

令和 6 年 5 月 2 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02837

研究課題名（和文）タウオパチー病態機序解明を目指すゲノムリソースの網羅的機能解析

研究課題名（英文）Comprehensive Functional Analysis of Genome Resources Aimed at Elucidating the Pathomechanisms of Tauopathy

研究代表者

杉江 淳（Sugie, Atsushi）

新潟大学・脳研究所・准教授

研究者番号：50777000

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：タウオパチーはアルツハイマー病を含む疾患群で、タウタンパク質の細胞内蓄積が特徴です。国内最大のタウオパチーゲノムリソースを解析し、低頻度のミスセンス変異を含む潜在的な病因遺伝子を特定しました。私たちはショウジョウバエを使い、視神経軸索の変性とシナプス喪失をモニタリングする実験モデルを確立しました。さらに神経変性を自動定量するMeDUsAを開発し、変異の影響を定量化し、タウオパチー関連リスク遺伝子の機能調査を行いました。顕著な差異は見られませんでした。その他希少疾患の原因遺伝子変異の発見や病態モデルの開発にも成功しました。これらの研究成果により、神経変性疾患理解に寄与しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たちが特定した低頻度のミスセンス変異含む遺伝子は、タウオパチーの病態メカニズムを理解する鍵となり得ます。ショウジョウバエを用いた視神経軸索の変性とシナプス喪失のモニタリング実験モデルは、疾患発症の遺伝的背景を探る新たなアプローチを提供し、MeDUsAを用いた自動定量化技術は研究の効率を大幅に向上させています。さらに、希少疾患の原因遺伝子の特定や新しい病態モデルの開発は、より広範な神経変性疾患の治療法開発に寄与する可能性があります。これらの研究成果は、学術的にも社会的にも重要であり、神経変性疾患の診断、治療、予防の進展に貢献することが期待されます。

研究成果の概要（英文）：Tauopathy, a group of diseases including Alzheimer's disease, is characterized by the accumulation of tau protein within cells. We analyzed the largest domestic tauopathy genome resource, identifying potential causative genes that harbor low-frequency missense mutations. Utilizing fruit flies, we established an experimental model to monitor neurodegenerative changes and synaptic loss in optic nerve axons. Additionally, we developed MeDUsA, an automated system for quantifying neurodegeneration. Through this, we assessed the impact of mutations and explored the functionality of genes associated with tauopathy risk; however, no significant differences were detected. Our research also led to the discovery of mutations responsible for rare diseases and the development of corresponding pathological models. These findings significantly enhance our understanding of neurodegenerative diseases.

研究分野：神経科学、遺伝学

キーワード：神経変性疾患 タウオパチー ショウジョウバエ

## 1. 研究開始当初の背景

新潟大学脳研究所ではこれまでに、All Japan 体制による疾患コホート研究で独自に収集したゲノム DNA を用いて、若年性アルツハイマー236 症例の全ゲノム解析、そして進行性核上性麻痺及び大脳皮質基底核変性症 363 症例を含む 1,418 例のエキソーム解析、997 例の全ゲノム解析を次世代シーケンサーによって行ってきており、我が国において最大規模のタウオパチーの症例におけるゲノム解析データを蓄積している。それらの塩基配列の解析から、アレル数が極めて少ない変異を見いだした。このようなアレル頻度が 0.1%未満の極稀なミスセンス変異の場合、毒性があるかどうかを検証するために高価なマウスモデルを作製するにはコストが高すぎる。そのため解析が進まず、病的な意味づけができないという課題をかかえていた。

## 2. 研究の目的

本研究はタウオパチーで見つかる極稀変異の病的意義を、一元的にスクリーニングできる実験システムを開発する。これにより、遺伝子変異の病的意義を簡便に特定し、タウオパチーの分子病態の一端を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

ゲノム解析により得られた Tau、SORL1、ABCA7、BSN の遺伝子変異に対して、野生型及び変異型のヒト遺伝子を発現させるためのプラスミドベクターを構築し、インジェクションによって遺伝子組換えショウジョウバエを作製した。リスク遺伝子候補の野生型または変異型をショウジョウバエ視神経で発現させ、神経変性の度合いを自動的に定量できるソフトウェア MeDUsA を用いて神経変性状況を比較した。

## 4. 研究成果

私たちの研究グループは、遺伝的要因が疾患の発症にどのように影響を与えるかを明らかにするためのアプローチとして、ショウジョウバエを使用した実験モデルを開発した。具体的には、ショウジョウバエの視神経軸索の変性を観察し、その過程で生じる遺伝的変異の影響を定量化する方法である。このモデルを用いて、視神経軸索がどのように変性し、それがどのような遺伝子変異と関連しているかを詳細に分析できるようになった。

