

アルツハイマー病発症初期の病態メカニズム解明と早期介入法確立に向けた治療標的探索
(21-13)

主任研究者 飯島 浩一 国立長寿医療研究センター 神経遺伝学研究部（部長）

研究要旨

アルツハイマー病（AD）は老年性認知症の最大の原因であり、予防・治療法の確立は社会的要請が極めて高い課題である。ADは、脳内にアミロイドβ（Aβ）が蓄積し、数十年をかけて神経細胞が脱落して発症に至ると考えられている。しかし、大脳皮質で始まるAβの蓄積が、脳の深部から広がる神経細胞死を惹起する機序は明らかではなく、有効な予防・治療法も存在しない。本研究では、Aβの蓄積がシナプス脱落、神経炎症、脳血管障害、タウ病理拡大、神経変性を引き起こす分子機序の解明に取り組み、AD初期の脳病態を反映する新規バイオマーカー、ならびに早期診断後に介入するための治療薬標的の探索を行う。

これまでに、AD患者の臨床・病理・ゲノム・遺伝子発現情報を統合した遺伝子共発現ネットワークに、AD初期の脳病態を模すAβ病理モデルマウス（APPNLGFノックインマウス：APPNLGF-KIマウス）から取得した遺伝子発現データを重ね合わせ、その集積度を指標に、Aβ病理の増悪化に対する脳内の変化を反映する遺伝子ネットワークを同定した。本研究では、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークに着目し、モデル動物を用いた検証から、AD初期の病態メカニズム解明、ならびに病態マーカーと治療薬標的の探索を行う（研究計画1）。また、AD初期に見られる神経細胞死を抑制する方法を開発するために、抑制性介在神経（研究計画2）、ならびに青斑核ノルアドレナリン神経（研究計画3）に着目し、神経変性の機序解明から抑制法の探索を行う。さらに、ADの初期病態を標的としたトランスレーショナル研究への利用や、ADの中核病変であるAβやタウ病理形成を未然に抑制する修飾因子を効率的に探索するための、新規モデル動物を確立する（研究計画4）。本研究によりADの病態形成を遺伝子レベルで包括的に捉え、新たな角度からAD病態マーカーや治療薬標的の同定を目指す。

主任研究者

飯島 浩一 国立長寿医療研究センター 神経遺伝学研究部（部長）

分担研究者

関谷 倫子 国立長寿医療研究センター 神経遺伝学研究部（副部長）

研究期間 2021年4月1日～2024年3月31日

A. 研究目的

老年性認知症の最大の原因であるアルツハイマー病（AD）患者数は増加の一途を辿り、ADに対する予防・治療法の確立は急務の課題である。脳内でのアミロイドβペプチド（Aβ）の蓄積がAD発症の原因と考えられており、“抗Aβ医薬”は予防・先制治療薬として位置付けられ、AD発症前から臨床試験を行うための体制作りが進められている。このような現状の下、AD治療薬開発の標的は、Aβそのものから、“Aβ蓄積が惹起する脳病態”へと急速に展開している。当研究部では、“抗Aβ医薬”等の治療効果を判定するための脳病態マーカーや、早期診断後の治療薬開発を目標に、Aβの蓄積がシナプス変性、神経炎症、脳血管系の障害、タウ病理拡大、神経変性を引き起こす分子機序の解明に取り組んでいる。本研究の目的は、AD発症機序の理解、危険因子の発見、さらに病態バイオマーカーと治療薬標的の探索であり、社会的要請が高く迅速な研究開発を継続的に行う必要がある。

近年、網羅的なゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム等のオミクスデータを利用したデータ駆動型研究が、AD研究にも新たな展開をもたらしている。本研究は、AD患者由来の臨床・病理・ゲノム・遺伝子発現データを統合した遺伝子共発現ネットワーク解析と、ADの病態初期を再現するAβ病理モデルマウス（APPNLGF-KIマウス）脳由来の遺伝子発現データを融合させ、“Aβ蓄積が引き起こす脳内環境の変化”を“遺伝子ネットワークの変化”として網羅的かつ包括的に捉える点に特色・独創性がある。さらに、遺伝子ネットワークの変化がAD病態に及ぼす影響を、モデル動物を用いて検証することで、従来のAβやタウに着目した研究とは異なる角度から、AD発症メカニズムの全体像を解明できると考えている。また本研究では、ADの発症前・初期病態を模す、新規モデルマウス、モデルショウジョウバエの開発を並行して行い、それらを用いた脳病態マーカーや創薬標的の探索から、治療法の開発に向けたトランスレーショナル研究を展開する。

B. 研究方法

本研究では、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークに着目し、モデル動物を用いた検証を行い、AD初期の病態メカニズム解明、ならびに脳病態マーカーと治療薬標的の探索を行う（**研究計画1**）。また、AD初期に見られる臨床症状への治療法を開発するために、AD発症の初期に傷害される抑制性介在神経（**研究計画2**）、ならびに青斑核ノルアドレナリン神経（**研究計画3**）に着目し、神経変性の機序解明から抑止法の探索を行う。さらに、Aβやタウ病理形成に関わる因子の探索や、トランスレーショナル研究に利用するために、AD初期病態を模す新規モデル動物を作製する（**研究計画4**）。

研究計画 1: AD 初期の病態形成にアストロサイト・脳血管系細胞の変化が果たす役割の解明と新たな病態マーカー・治療薬標的の探索

A β 病理モデルマウスを用い、AD 初期の病態形成にアストロサイト・脳血管系細胞の機能変化が果たす役割を調べ、新たな病態マーカー・治療薬標的の探索を行う。

1-1) A β 病理モデルマウス脳のアストロサイト・脳血管系病変の解析

これまでの研究で同定したアストロサイト・脳血管系細胞遺伝子ネットワークのハブ (Causal regulator) 遺伝子群に着目し、免疫組織染色によりそれら遺伝子産物の局在を A β 病理モデルマウス脳内で可視化する。顕著な変化が見られた遺伝子は、病態マーカーや治療薬の標的候補と考えられる。そこで、免疫組織染色により選定したアストロサイト・脳血管系の病変形成に関わる候補遺伝子産物について、それらの発現を A β 病理モデルマウス (APPNLGF-KI マウス) 脳でアストロサイト特異的に変化させ (AAV による発現抑制と過剰発現)、脳病態の進行への影響を解析し、神経血管ユニットの変化が AD 発症の前・初期に果たす役割を明らかにする。

1-2) 治療薬標的としての遺伝子 A の検討 (分担:関谷)

上記遺伝子ネットワークの構成遺伝子の中から、AD の治療薬標的の候補遺伝子として遺伝子 A に着目し解析を行う。遺伝子 A は、海馬の萎縮と TAR-DNA binding protein 43 (TARDBP/TDP-43) の蓄積を特徴的な脳病理とする加齢性海馬硬化症のリスク因子であることが報告されている。そこで、まず、遺伝子 A のヘテロ欠損マウスにおける正常老化への影響を解析し、次に、A β 病理モデルマウスにおける遺伝子 A のヘテロ欠損が、A β 病理が惹起する脳病変、認知機能低下、遺伝子発現変化に及ぼす影響を解析する。さらに、ショウジョウバエモデルを用い、遺伝子 A のショウジョウバエ相同遺伝子である遺伝子 B が、前頭側頭葉変性症や筋萎縮性側索硬化症、加齢性海馬硬化症に加え、AD 患者脳でも蓄積する TDP-43 の神経毒性に及ぼす影響を調べる。

