指した。具体的には、レポーターイメージング技術を活用したタウ凝集体形成の早期検出、抑制性シナプス局在分子を標的とした画像診断法の確立、炎症性アストロサイトを標的とした分子マーカー探索とその画像化技術、の実現を目指した。

3. 研究の方法

(1) タウ凝集体の早期検出

タウ病変が形成される機序において、タウ蛋白質は正常機能を持った単量体から二量体、多量体を経て最終的に線維状凝集体として脳内沈着する。そこで、タウ蛋白質の全長型や微小管結合ドメインに蛍光蛋白質などを融合したレポーター分子の発現を可能とするウイルスベクターを作製し、初代培養神経細胞やマウス大脳皮質に遺伝子導入する事を通じて、タウ凝集体形成の早期過程を画像描出できるか検証した。また、代表者らが独自開発したPETレポーターイメージング技術を活用し、タウ分子間の相互作用を画像検出できるかどうか検証した。

(2) 抑制性シナプスの画像マーカー開発

代表者らは、ヒトタウ変異型遺伝子を導入した rTg4510 系統トランスジェニックマウスを認知症モデル動物として活用し、進行性のタウ蓄積に付随して興奮性シナプス局在分子マーカー群の顕著な低下が生じる事を死後脳解析や生体脳イメージングを通じて明らかとしてきた。そこで、次なる対象として抑制性ニューロンやシナプスに着目し、同モデル動物脳においてタウ蓄積が生じる過程で抑制性分子マーカー群がどのように変遷するのか生化学や組織学的解析を通じて詳細に検討した。また、これら分子マーカーを標的とした生体脳イメージングが可能かどうか検討し、画像診断バイオマーカーとしての有用性を検証した。

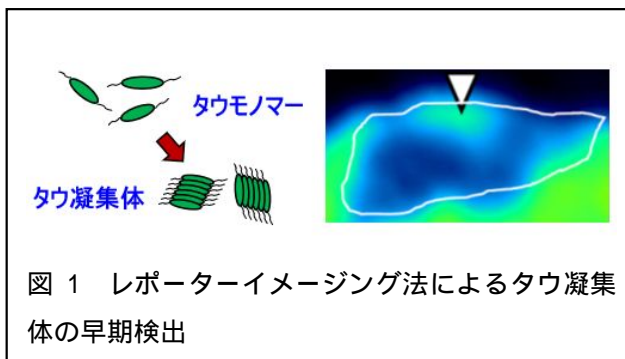
(3) 炎症性アストロサイトの画像化技術

神経炎症の重要な担い手である炎症性アストロサイトはタウ病態早期に活性化している事が明らかとされているが、同細胞を生体イメージングする手法は未だ十分に確立されていない。そこで第一段階では、rTg4510 系統モデルマウス脳における炎症性アストロサイト関連分子を標的とした生化学や組織学的な解析を試みた。第二段階では、アストロサイトの機能的変化を画像評価するため、カルシウムなど細胞内シグナルを指標とした生体イメージング技術の確立を試みた。

4. 研究成果

(1) タウ凝集体の早期検出

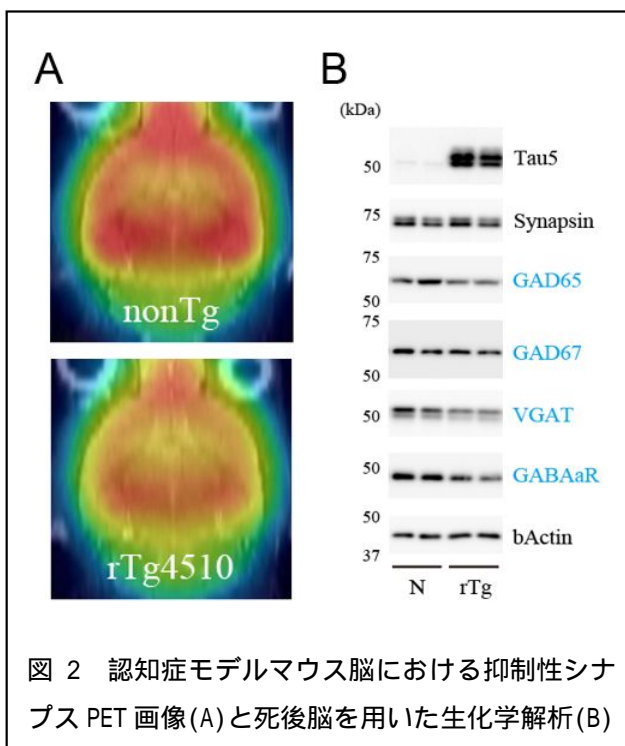
蛍光蛋白質を融合したタウ蛋白質発現ウイルスベクターを構築し、初代培養神経細胞やマウス大脳皮質の神経細胞に遺伝子導入する事で、同蛋白質の細胞内での動態を追跡可能な蛍光生体イメージングが実現された。しかしながら、同蛋白質を過剰発現させただけでは当初期待されたタウ凝集体や蓄積が認められず、発現量の亢進や凝集促進する変異の導入など更なる実験系の改良をする必要性が生じた。



