

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16493

研究課題名（和文）非ヒト霊長類モデルによるパーキンソン病の前駆症状（RBD）の解析

研究課題名（英文）The analysis of prodromal symptom (RBD) using non-human primate model.

研究代表者

澤村 正典 (Sawamura, Masanori)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60852423

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）：パーキンソン病（PD）の早期診断のマーカーとしてPDの前駆症状としてレム睡眠行動異常症（RBD）が注目されているが霊長類では報告がない。本研究課題ではマーモセットにワイヤレス脳波・筋電図測定を行うことでレム・ノンレムの同定に成功し、霊長類の長時間睡眠脳波の測定技術を確立した。さらに嗅球や消化管に $\alpha$ -Syn凝集体を接種することで、 $\alpha$ -Syn凝集体が脳内へと伝播する霊長類PDモデルの作製し、RBD様症状が出現することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで睡眠研究は主にげっ歯類を用いて行われてきた。しかしながらげっ歯類の睡眠パターンは夜行性・多相性睡眠であり、霊長類は昼行性・単相性睡眠であることから大きく異なる。このため霊長類での睡眠研究が必要と考えられるが、これまで報告は限定的だった。本研究課題では霊長類での長期睡眠脳波測定を実現した。さらにこの睡眠測定技術を用いて、PDで注目されているRBDの再現に成功した。これらは霊長類での睡眠研究の基礎技術となり、さらにPDの早期診断や病態解明にも役立つものである。

研究成果の概要（英文）：REM sleep behavior disorder (RBD) has attracted attention as a marker for early diagnosis of Parkinson's disease (PD) as a prodromal symptom of PD. However, there is limited reports about RBD in primates. In this research project, we succeeded in identifying REM and non-REM by wireless EEG and EMG measurements on marmosets, and established a technique for measuring long sleep EEG in primates. Furthermore, by inoculating  $\alpha$ -Syn aggregates into the olfactory bulb or gastrointestinal tract, we created a primate PD model in which  $\alpha$ -Syn aggregates propagate into the brain. Moreover, we found RBD-like symptoms occurred after the inoculation.

研究分野：パーキンソン病

キーワード：シヌクレイン 伝播 パーキンソン病 RBD 睡眠脳波

### 1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病 (PD) は約 1000 人に 1 人が罹患する頻度の高い運動障害を特徴とする神経変性疾患であり、病後期では認知症も合併することから介護者の負担も大きく、医療経済面からも早期診断、新規治療法の開発が望まれている。神経変性疾患は発症時点で異常タンパク質の蓄積と神経変性が不可逆的なまで進行していることから、早期の診断と治療介入が非常に重要である。我々は早期診断のマーカーとして PD の前駆症状として注目されているレム睡眠行動異常症 (RBD) に着目し、これまで我々が開発してきた霊長類 PD モデルを使用し RBD の詳細な回路機序や病態の解明を目指す。

### 2. 研究の目的

PD では嗅球、腸管-迷走神経系からレビー小体病理 ( $\alpha$ -Syn 凝集体) が進行すると考えられおり、マウスの嗅球や消化管への  $\alpha$ -Syn 凝集体を接種することで、嗅覚系や消化管-迷走神経系へのレビー小体様凝集体の伝播を再現できることが報告されていた。しかしながら、これまで霊長類では  $\alpha$ -Syn 凝集体の嗅覚系伝播経路や腸管迷走神経系伝播についてはほとんど報告がなく、モデルとしては確立されていなかった。そこで我々は霊長類であるマーモセットの嗅球や消化管に  $\alpha$ -Syn 凝集体を接種することで、よりヒト PD を模倣した PD モデルを作成し、このマーモセットモデルを用いて PD の前駆症状として注目されている RBD 症状について解析を行う。