1-3) AD 初期脳病態を反映する血液バイオマーカー探索 (分担:関谷)

AD 発症前・初期の脳病態を反映する新たな血液バイオマーカーの探索にあたり、まず、AD プレクリニカル期の血液バイオマーカーとして近年注目を集めているリン酸化タウが反映する脳病態を明らかにする必要がある。現在、AD の A β 病理と良く相関する優れた血液バイオマーカーとしてリン酸化タウが注目されているが、なぜリン酸化タウが A β 病理と良く相関するのか、その理由は明らかでない。そこで、AD の初期病理である A β 病理のみを呈する A β 病理モデルマウス、さらに、AD 発症前、A β 病理を有するプレクリニカル期のヒト剖検脳を用い、免疫組織染色により A β 病理の形成とバイオマーカーリン酸化タウの関係性を明らかにする。

研究計画 2 : AD 初期の抑制性介在神経変性の機序解明 (分担:関谷)

遺伝子ネットワーク解析から、病態を制御し創薬標的の候補となるネットワークとして、抑制性介在神経の遺伝子ネットワークを同定した (Neuron, 2021)。そこで、 $A\beta$ 病理モデルマウス脳で脱落する抑制性介在神経のサブタイプ、変性機序の解明、さらに抑制性介在神経の生存に関わる転写因子遺伝子 C の欠損マウスを用いて、抑制性介在神経の減少が、 $A\beta$ 病理モデルマウスの脳病変形成および認知機能の低下に及ぼす影響を調べる。

研究計画 3 : 青斑核神経軸索変性の機序解明と保護法の探索

AD 発症過程の初期に認められる青斑核ノルアドレナリン神経でのタウ病理形成と変性脱落は、抑うつなど AD の臨床症状の表出や、脳深部から大脳皮質へタウ病理が拡大する起点となる可能性がある。これまでに、 $A\beta$ 病理モデルマウスの大脳皮質において青斑核神経の投射軸索が変性・退縮し、神経栄養因子の発現や局在が変化していることを見出している。そこで、 $A\beta$ 病理モデルマウスの青斑核ノルアドレナリン神経細胞特異的な RNA シーケンス解析を行い、得られた遺伝子発現データの解析から、 $A\beta$ 病理に依存して変動する遺伝子を同定し、ノルアドレナリン神経細胞の軸索の変性機序やその過程に関わる遺伝子を同定する。さらに、AAV を用いた遺伝子導入法により軸索変性に関わる候補遺伝子の機能解析を進め、AD 初期に見られる青斑核神経の神経変性を抑止する方法を探索する。

さらに、ヒト剖検脳を用い、AD 初期の青斑核神経軸索の変性様式を調べる。

研究計画 4 : AD 初期の中核病理を模す新規モデル動物開発

AD の中核病変である $A\beta$ やタウ病理形成を抑止する予防法確立に向け、遺伝学的・薬理学的手法を用いて病理形成の修飾因子を効率的に探索するために、以下 3 つの AD モデル動物の作製を継続して行う。

4-1) 青斑核ノルアドレナリン神経タウ病理モデルマウスの開発

$A\beta$ 病理モデルマウスである APP^{NLGF-KI} マウスは大脳皮質に $A\beta$ 病理を呈するが、AD の初期に見られる皮質下青斑核のタウ病理を呈さない。そこで、ヒトタウ (0N4R 型) をマウス青斑核に特異的に発現できる AAV ベクターを作製し、マウス青斑核に投与する。タウの投与を行うマウスは、ヒトのタウ病理をより忠実に創出するために、APP^{NLGF-KI} マウスの内在性タウをヒト化した、ダブルノックインマウス (APP^{NLGF-KI}, hTau-KI マウス) を用いる。APP^{NLGF-KI}, hTau-KI マウスの青斑核に、ヒトタウ発現 AAV ベクターを投与し、投与から 6 および 12 ヶ月後に脳組織を摘出し、青斑核でのタウ病理が、 $A\beta$ 病理の存在下で大脳皮質や海馬へと伝播するかを検討する。

4-2) オクトパミン神経タウ病理モデルシヨウジョウバエの開発 (分担:関谷)

タウ蓄積に関わる因子を効率的に探索するために、タウ病理モデルショウジョウバエの作製を行う。ショウジョウバエには、ノルアドレナリン神経に相当する神経としてオクトパミン神経が存在する。本年度は、ショウジョウバエオクトパミン神経特異的にヒトタウを発現したショウジョウバエの、表現型解析と加齢依存的な変化を解析する。

4-3) 新規 A β 病理モデルショウジョウバエの開発 (分担:関谷)

これまでに、脳神経細胞でヒト A β を産生・分泌する新規モデルショウジョウバエを作製している。この系を用いる利点は、A β 斑形成前の単量体 A β の産生、分解、排出に関わる遺伝子群を効率的に同定できることにある。RNAi 法を用いて神経細胞特異的あるいはグリア細胞特異的に任意の遺伝子の発現を抑制し、脳内の A β 量を変化させる遺伝子を同定する。同定した遺伝子については、培養細胞を用いた哺乳類相同遺伝子の解析を行う。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え生物等の使用については「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」に従い、マウスを用いた実験は「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」に従って実施した。また、ヒト剖検脳を用いた実験は、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」、その他の関連法令に従い、国立研究開発法人国立長寿医療研究センターおよび関係機関の倫理委員会にて審査、承認の下に実施した。

C. 研究結果

研究計画 1: AD 初期の病態形成にアストロサイト・脳血管系細胞の変化が果たす役割の解明と新たな病態マーカー・治療薬標的の探索

1-1) A β 病理モデルマウス脳のアストロサイト・脳血管系病変の解析

これまでに、AD 患者脳 of 遺伝子発現・ゲノム・病理・臨床データ等から構築された遺伝子共発現ネットワークの中から、A β 病理の増悪に伴い変化するネットワークとして、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークを同定した。このネットワークには、Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) などの反応性アストロサイトマーカー、水チャネル Aquaporin 4 (AQP4) などアストロサイト終足で発現し、神経血管ユニットを構成する遺伝子、細胞傷害の軽減や血流量の調節に関わるカリウムチャネル、アストロサイト貪食機能に関わる遺伝子、さらに神経細胞の生存や神経軸索の保護に関わる因子などが含まれている。これらの遺伝子群の中から、AD 病態マーカーや創薬標的の候補として、複数の Causal regulator 遺伝子 (ネットワークを構成する遺伝子群の発現を調節する階層の最上位に位置し、ネットワークの機能・活性を制御する遺伝子) を選定した。

次に、それら遺伝子産物の脳内局在を、A β 病理モデル (APP^{NLGF-KI}) マウスを用いて調べた。老齢 (24 ヶ月齢) の野生型マウスと APP^{NLGF-KI} マウスの凍結脳切片を作製し、14 の Causal regulator 遺伝子産物に対する抗体を用いて免疫組織染色を行った。その結果、それらの多くが野生型マウス脳のアストロサイトで発現し、APP^{NLGF-KI} マウス脳内では発現の亢進や局在変化が認められた。これらの変化は、以下の4つのグループに分けられた。

