

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19443

研究課題名（和文）広域Caイメージングとトランスオミックスによるレビー小体病シナプス病態の解明

研究課題名（英文）Wide-field Ca imaging and trans-omics for mouse model of Lewy body disease

研究代表者

勝野 雅央（Katsuno, Masahisa）

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：50402566

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：シヌクレイノパチーモデルマウスを作製し、視覚認知障害の病態メカニズム解析を行った。右嗅球へ $\alpha$ -シヌクレインを投与後3か月経過時において投与群でshallow sideでの滞在時間が延長した。一方で黒質へ $\alpha$ -シヌクレインを投与したマウスにおいては投与後1か月および3か月経過時ともに行動解析で異常は生じなかった。シヌクレインが発現している外側嗅内野で、対側に比較してc-fos陽性細胞の比率が増加し、神経活動が変化している可能性が示唆された。また視覚野ではshallow layer、deep layerともに投与側でc-fos陽性細胞の比率が増加し、神経活動が変化している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

嗅内野や嗅周野は嗅覚・聴覚・視覚・体性感覚などが高次感覚連合野で処理される際の経路にあり、海馬との結合も強くエピソード記憶の形成にも重要な部位である。また視覚野は視覚情報を真っ先に処理する部位でもある。今回の研究結果から、シヌクレインが嗅内野・嗅周野まで広がることで視覚野や嗅内野の神経活動に変化が生じ、視覚情報処理そのものに問題が生じる、あるいは視覚情報の伝達に問題が生じることで高次感覚野での視覚情報認知に障害を起こしたのではないかと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the pathomechanism of visual cognition impairment in a mouse model of synucleinopathy. After 1 month of  $\alpha$ -synuclein administration to the right olfactory bulb, no obvious change was observed in the visual cliff test, but at 3 months, the time spent at the shallow side was prolonged in the  $\alpha$ -synuclein group. On the other hand,  $\alpha$ -synuclein-treated mice in the substantia nigra showed no abnormalities in behavioral analysis at 1 month and 3 months post-treatment. Neuronal activity in each region was evaluated using c-fos antibody, a marker of neuronal activity. In the lateral olfactory cortex, where synuclein is expressed, the ratio of c-fos-positive cells increased compared to the contralateral area, suggesting that neural activity may be altered in this area. In the visual cortex, the proportion of c-fos-positive cells increased in both the shallow and deep layers on the synuclein-treated side, suggesting a possible change in neural activity.

研究分野：神経内科学

キーワード： $\alpha$ -シヌクレイン パーキンソン病 レビー小体型認知症 幻視 神経活動

### 1. 研究開始当初の背景

神経変性疾患における病理学的特徴は異常蛋白質の凝集であるが、ニューロン変性の病態の本質はシナプス障害と考えられている。しかし、異常蛋白質凝集はシナプス障害の必須条件ではなく、神経変性疾患におけるシナプス障害の分子機構は解明されていない。レビー小体病は、パーキンソン病(PD)とレビー小体型認知症(DLB)を含む神経変性疾患スペクトラムであり、ニューロン内への $\alpha$ -シヌクレインの異常凝集やミトコンドリア障害などが病態の根幹に関わっていると考えられている。レビー小体病では進行性の運動機能障害とともに幻視や錯視といった視覚認知機能の障害が出現する。視覚異常が生じる病態メカニズムは不明であるが、脳血流シンチグラフィやPETで視覚野の存在する後頭葉の血流が選択的に低下することが知られている。一方で、病因蛋白質である $\alpha$ -シヌクレインの異常凝集は後頭葉で少ないことが知られており、 $\alpha$ -シヌクレインの凝集に依存しないニューロン変性の存在が示唆される(Gómez-Tortosa et al., Acta Neuropathol 2000)。

### 2. 研究の目的

レビー小体病では運動症状や認知機能低下とともに幻視や視覚異常が出現し、患者 QOL の低下の原因となることが知られているが、有効な治療法は存在しない。またシヌクレイノパチーでは視覚情報を処理する視覚野における病理学的なニューロン変性や $\alpha$ -シヌクレインの蓄積は軽度であり、視覚異常を引き起こす病態メカニズムは解明されていない。今回、我々はシヌクレイノパチーモデルマウスを作製し、シヌクレイノパチーにおける幻視症状の病態メカニズム解析を行うことを目的とした。