### 3. 研究の方法

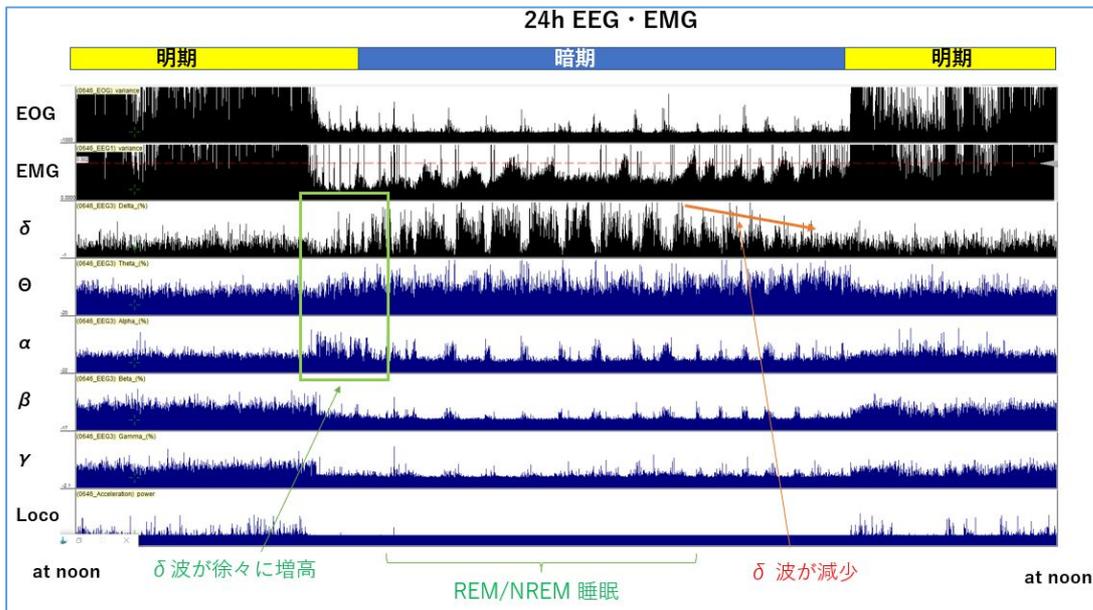
令和 2 年度にマーモセットの頭蓋電極留置を行い、脳波と行動の同時記録を行い睡眠時における REM 睡眠期の同定・ビデオモニタリングや運動センサーにより RBD の測定を行うための準備を行った。並行して令和 2 年度にはマーモセットの消化管に  $\alpha$ -Syn 凝集体を接種することで、PD 病理の伝播経路として推定されている嗅覚系・消化管-迷走神経系の二つの経路を再現したモデルマーモセットを作成する。令和 3-4 年には電極留置を行ったマーモセットへと、嗅球・消化管へと  $\alpha$ -Syn 凝集体を接種し、1 年後まで観察し前駆症状として注目されている RBD や睡眠障害、概日リズムの障害について解析した。

### 4. 研究成果

3 頭の成体マーモセットに対して、脳波、眼電図測定のため頭蓋骨の頭頂部・右眼窩の上面および側面に電極を留置した。筋電図電極は僧帽筋内へと挿入した (下図)。ワイヤレス脳波システム (emka technologies) を用いて脳波・眼電図・筋電図のデータを 24 時間連続測定した。脳波は Fast Fourier Transform (FFT 解析) により  $\delta$  波 (0.5-4 Hz)、 $\theta$  波 (4-8 Hz)、 $\alpha$  波 (8-13 Hz)、 $\beta$  波 (13-30 Hz) へ分類を行った。同時に脳波の波形については視察判定による解析も行った。



次頁図のように明期では覚醒しているため活発な筋電図活動が見られた。暗期になると筋電図は低下し、徐々に睡眠に入る様子が分かった。頭部に装着したワイヤレスシステムは、マーモセットの摂食・節水など一般的な行動にはほとんど影響が認められなかった。そして、脳波・眼電図・筋電図を使用することで rapid eye movement (REM)・Non-REM (NREM) 期の睡眠ステージ



の同定に成功し、マーモセットの明瞭な睡眠-覚醒の日内リズムが観察された。

夜間では 波 power の周期的な上昇を認め、筋電と眼電の低下が認められたことから、NREM 期の slow wave sleep (SWS) と同定した。また、SWS の後には 波 power が低下し、眼電の増大と共に筋電が消失する REM 期を同定した。REM 期では 波および 波 power の増大を認めた。脳波の視察判定においても、SWS 時に特徴的な ~ 波帯域の amplitude の高い波形が認められた。また REM 期では、既報告と同様の 波と 波帯域の amplitude の低い波形を認めた。これらの結果から、REM、NREM 期が交互に出現することが明らかとなり、マーモセットにおける睡眠脳波の測定を確立することに成功した。

さらに我々は -synuclein 凝集体を嗅球や消化管へと投与を試みた。嗅球投与群 (N=4)、消化管投与群 (N=1) では -synuclein 凝集体の投与後、RBD の電気生理学的マーカーである REM without atonia1 (RWA) の頻度が増加することを確かめた。