- 1) A β 病理下で顕著に増加する反応性アストロサイト全般で発現する (図 1A, GFAP: Glial Fibrillary Acidic Protein)
- 2) A β 斑周囲の反応性アストロサイトに局所的に発現する (図 1A, 遺伝子 D)
- 3) 神経血管ユニットを構成するアストロサイト終足から、A β 斑周囲へと局在が変化する (図 1B, AQP4: Aquaporin 4, 図 1C, 遺伝子 E)
- 4) アストロサイトに発現し、A β 病理下でも大きな変化は見られない (遺伝子 F)。

さらに、アストロサイト終足が形成する神経血管ユニットの構造変化を、血管内皮細胞、周皮細胞、アストロサイト終足、細胞外マトリックスの各種マーカー抗体を用いた免疫組織染色により詳細に解析したところ、脳血管細胞には顕著な傷害が見られないこと、一方で脳血管の外側に局在する AQP4 をはじめとするアストロサイト終足分子は、脳血管の周

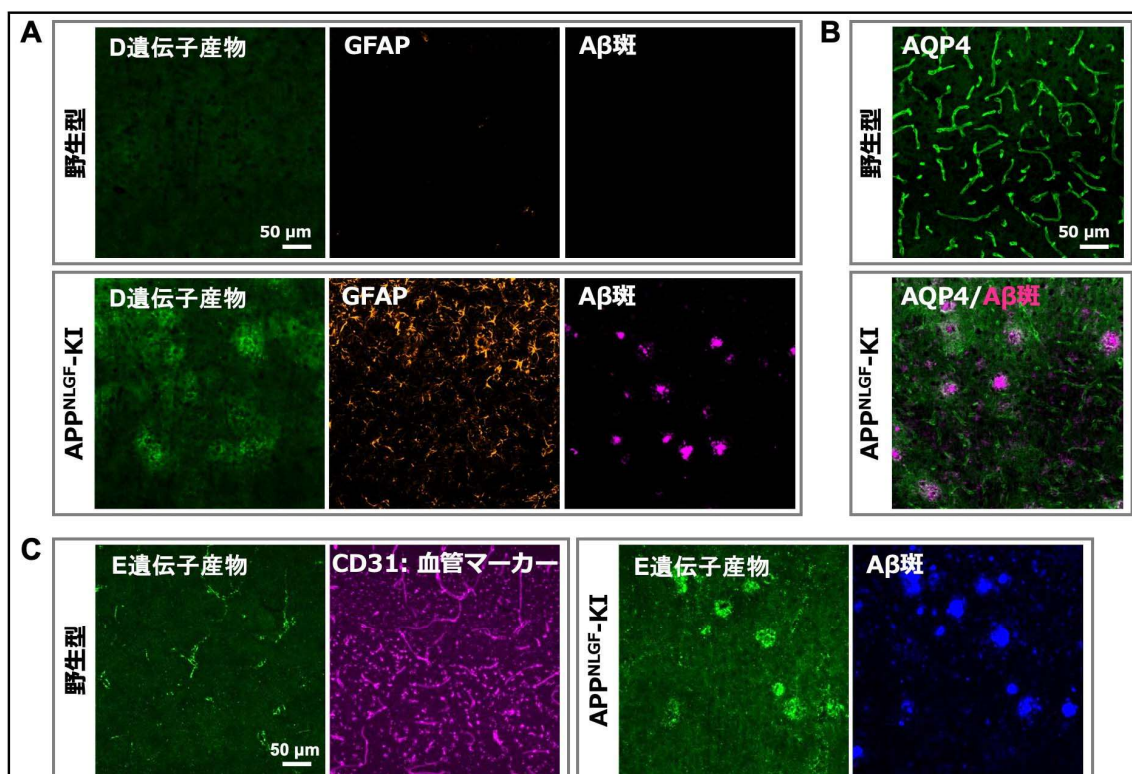


図1. A β 病理モデルマウス脳におけるCausal regulator遺伝子産物の局在変化

野生型, APP^{NLGF-KI}マウスの大脳皮質を (A) 抗D抗体, 反応性アストロサイトマーカー (抗GFAP抗体), 抗A β 抗体, (B) 抗AQP4抗体, 抗A β 抗体, (C) 抗E抗体, 血管マーカー (抗CD31抗体), FSB (A β)にて共染色。

困から、A β 斑周囲へと局在が変化していることを見出した。以上の結果から、A β 病理に対するアストロサイトの活性化により、神経血管ユニットの構成が慢性的に乱れることが、AD初期の神経変性や脳血管障害、さらに認知機能の低下につながる可能性を見出した。

先行研究から、神経血管ユニットや血管周囲排出路（Glymphatic システム）の周囲を覆うアストロサイト終足に分布する水チャネル AQP4 は、AD 患者の脳において A β 斑の周囲へ集積し、A β やタウの排出に関わることが示唆されている。本研究で新たに見出した遺伝子 *E* は、AQP4 同様に野生型マウスのアストロサイト終足に分布するが、A β 病理下では A β 斑の中心部分へと局在変化する様子が認められた。また、遺伝子 *D* も、A β 斑周囲に強く集積することを見出した。これらの結果は、遺伝子 *D* や遺伝子 *E* の局在変化は、脳内からの A β の排出に関わっている可能性を示している。

しかし一方で、反応性アストロサイトの活性化が慢性化すると、神経血管ユニットやシナプスの機能など、アストロサイトが維持する脳内恒常性が破綻し、神経変性が惹起される可能性もある。実際、遺伝子 *E* は X の原因遺伝子であり、遺伝子 *E* の機能喪失が Y を引き起こすことから、遺伝子 *E* の慢性的な局在変化が、AD 脳で Y を惹起する可能性も考えられる。

以上の仮説から、アストロサイト特異的に遺伝子 *D* や遺伝子 *E* の発現を抑制することにより、脳内の A β の蓄積や神経変性に変化が生じるかどうかを検討するために、A β 病理モデルマウスのアストロサイト特異的に遺伝子 *D* や遺伝子 *E* の発現を抑制するための系の確立を行なった。まず、それぞれの遺伝子について、培養細胞を用いてノックダウン効率の高い miRNA 配列を選択し、アストロサイト特異的プロモーター下で miRNA を発現する AAV を作製した。セロタイプは、血液脳関門透過性の高い PHP.eB 型を選択し、これらの AAV を 3 ヶ月齢の APP, Tau のダブルノックインマウス (APP^{NLGF-KI}/Tau-KI) に眼窩静脈叢より投与した。投与後、3 ヶ月あるいは 9 ヶ月間の加齢飼育後に脳組織を採取し、凍結脳切片を作製している。AAV ベクターには、miRNA と同時に蛍光タンパク質である mCherry を発現するシステムを搭載しているため、脳内の mCherry の発現を指標に遺伝子 *D* や遺伝子 *E* の発現抑制を確認し、アストロサイトやミクログリアの活性化、血管への終足分子の集積、A β 病理の変化、神経変性等について解析を行う予定である。

1-2) 治療薬標的としての遺伝子 A の検討 (分担: 関谷)