一方、代表者らの確立したPETレポーターシステムを活用するとタウ凝集が生じる初期過程をPET画像検出する事が見いだされ、これは代表者らの所属する量研機構で以前に開発されたタウPETトレーサー $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ では検出し得ない早期病態である事が示唆されている(論文投稿中、図1)。また、改良型タウPETトレーサー $[^{18}\text{F}]\text{PM-PBB3}$ を用いたPETイメージング法の共同開発に成功し、マウス脳とヒト患者脳におけるタウ病態を従来よりも高感度・高コントラストに可視化できるPET薬剤として有用である事が見いだされた(Neuron 2021)。

(2) 抑制性シナプスの画像マーカー開発

タウ病変により生じる毒性が抑制性シナプスにどのような影響を及ぼすのか調べるため、2-8ヶ月齢のrTg4510マウス脳において、中枢性ベンゾジアゼピン受容体(GABA_A受容体)に対する $[^{11}\text{C}]\text{Flumazenil}$ トレーサーを用いてPET撮像を実施したところ、タウ蓄積の生じていない病態早期において同トレーサーの結合能が顕著に低下している事を見出した(図2A)。



この所見の裏付けを得るために、rTg4510マウス死後脳解析を通じて、タウ病態の進行度と抑制性シナプス分子群の経時的变化を調べたところ、タウ蓄積の生じていない病態早期において抑制性シナプス関連の蛋白質が選択的に低下している事、そして神経活動の指標となる最初期遺伝子cFOS蛋白質の発現亢進を生じている事などが見いだされた(図2B)。

これまで代表者らは、同モデル動物脳においてタウ蓄積に付随した大脳皮質の興奮性シナプス局在分子マーカーの加齢依存的な低下を見出しており、これら得られた所見を考慮すると、タウ病態早期において神経回路の興奮性と抑制性のバランスに破綻が生じており、こうした回路の機能異常を評価する画像診断バイオマーカーとして活用できる事が示唆された(J Neurosci 2020)。

(3) 炎症性アストロサイトの画像化技術

神経炎症病態で重要な役割を果たすアストロサイト関連マーカー分子群に着目し、rTg4510マウス脳におけるタウ病態の進行度に付随してどのような変化が生じるのか詳細に検討した。炎症性アストロサイトのマーカーとして一般に汎用されるGFAP蛋白質に関しては、rTg4510脳において若齢期より顕著に増加している様子が確認された(図3A)。また、生化学や組織学的手法を通じて、GFAP以外にも複数マーカー分子に関して病態進行に付随した蛋白質の変動が見いだされており、これら蛋白質を標的とした適切な化合物を用いる事で炎症性アストロサイトのPET薬剤開発に繋がる事が期待された。

一方、炎症性アストロサイトの形態変化や細胞内シグナル応答を生体イメージング評価するため、ウイルスベクターを用いた初代培養細胞やマウス大脳皮質への遺伝子導入にも着手した。現在までに、GFAPプロモーターとAAV血清型5を組み合わせる事でアストロサイト選択的に遺伝子導入する事が実現し、その細胞内カルシウム動態を画像解析する事に成功はした。一方、In vivo実験における発現量の低さが課題となり鮮明な画像が得られにくい事やカルシウム以外の指標に関しては解析が未だ困難である事も明らかとなり課題が残った。更なる技術的な検証を重ねながら、同細胞を標的とした画像評価法の開発と検証を引き続き検討中である(図3B)。