これらの結果より、我々は嗅覚系・消化管-迷走神経系のいずれにおいても、RBD が生じると 霊長類 PD モデルを用いて示した。以上の結果については 2024 年度 日本生理学会で発表を行った。現在、論文投稿に向けて準備中である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sawamura Masanori, Onoe Hirotsuka, Tsukada Hideo, Isa Kaoru, Yamakado Hodaka, Okuda Shinya, Ikuno Masashi, Hatanaka Yusuke, Murayama Shigeo, Uemura Norihito, Isa Tadashi, Takahashi Ryosuke	4. 巻 37
2. 論文標題 Lewy Body Disease Primate Model with Synuclein Propagation from the Olfactory Bulb	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Movement Disorders	6. 最初と最後の頁 2033 ~ 2044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds.29161	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 Sawamura Masanori, Imamura Keiko, Hikawa Rie, Enami Takako, Nagahashi Ayako, Yamakado Hodaka, Ichijo Hidenori, Fujisawa Takao, Yamashita Hirofumi, Minamiyama Sumio, Kaido Misako, Wada Hiromi, Urushitani Makoto, Inoue Haruhisa, Egawa Naohiro, Takahashi Ryosuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Cellular analysis of SOD1 protein-aggregation propensity and toxicity: a case of ALS with slow progression harboring homozygous SOD1-D92G mutation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12636
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-16871-3	査読の有無 無
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 Furukawa Koji, Shima Atsushi, Kambe Daisuke, Nishida Akira, Wada Ikko, Sakamaki Haruhi, Yoshimura Kenji, Terada Yuta, Sakato Yusuke, Mitsuhashi Masahiro, Sawamura Masanori, Nakanishi Etsuro, Taruno Yosuke, Yamakado Hodaka, Fushimi Yasutaka, Okada Tomohisa, Nakamoto Yuji, Takahashi Ryosuke, Sawamoto Nobukatsu	4. 巻 92
2. 論文標題 Motor Progression and Nigrostriatal Neurodegeneration in Parkinson Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Annals of Neurology	6. 最初と最後の頁 110 ~ 121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ana.26373	査読の有無 無
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 Uemura Norihito, Ueda Jun, Okuda Shinya, Sawamura Masanori, Takahashi Ryosuke	4. 巻 -
2. 論文標題 Mouse Models of Parkinson's Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol	6. 最初と最後の頁 119 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1495-2_12	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 Okuda Shinya, Uemura Norihito, Sawamura Masanori, Taguchi Tomoyuki, Ikuno Masashi, Uemura Maiko T., Yamakado Hodaka, Takahashi Ryosuke	4. 巻 -
2. 論文標題 Rapid Induction of Dopaminergic Neuron Loss Accompanied by Lewy Body-Like Inclusions in A53T BAC-SNCA Transgenic Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurotherapeutics	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) 10.1007/s13311-021-01169-5	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 Nakanishi Etsuro, Uemura Norihito, Akiyama Hisako, Kinoshita Masato, Masanori Sawamura, Taruno Yosuke, Yamakado Hodaka, Matsuzawa Shu-ichi, Takeda Shunichi, Hirabayashi Yoshio, Takahashi Ryosuke	4. 巻 14
2. 論文標題 Impact of Gba2 on neuronopathic Gaucher 's disease and -synuclein accumulation in medaka (Oryzias latipes)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	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) 10.1186/s13041-021-00790-x	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5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 澤村正典
2. 発表標題 Single intranasal administration of -synuclein preformed fibrils induces Lewy neurites like pathology in the olfactory bulb.
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 平藤哲也
2. 発表標題 シヌクレインの嗅覚系脳内伝播モデルマーム セットにおけるPETを用いた ミトコンドリア機能解析
3. 学会等名 マームセット研究会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 澤村正典
2. 発表標題 小型霊長類マーモセットを用いた新しいレヴィ小体病モデル
3. 学会等名 第 9 回 Medical Frontier Consortium beyond the Organcentric Dogma
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 澤村正典
2. 発表標題 非ヒト霊長類における $\alpha$ -synuclein嗅覚系伝播とレム睡眠行動異常症
3. 学会等名 第15回MDSJ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 澤村正典、尾上浩隆、藤永輝明、富永恵子、Chen Chih-Yang、伊佐かおる、伊佐正、岡村均、高橋良輔
2. 発表標題 シヌクレインの嗅覚系脳内伝播によるレヴィ小体病モデルマーモセットはRBD様睡眠障害を生じる
3. 学会等名 マーモセット研究会
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
---------	---------