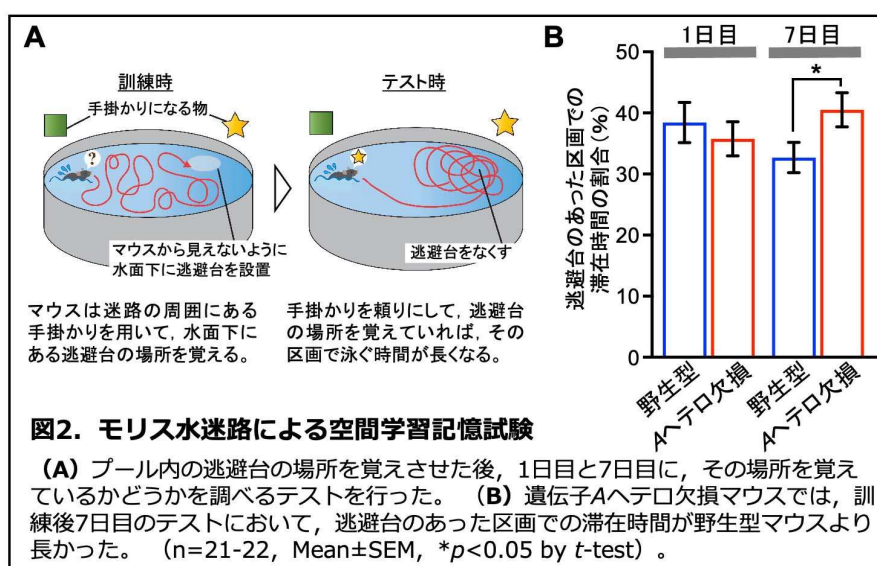
遺伝子ネットワーク解析から同定したネットワークの構成遺伝子の中から、治療薬標的の候補として遺伝子 A に着目した。遺伝子 A は、糖尿病治療薬や血管拡張薬の標的として知られている。また遺伝子 A は、細胞をストレスから保護する機能を持ち、その発現が AD 患者脳、ならびに A β 病理 (APP^{NLGF-KI}) モデルマウスの脳内で上昇していることから、AD 病態に対して保護的に働く可能性が考えられる。そこで、遺伝子 A ヘテロ欠損マウスを導入し、まず A の機能低下が老化脳 (24 ヶ月齢) に及ぼす影響について検討を行なった。

24ヶ月齢の*遺伝子A*ヘテロ欠損マウスの脳病理ならびに認知機能の解析を行ったが、野生型マウスに比べて顕著な変化（神経細胞数、神経炎症、脳血管構造、タウ病理、TDP-43病理等）は検出されなかった。一方、興味深いことに*遺伝子A*ヘテロ欠損マウスは野生型マウスと比べ、モリス水迷路試験における空間記憶の保持・想起能力が若干ながら向上していることを見出した（図2A, B）。更に、*遺伝子A*の発現低下が老化脳に及ぼす影響を捉えるために、24ヶ月齢の野生型、*遺伝子A*ヘテロ欠損マウスの海馬と大脳皮質側頭葉でRNAシーケンス解析を行った。その結果、mRNAからタンパク質への翻訳に関わる遺伝子群や、オートファジー関連遺伝子群の発現変化が見られ、記憶学習との関係について多くの報告がある栄養センサーmTOR経路の活性変化が示唆された。一方、側頭葉では、神経やシナプス関連経路の遺伝子の発現が低下している傾向が見られた。以上の結果から、脳病理のない健常な脳老化の過程では、*遺伝子A*のヘテロ欠損による顕著な影響は見られなかったが、エネルギー代謝やシナプス機能が変化している可能性が示された。

次に、*遺伝子A*ヘテロ欠損マウスと*Aβ*病理モデル

(APPNLGF-KI) マウスを交配し、得られたAPPNLGF+/+*遺伝子A*+/+ならびにAPPNLGF+/+*遺伝子A*+/+を24ヶ月齢まで加齢飼育して脳病理を解析した。その結果、*遺伝子A*のヘテロ欠損による機能低下は、*Aβ*斑の形成や神経炎症を顕著には変化させなかったが、血管周囲の周皮細胞の肥大化や微小脳出血を引き起こし、神経血管ユニットのインテグリティを低下させることを見出した。さらに、*Aβ*病理マウスで見られる神経・シナプス関連遺伝子の低下が、*遺伝子A*の欠損により増悪することを見出した。以上の結果から、*遺伝子A*は*Aβ*病理が引き起こす脳病態の修飾因子であり、その機能増強は治療標的となる可能性を見出した。

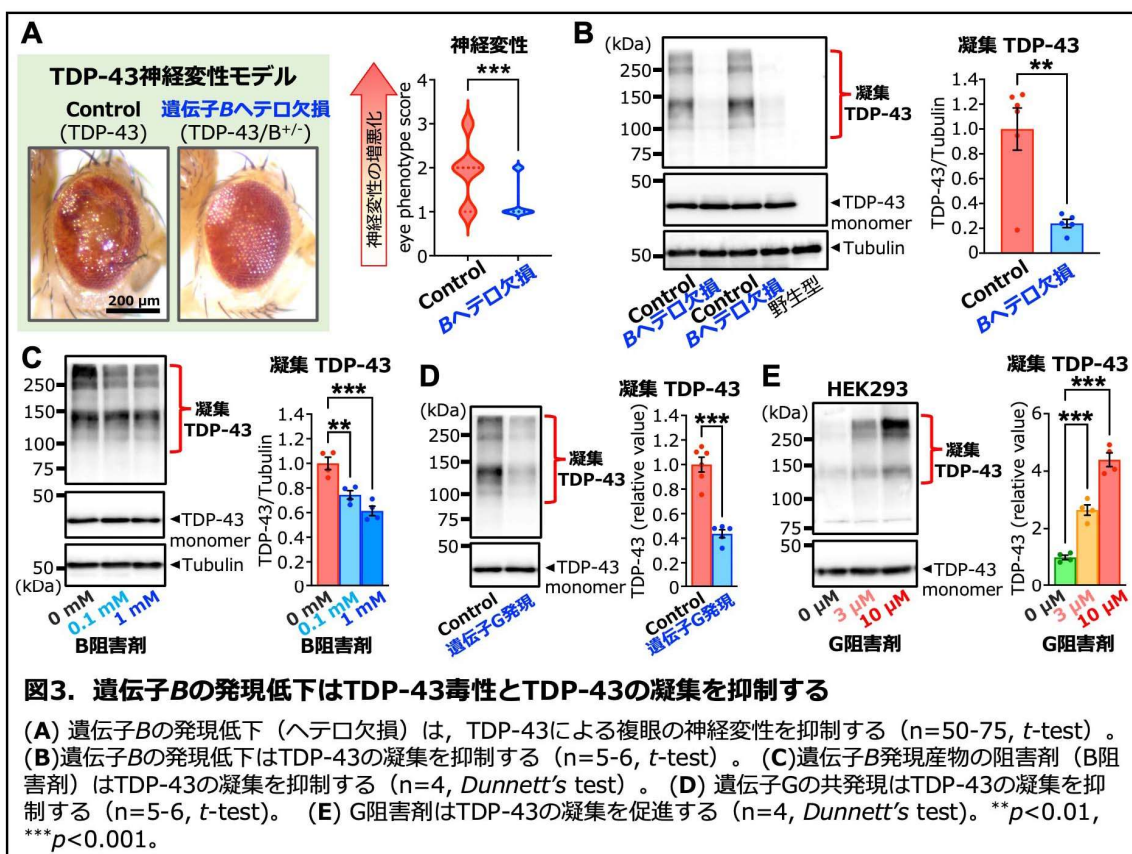
一方で、*遺伝子A*の脳組織での発現量を上昇させる single nucleotide variations (SNVs) は、海馬の萎縮と TAR-DNA binding protein 43 (*TARDBP*/TDP-43) の蓄積を特徴的な脳病理とする、加齢性海馬硬化症 (Hippocampal sclerosis of Aging : HS-Aging) のリスク因子であることが報告されていた。最近になり、HS-Aging は limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy neuropathologic change (LATE-NC) と高い頻度で併存する病態として定義され、*遺伝子A*の発現上昇は、TDP-43病理の増悪化や、TDP-43病理が惹起す