### 3. 研究の方法

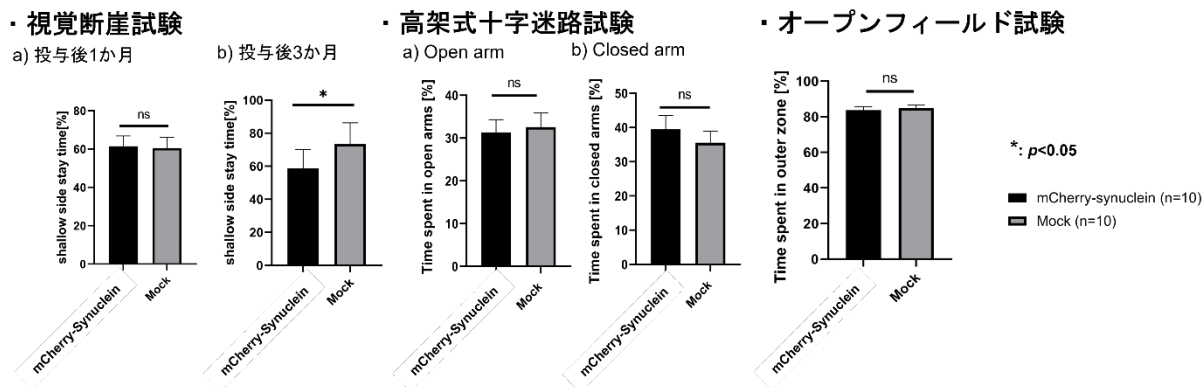
今回我々は AAV ウイルスベクターを用いてマウス右嗅球および右黒質に $\alpha$ -シヌクレインの疾患変異体 A53T を発現させた。AAV ウイルスベクター投与後 4 週及び 12 週で視覚断崖試験、高架式十字迷路試験、オープンフィールド試験を実施し行動解析を行った。また行動解析後にマウス脳の病理学的解析を行い、 $\alpha$ -シヌクレインの脳内での神経活動性マーカーである c-fos の評価を行い各脳領域における神経活動の評価を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 嗅球への $\alpha$ -シヌクレイン投与によるマウス行動変化

右嗅球へ $\alpha$ -シヌクレインを投与後、1 か月経過時においては視覚断崖試験で明らかな変化は認めなかったが、3 か月経過時において $\alpha$ -シヌクレイン投与群で shallow side での滞在時間が延長した。また投与後 3 か月で高架式十字迷路試験、オープンフィールド試験を行ったがいずれの試験でも明らかな異常は生じなかった。(図 1)

図 1  $\alpha$ -シヌクレイン嗅球投与群における行動評価



一方で黒質へ $\alpha$ -シヌクレインを投与したマウスにおいては投与後 1 か月および 3 か月経過時ともに行動解析で異常は生じなかった(図 2)。また嗅球投与群、黒質投与群ともにロタロッドテストでは運動異常は認めなかった(図 3)。

図 2  $\alpha$ -シヌクレイン黒質投与群における行動評価

・ 視覚断崖試験

・ 高架式十字迷路試験

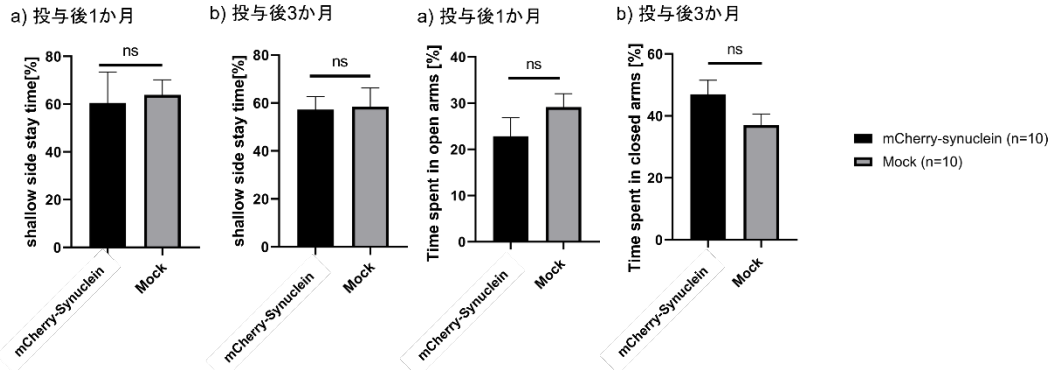
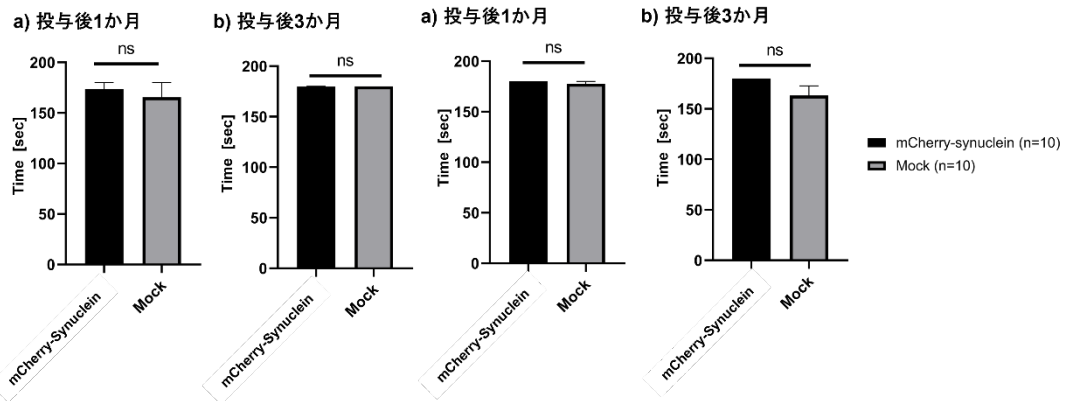