この実験システムをさらに発展させ、私たちは MeDUsA と名付けられた機械学習プログラムを開発した (Nitta et al., Hum. Mol. Genet. 2023)。MeDUsA は、視神経軸索の変性を自動で定量することが可能であり、多数のサンプルを迅速かつ正確に分析することができる。これにより、実験のコストを大幅に削減しつつ、高い再現性と精度でデータを処理することが可能となった。このプログラムの開発は、神経変性疾患の研究において、遺伝子変異の影響を簡便にかつ広範囲に渡って調査する新たな手法として貢献できる。

MeDUsA を用いて、タウオパチーと関連するリスク遺伝子の変異についての調査を行ったが、野生型との間に有意な差が見られる遺伝子変異を特定するには至らなかった。この結果は、タウオパチーの遺伝的要因が複雑であることを示唆しており、さらなる研究が必要であると考えられた。

一方で、MeDUsA を使用して、希少疾患における原因遺伝子の変異を発見した (Itai et al., Sci. Rep. 2023; Yamada et al., Euro. J. Med. Genet. 2023) また、し神経変性疾患である ADOA の原因遺伝子 OPA1 の変異の病態意義を検証できる、新しいハエモデルを構築することに成功した (Nitta et al., eLife preprint review)。これらの成果は、ショウジョウバエを用いた

モデルが希少疾患の研究においても有効であることを示しており、疾患の発症機序を理解する上で貴重な情報を提供した。

最後に、これらの研究結果に関連して、Niita and Sugie, Fly 2022 において総説を発表した。この総説では、ショウジョウバエを利用した疾患モデルの有効性や、遺伝的研究の進展に対する貢献を総括しており、学术界だけでなく、医療分野における治療戦略の開発にも影響を与える可能性がある。

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 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Utomo Rohmad Yudi, Sugie Atsushi, Okada Satoshi, Miura Kazuki, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 58
2. 論文標題 Detoxification of amyloid fibrils by curcumin derivatives and their verification in a <i>Drosophila</i> Alzheimer's model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 2576 ~ 2579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1cc07000b	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 Yamada Mamiko, Nitta Yohei, Uehara Tomoko, Suzuki Hisato, Miya Fuyuki, Takenouchi Toshiki, Tamura Masaru, Ayabe Shinya, Yoshiki Atsushi, Maeno Akiteru, Saga Yumiko, Furuse Tamio, Yamada Ikuko, Okamoto Nobuhiko, Kosaki Kenjiro, Sugie Atsushi	4. 巻 66
2. 論文標題 Heterozygous loss-of-function DHX9 variants are associated with neurodevelopmental disorders: Human genetic and experimental evidences	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Medical Genetics	6. 最初と最後の頁 104804 ~ 104804
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejmg.2023.104804	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 Nitta Yohei, Osaka Jiro, Maki Ryuto, Hakeda-Suzuki Satoko, Suzuki Emiko, Ueki Satoshi, Suzuki Takashi, Sugie Atsushi	4. 巻 -
2. 論文標題 <i>Drosophila</i> model to clarify the pathological significance of OPA1 in autosomal dominant optic atrophy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 eLife	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) 10.7554/eLife.87880.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Itai Toshiyuki, Sugie Atsushi, et al	4. 巻 13
2. 論文標題 A novel NONO variant that causes developmental delay and cardiac phenotypes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-023-27770-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nitta Yohei, Kawai Hiroki, Maki Ryuto, Osaka Jiro, Hakeda-Suzuki Satoko, Nagai Yoshitaka, Doubkov? Karol?na, Uehara Tomoko, Watanabe Kenji, Kosaki Kenjiro, Suzuki Takashi, Tavosanis Gaia, Sugie Atsushi	4. 巻 32
2. 論文標題 Direct evaluation of neuroaxonal degeneration with the causative genes of neurodegenerative diseases in <i>Drosophila</i> using the automated axon quantification system, MeDUSA	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 1524 ~ 1538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddac307	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3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉江淳
2. 発表標題 八工を用いた神経変性疾患の遺伝的要因の検出
3. 学会等名 国立遺伝学研究所国際シンポジウム2023（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 杉江淳
2. 発表標題 優性優性視神経萎縮の発症に關与するOPA1変異の病理的意義を検証するショウジョウバエモデルの確立
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 杉江淳
2. 発表標題 機能性アミロイドの探索
3. 学会等名 第66回日本神経化学学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023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
研究 分担者	池内 健  (Ikeuchi Takeshi)  (20372469)	新潟大学・脳研究所・教授    (13101)	
研究 分担者	新田 陽平  (Nitta Yohei)  (30800429)	新潟大学・脳研究所・特任助教    (13101)	

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