る神経変性を増悪する病態修飾因子であることが示唆された。筋萎縮性側索硬化症に特徴的な病理として知られる TDP-43 病理は、AD 患者の一部でも見られることから、*遺伝子 A* の発現上昇は、TDP-43 病理を呈する認知症サブタイプに対しては増悪因子として働く可能性が考えられる。

この可能性を検討するために、*遺伝子 A* の欠損により TDP-43 が引き起こす神経毒性が抑制されるかを、ショウジョウバエモデルを用いて検討した。ヒト TDP-43 をショウジョウバエの複眼で高発現すると、複眼表面の色素の脱落やネクロシスなどの細胞変性が観察されるが (図 3A 左)、*遺伝子 A* のショウジョウバエ相同遺伝子である *遺伝子 B* をヘテロ欠損させたところ、複眼の変性が顕著に抑制されることを見出した (図 3A 右)。また TDP-43 の神経毒性は、高分子量の凝集体の形成と関連することが知られているが、*遺伝子 B* のヘテロ欠損により TDP-43 の凝集体が減少することを見出した (図 3B)。さらに、ヒト *遺伝子 A* ならびにハエ *遺伝子 B* への阻害作用を持つ B 阻害剤をショウジョウバエに混餌投与することで、用量依存的に複眼の変性が抑制され、TDP-43 の凝集体量が減少することを見出した (図 3C)。

次に、*遺伝子 B* の発現低下による TDP-43 毒性の抑制作用のメカニズムを調べた。*遺伝子 A* 欠損マウスでは、筋細胞などへの糖の取り込み上昇による低血糖が報告されている。また本研究で行った *遺伝子 A* のヘテロ欠損マウス脳における遺伝子発現解析から、RNA 代謝やオートファジー関連遺伝子の発現変化など、脳内でのエネルギー代謝の変化が示唆さ



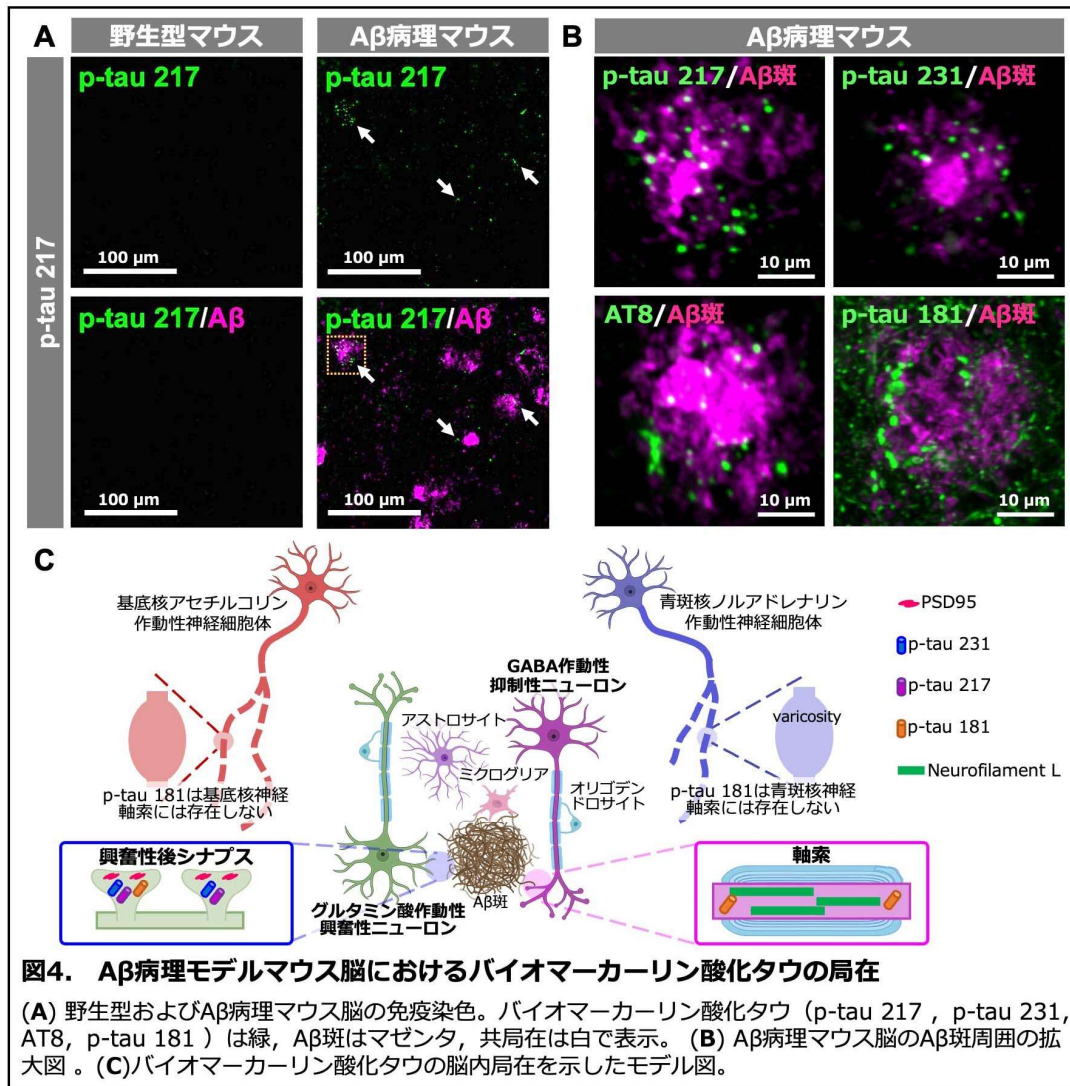
れた。そこで、細胞への Z の促進が、TDP-43 による神経毒性の軽減に関わるかを調べた。TDP-43 神経毒性モデルシヨウシヨウバエを用い、遺伝子 G を過剰発現して Z を増加させたところ、TDP-43 による複眼の変性、ならびに TDP-43 の凝集体量が減少することを見出した (図 3D)。また、TDP-43 を高発現するヒト培養細胞 (HEK293) を用いた実験系でも、G 阻害剤の処理により、細胞内の TDP-43 の凝集体量が増加することを確認した (図 3E)。以上の結果から、細胞への Z の促進により、TDP-43 の凝集や毒性を効果的に抑制できることが明らかになり、TDP-43 が関与する様々な神経変性疾患の発症メカニズムから治療法の開発につながると考え解析を進めている。さらに、これらの結果をモデルマウスで検証するために、TDP-43 病理モデルマウスと遺伝子 A 欠損マウスを交配させ、脳病態への影響の解析を開始した。