図 3  $\alpha$ -シヌクレイン投与マウスの運動機能

① 黒質投与マウス

② 嗅球投与マウス



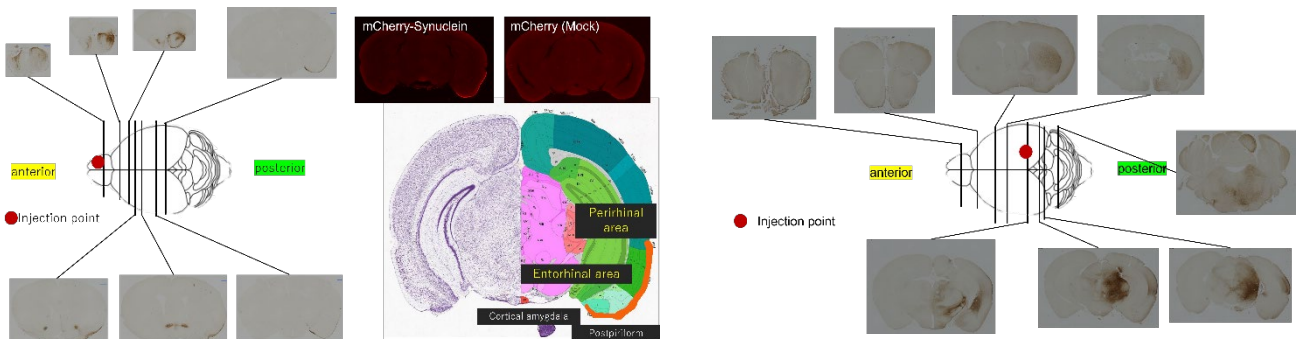
これらの結果から、嗅球投与群では投与後3か月において運動機能には異常は生じず、主に視覚認知機能が障害されていると考えられた。一方、黒質投与マウス群では視覚認知機能や運動機能の異常が生じないことを確認した。

(2) マウス脳内での $\alpha$ -シヌクレインの広がり

嗅球に $\alpha$ -シヌクレイン発現 AAV ベクターを投与したマウスの病理学的解析を行ったところ、 $\alpha$ -シヌクレインは嗅球から嗅索・嗅結節を経て尾側の梨状皮質・外側嗅内野まで脳の表層で広がっていくことが確認された。一方で視覚野には $\alpha$ -シヌクレインの発現は認めなかった(図4)。また黒質投与群では頭側では被殻まで、尾側では脳幹部まで広がることを確認された(図5)。

図 4  $\alpha$ -シヌクレインの広がり(嗅球投与マウス)

図 5  $\alpha$ -シヌクレインの広がり(黒質投与マウス)



(3) 嗅球への $\alpha$ -シヌクレイン投与時における神経活動の変化

神経活動性マーカーである c-fos 抗体を用いて各領域の神経活動について評価を行った。シヌクレインが発現している外側嗅内野で、対側に比較して c-fos 陽性細胞の比率が増加し、神経活動が変化している可能性が示唆された。また視覚野では shallow layer・deep layer とともにシヌクレイン投与側で c-fos 陽性細胞の比率が増加し、神経活動が変化している可能性が示唆された(図6)。

嗅内野や嗅周野は嗅覚・聴覚・視覚・体性感覚などが高次感覚連合野で処理される際の経路にあり、海馬との結合も強くエピソード記憶の形成にも重要な部位である。また視覚野は視覚情報を真っ先に処理する部位でもある。今回の研究結果から、シヌクレインが嗅内野・嗅周野まで広がることで、視覚野や嗅内野の神経活動に変化が生じ、視覚情報処理そのものに問題が生じる、あるいは視覚情報の伝達に問題が生じることで高次感覚野での視覚情報認知に障害を起こしたのではないかと考えられる(図7)。