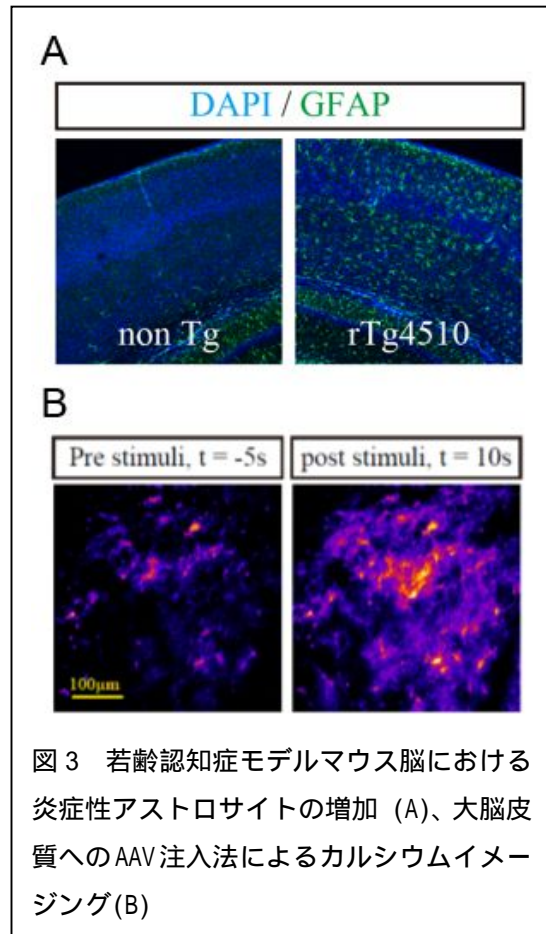


図3 若齢認知症モデルマウス脳における炎症性アストロサイトの増加 (A)、大脳皮質へのAAV注入法によるカルシウムイメージング(B)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Maeda Jun, Minamihisamatsu Takeharu, Shimojo Masafumi, Zhou Xiaoyun, Ono Maiko, Ishii Hideki, Ogawa Masanao, Akatsu Hiroyasu, Kaneda Daita, Hashizume Yoshio, Robinson John L, Lee Virginia M -Y, Saito Takashi, Saido Takaomi C, Trojanowski John Q, Zhang Ming-Rong, Sahara Tetsuya, Higuchi Makoto, Sahara Naruhiko	4. 巻 3
2. 論文標題 Distinct microglial response against Alzheimer's amyloid and tau pathologies characterized by P2Y12 receptor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Communications	6. 最初と最後の頁 fcab011
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/braincomms/fcab011	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 該当する

1. 著者名 Tagai Kenji, Ono Maiko, Kubota Manabu, Kitamura Soichiro, Takahata Keisuke, Seki Chie, Takado Yuhei, Shinotoh Hitoshi, Sano Yasunori, Matsuoka Kiwamu, Takuwa Hiroyuki, Shimojo Masafumi, Higuchi Makoto, Shimada Hitoshi	4. 巻 109
2. 論文標題 High-Contrast In Vivo Imaging of Tau Pathologies in Alzheimer 's and Non-Alzheimer 's Disease Tauopathies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 42 ~ 58.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuron.2020.09.042	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 該当する

1. 著者名 Nagai Yuji, Miyakawa Naohisa, Takuwa Hiroyuki, Horii Yukiko, Oyama Kei, Hirabayashi Toshiyuki, Fujimoto Atsushi, Mimura Koki, English Justin G., Liu Jing, Inoue Ken-ichi, Shimojo Masafumi, Higuchi Makoto, Roth Bryan L., Minamimoto Takafumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Deschloroclozapine, a potent and selective chemogenetic actuator enables rapid neuronal and behavioral modulations in mice and monkeys	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1157 ~ 1167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41593-020-0661-3	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 該当する

1. 著者名 Shimojo Masafumi, Takuwa Hiroyuki, Takado Yuhei, Tokunaga Masaki, Tsukamoto Satoshi, Minatohara Keiichiro, Ono Maiko, Seki Chie, Maeda Jun, Urushihata Takuya, Minamihisamatsu Takeharu, Aoki Ichio, Kawamura Kazunori, Zhang Ming-Rong, Sahara Tetsuya, Sahara Naruhiko, Higuchi Makoto	4. 巻 40
2. 論文標題 Selective Disruption of Inhibitory Synapses Leading to Neuronal Hyperexcitability at an Early Stage of Tau Pathogenesis in a Mouse Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 3491 ~ 3501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2880-19.2020	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 Shimojo Masafumi, Madara Joseph, Pankow Sandra, Liu Xinran, Yates John, Sudhof Thomas C., Maximov Anton	4. 巻 33
2. 論文標題 Synaptotagmin-11 mediates a vesicle trafficking pathway that is essential for development and synaptic plasticity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes & Development	6. 最初と最後の頁 365 ~ 376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/gad.320077.118	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 該当する

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Selective Disruption of Inhibitory Synapses Leading to Neuronal Hyperexcitability at an Early Stage of Tau Pathogenesis in a Mouse Model
3. 学会等名 Japan Society for Neurochemistry (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Selective Disruption of Inhibitory Synapses Leading to Neuronal Hyperexcitability at an Early Stage of Tau Pathogenesis in a Mouse Model
3. 学会等名 The Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Selective Disruption of Inhibitory Synapses Leading to Neuronal Hyperexcitability at an Early Stage of Tau Pathogenesis in a Mouse Model
3. 学会等名 FENS Forum2020 (Online) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Genetically encoded reporter for bimodal optical and PET imaging in the mammalian brain
3. 学会等名 UK-Japan Neuroscience Symposium
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Synaptotagmin-11 mediates a vesicle trafficking pathway that is essential for development and synaptic plasticity
3. 学会等名 SfN2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Genetically encoded reporter for bimodal optical and PET imaging in the mammalian brain
3. 学会等名 Resonance Bio International Symposium
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Synaptotagmin-11 is essential for long-term synaptic plasticity and spatial memory
3. 学会等名 Neuro2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Genetically encoded reporter for bimodal optical and PET imaging in the mammalian brain
3. 学会等名 Brain & Brain PET (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Genetically encoded reporter for bimodal optical and PET imaging in the mammalian brain
3. 学会等名 SfN2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 In vivo assessment of synaptic properties in rTg4510 tauopathy transgenic mouse model by positron emission tomography
3. 学会等名 第37回認知症学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Genetically encoded reporter for bimodal optical and PET imaging in the mammalian brain
3. 学会等名 第41回 日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masafumi Shimojo
2. 発表標題 Genetically encoded reporter for bimodal optical and PET imaging in the mammalian brain
3. 学会等名 FENS Forum2018 (国際学会)
4. 発表年 2018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
---------	---------