1-3) AD 初期脳病態を反映する血液バイオマーカー探索 (分担:関谷)

A β 病理モデル (APPNLGF-KI) マウスの脳において、アストロサイト終足が脳血管から解離し、それに伴い遺伝子 X の周皮細胞が顕著に肥大化することを見出した。周皮細胞の肥大化が可視化できれば、新たな病態マーカーや治療標的となる可能性があると考え、木村泰之博士と PET プローブ開発の可能性について検討を重ねた。しかし、遺伝子 X を標的とした抗癌剤 (化合物) は存在するものの、想定していた化合物の化学合成が困難である等の理由から、PET プローブとしての開発は中止した。

AD 発症前・初期の脳病態を反映する新たな血液バイオマーカーの探索にあたり、まず AD プレクリニカル期の血液バイオマーカーとして近年注目を集めているリン酸化タウが、どういった脳病態を反映しているのかを明らかにする必要があると考えた。AD 患者死後脳の病理解析からは、過剰リン酸化を受けたタウは神経細胞内で凝集し、神経原線維変化 (以下タウ病理) を形成することが知られている。また脳画像解析において、PET 陽性のタウ病理は AD 発症後に検出され、認知機能の低下とよく相関することが示されている。しかし、血液中でのリン酸化タウ (p-tau 217, p-tau 231) の上昇は、AD 発症後のタウ病理ではなく、AD 発症前・初期の A β 病理とよく相関することが報告されている。そこで、AD のプレクリニカル期を模す A β 病理モデル (APPNLGF-KI) マウスと野生型マウスの脳組織を用いた免疫組織染色により、バイオマーカーリン酸化タウと A β 病理の脳内局在の関係を調べた。その結果、p-tau 217 と p-tau 231 のシグナルは、A β 病理の周辺で肥大化した興奮性神経のシナプス後部に特異的に出現することを見出した (図 4A, B, 次ページ)。

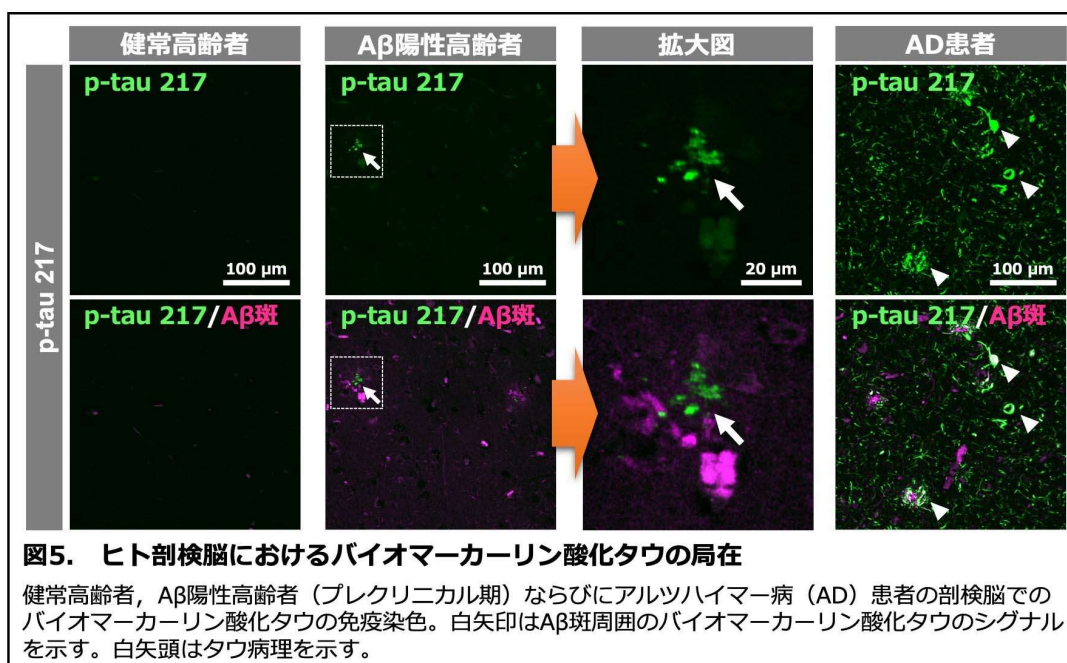
一方、従来から汎用されている p-tau 181 の血液・髄液中での上昇は、プレクリニカル期の A β 病理に加えて、認知機能の低下とも相関することが報告されている。興味深いことに、p-tau 181 のシグナルは、野生型マウスにおいても神経細胞の軸索で検出され、A β 病理モデルマウスではそれらの軸索が A β 斑の周辺で変性している様子が観察された (図 4B)。以上の結果から、血液バイオマーカーリン酸化タウは、A β 病理の周辺で引き起こされる神経突起変性を反映している可能性を見出した (論文発表, *Brain Communications*, 2022



さらに, p-tau 181 がどの種類の神経細胞の軸索変性を反映しているのかについて特定を進めた。脳には, 大脳皮質や海馬に局在する有髄神経のグルタミン酸作動性興奮性神経や GABA 作動性抑制性神経と, 皮質下に存在する無髄神経のアセチルコリン作動性, セロトニン作動性, ドパミン作動性, ノルアドレナリン作動性神経等がある。これまでに, p-tau 181 のシグナルは, 無髄神経ではなく, 有髄神経の, Parvalbumin 陽性 GABA 作動性抑制性神経と共局在すること, さらに Aβ 病理モデルマウスでは, 神経軸索を覆う髓鞘が変性していることを見出した (論文発表, *Journal of Alzheimer's Disease*, 93:1065-1081, 2023)。

以上の結果から, 既存のバイオマーカーリン酸化タウは, Aβ 病理下で生じる有髄の興奮性神経や抑制性神経のシナプス変性を反映していると考えられ, 無髄神経の変性を検出するためには, 新たなバイオマーカー開発が必要であることが示唆された (図 4C)。

次に、A β 病理モデルマウスで見出した血液バイオマーカーリン酸化タウの脳内局在が、ヒト剖検脳でも認められるかについての検証を行なった。上述のように、血液中のバイオマーカーリン酸化タウ (p-tau 217, p-tau 231) の上昇は、AD 発症後のタウ病理ではなく、AD 発症前・初期のA β 病理とよく相関する。そこで、東京都健康長寿医療センターより、A β 陰性の認知機能健常の高齢者(健常高齢者)、A β 病理を呈する認知機能健常の高齢者(A β 陽性高齢者)、そしてA β 病理とともに顕著なタウ病理を呈するAD患者(ともに50~70代)の脳皮質(第二前頭回)のパラフィン切片を分与いただき、A β 病理の形成と血液バイオマーカーリン酸化タウの脳内局在の関係を検討した。その結果、A β 斑の沈着のない健常高齢者の脳では、p-tau 217のシグナルは検出されなかった(図5, 健常高齢者)。一方、A β 陽性高齢者の脳では、顕著なタウ病理は認められないが、A β 病理モデルマウスで報告したようにA β 斑の周囲のみで点状のp-tau 217のシグナルが局在することを見出した(図5, A β 陽性高齢者, 拡大図, 白矢印で示した箇所)。これらp-tau 217のシグナルは、興奮性神経のシナプス後部マーカーと共局在することも見出しており、定量解析を進めている。また、AD患者脳においては、p-tau 217のシグナルはA β 斑周囲の変性突起に加えて、神経細胞内に蓄積したタウ病理として検出された(図5, AD患者, 白矢頭で示した箇所)。これらの結果から、プレクリニカル期からAD初期の血液バイオマーカーであるp-tau 217は、ヒト脳においてもA β 病理周辺で生じるシナプス変性を反映している可能性が示された。p-tau 231, p-tau 181の脳内局在についてもヒト剖検脳を用いた解析を進め、A β 病理モデルマウスのデータと概ね一致する結果を得た(投稿準備中)。