図6 嗅内野・視覚野における神経活動活性化

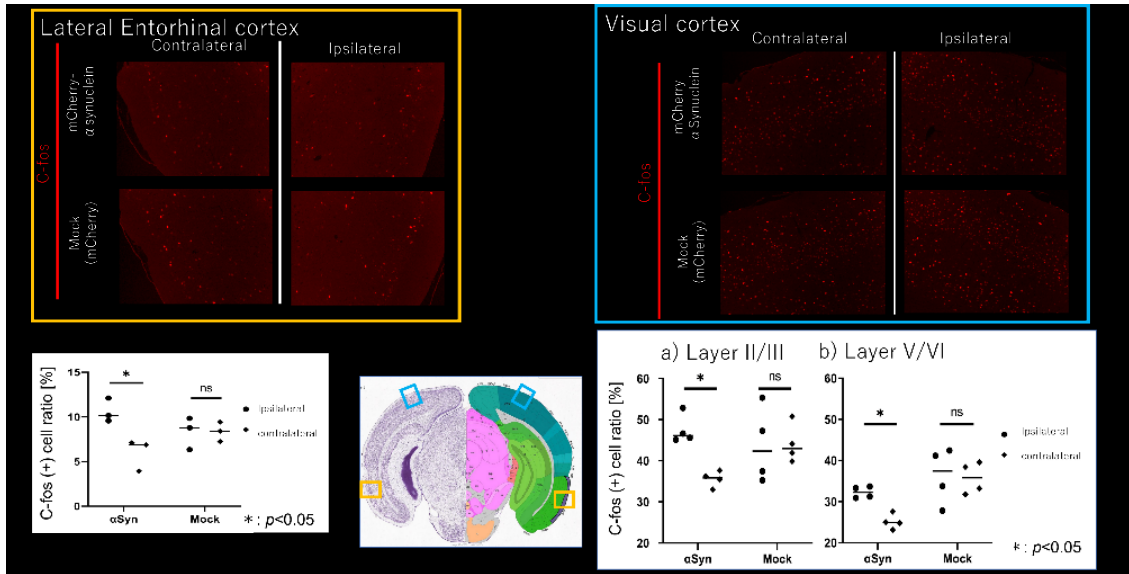
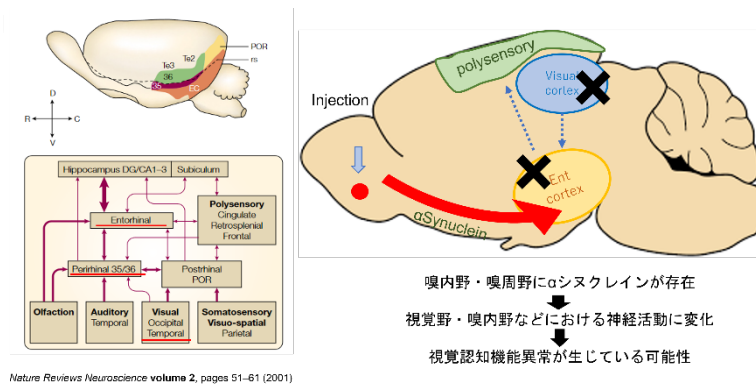


図7 想定される視覚認知異常発生メカニズム



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nishiwaki H, Ueyama J, Kashihara K, Ito M, Hamaguchi T, Maeda T, Tsuboi Y, Katsuno M, Hirayama M, Ohno K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Gut microbiota in dementia with Lewy bodies.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 NPJ Parkinsons Dis.	6. 最初と最後の頁 169
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41531-022-00428-2.	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 Bagarinao E, Kawabata K, Watanabe H, Hara K, Ohdake R, Ogura A, Masuda M, Kato T, Maesawa S, Katsuno M, Sobue G.	4. 巻 4
2. 論文標題 Connectivity impairment of cerebellar and sensorimotor connector hubs in Parkinson's disease.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Brain Commun.	6. 最初と最後の頁 fcac214
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/braincomms/fcac214.	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 Daida K, Shimonaka S, Shiba-Fukushima K, Ogata J, Yoshino H, Okuzumi A, Hatano T, Motoi Y, Hirunagi T, Katsuno M, Shindou H, Funayama M, Nishioka K, Hattori N, Imai Y.	4. 巻 37
2. 論文標題 -Synuclein V15A Variant in Familial Parkinson's Disease Exhibits a Weaker Lipid-Binding Property.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mov Disord.	6. 最初と最後の頁 2075-2085
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/mds.29162.	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3件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 勝野雅央
2. 発表標題 レビー小体病ハイリスクコホート
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 勝野雅央
2. 発表標題 レビー小体型認知症の嗅覚障害
3. 学会等名 36回日本老年精神医学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshinobu Amakusa, Yohei Iguchi, Satoshi Yokoi, Yu Kawakami, Masahisa Katsuno
2. 発表標題 Analysis of visual abnormalities in synucleinopathy.
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022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	井口 洋平  (Iguchi Yohei)  (80790659)	名古屋大学・医学部附属病院・助教   (13901)	
研究分担者	横井 聡  (Yokoi Satoshi)  (30815460)	名古屋大学・医学系研究科・特任助教   (13901)	

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