研究計画 2 : AD 初期の抑制性介在神経変性の機序解明 (分担: 関谷)

AD 患者脳の遺伝子ネットワーク解析から、AD 初期の認知機能を改善する創薬標的とし

て、抑制性介在神経の機能に関わるネットワークを同定し、その活性を賦活化する化合物を報告した (Wang, Li, Sekiya et al. *Neuron*, 2021)。しかし、AD 初期に抑制性介在神経が変性する理由は依然として不明である。まず、A β 病理モデル (APP^{NLGF-KI}) マウスが、抑制性介在神経変性の機序解明に資するモデルであるかを検討した。老齢 (24 ヶ月齢) の A β 病理モデルマウスの凍結脳切片を作製し、parvalbumin (PV), somatostatin, Neuropeptide Y (NPY)陽性の抑制性介在神経を免疫組織染色により同定し、細胞数を測定した。その結果、いずれも野生型マウスに比べて有意に減少しており、A β 病理が抑制性介在神経の変性を引き起こすことを確認した。

興味深いことに、研究計画 1 (総括研究報告) において、A β 病理が惹起する神経変性の原因として着目しているアストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークには、抑制性介在神経の生存に関わる遺伝子 *C* が含まれる。また最近、遺伝子 *C* の欠損により、アストロサイトの分化やアストロサイト-神経間のコミュニケーションが抑制され、大脳皮質のシナプス密度が減少することが報告された。従って、A β 病理に対する反応性アストロサイトの活性化により遺伝子 *C* の機能が変化し、抑制性介在神経やシナプスの減少を引き起こす可能性がある。この仮説を検証するために、遺伝子 *C* の欠損マウスをと A β 病理モデル (APP^{NLGF-KI}) マウスと交配し、得られたヘテロ接合体マウス (APP^{NLGF}/遺伝子 *C*^{+/+}) を加齢飼育し、脳病理解析ならびに遺伝子発現解析を行なった。

これまでに、Vasoactive intestinal peptide (VIP), NPY 陽性の抑制性介在神経の免疫染色と細胞数の計測を行なったが、遺伝子 *C* のヘテロ欠損による細胞数の減少は見られなかった (図 6A, 次ページ)。引き続き、詳細な解析を進めている。また、大脳皮質、海馬での遺伝子発現解析からは (図 6B), 遺伝子 *C* のヘテロ欠損のみで発現が上昇する遺伝子は、mRNA 代謝やタンパク局在 (大脳皮質, 海馬), cilium assembly に関する経路 (海馬) に集積し、発現低下する遺伝子は、糖代謝や脂質代謝経路 (大脳皮質), シナプスの構成や機能に関する経路 (海馬) に集積した。これらの結果は、遺伝子 *C* が神経細胞の生存や機能維持に関わることを示している。

A β 病理モデルマウスで発現が上昇する遺伝子の多くは、ミクログリアを中心とする免疫・炎症に関する経路に集積するが、遺伝子 *C* のヘテロ欠損 (APP^{NLGF}/遺伝子 *C*^{+/+}) でも、この傾向に顕著な違いは認められなかった。この結果は、遺伝子 *C* の欠損は、A β 病理の形成やミクログリアの機能には大きな影響を与えないことを示唆している。また、A β 病理下で発現低下する遺伝子については、遺伝子 *C* のヘテロ欠損により神経突起の伸長や、シナプス機能に関連する経路への集積度が高くなる傾向が見られ (図 6C), 神経血管ユニットを構成するカテコールアミン神経の分泌低下や、興奮性神経の活性の変化が示唆された。

以上の結果から、A β 病理が引き起こす抑制性介在神経変性や、それを取り巻く神経回路の変性が、遺伝子 *C* の欠損により増悪する可能性が考えられた。また、遺伝子 *C* の欠損によりアストロサイトの分化やアストロサイト-神経間のコミュニケーションが抑制され、大脳皮質のシナプス密度が減少することが報告されたことから、神経細胞に加えて遺伝子 *C*

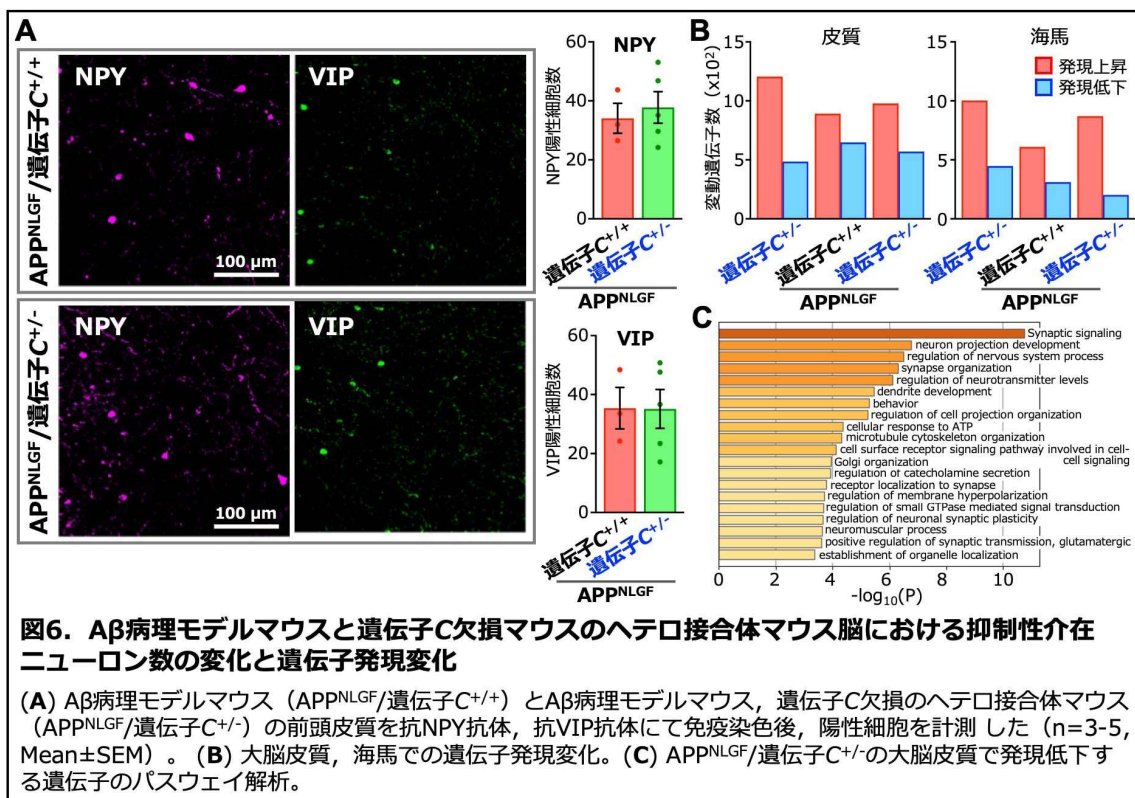


図6. Aβ病理モデルマウスと遺伝子C欠損マウスのヘテロ接合体マウス脳における抑制性介在ニューロン数の変化と遺伝子発現変化

(A) Aβ病理モデルマウス (APPNLGF/遺伝子C^{+/+}) とAβ病理モデルマウス、遺伝子C欠損のヘテロ接合体マウス (APPNLGF/遺伝子C^{+/-}) の前頭皮質を抗NPY抗体、抗VIP抗体にて免疫染色後、陽性細胞を計測した (n=3-5, Mean±SEM)。 (B) 大脳皮質、海馬での遺伝子発現変化。 (C) APPNLGF/遺伝子C^{+/-}の大脳皮質で発現低下する遺伝子のパスウェイ解析。

の欠損によるアストロサイトへの影響も調べる必要がある。現在、抑制性介在神経の変性に加え、その他の神経の軸索やシナプス、またアストロサイト・神経血管ユニット等、遺伝子 C 欠損による脳病態への影響を解析している。

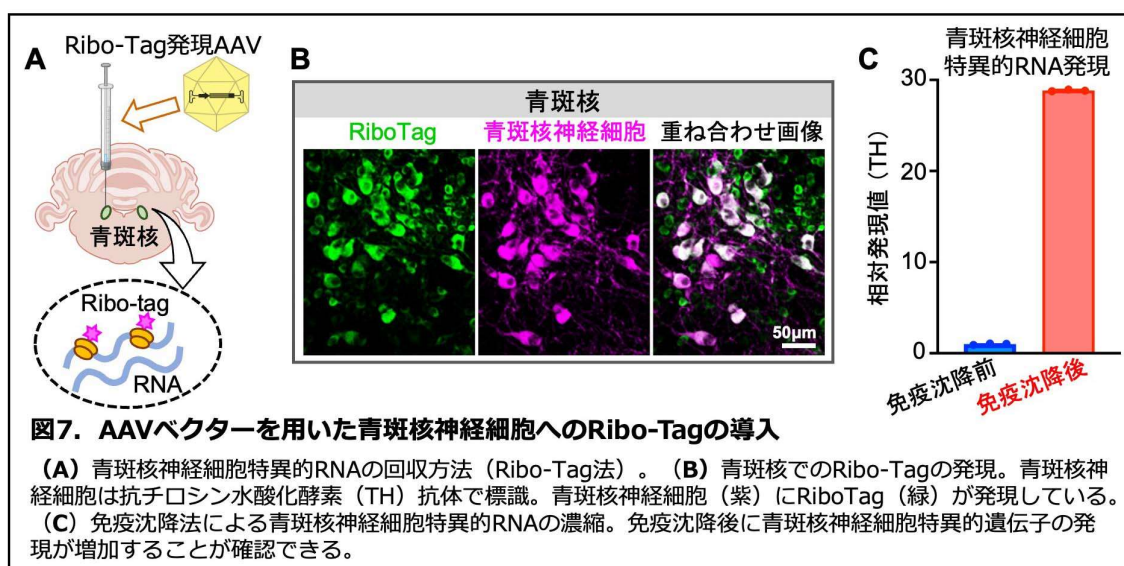
研究計画 3：青斑核神経軸索変性の機序解明と保護法の探索

青斑核ノルアドレナリン神経細胞は、脳幹の細胞体から広範な脳領域へ長い神経軸索を投射し、睡眠や情動、認知機能の制御に関わる。また青斑核神経の軸索は、脳血管系細胞やアストロサイト終足と神経血管ユニットを構成し、脳血流量や血液脳関門の機能を調節する。ヒトの青斑核ノルアドレナリン神経には、正常老化の過程でタウが蓄積するが、顕著な神経変性には至らない。一方、AD では初期に青斑核神経が脱落するため、タウ病理が海馬や大脳皮質へ拡大する起点になっている可能性が指摘されている。従って、青斑核神経の変性を防ぐことは、正常老化脳が AD 病態脳へ遷移するのを抑止する、重要な治療標的であると考えられる。しかし、なぜ AD では初期に青斑核神経細胞が脱落するのかは明らかではない。

これまでに、AD 発症前・初期の Aβ 病理を模すモデル (APPNLGF-KI) マウスを用い、青斑核が脱落する前に、大脳皮質や海馬に投射した青斑核神経の軸索が変性・退縮することを見出した (論文発表, *Journal of Alzheimer's Disease*, 2021, 82(4):1513-1530)。この結果は、老化に伴いタウを蓄積した青斑核神経の軸索が、投射先である大脳皮質に蓄積した Aβ 病理により慢性的に傷害され、ついには神経細胞死が引き起こされることを示唆してい

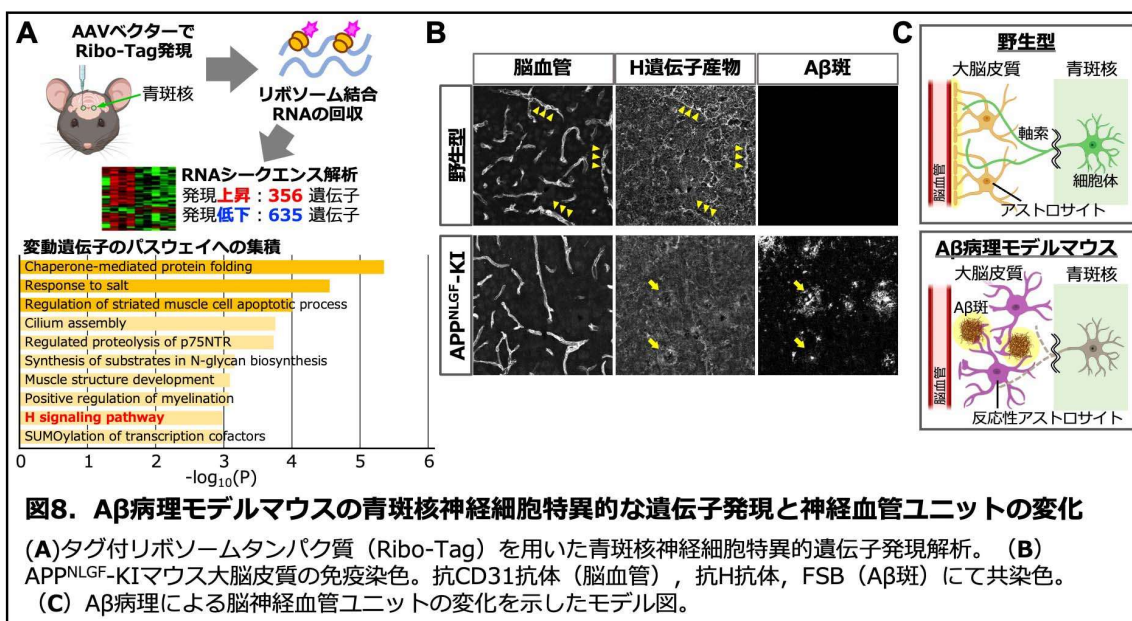
る。従って、 $A\beta$ 病理による青斑核神経の軸索変性メカニズムを解明することで、AD の発症や進行を抑止する先制治療標的を同定できる可能性がある。そこで、青斑核神経細胞の遺伝子発現から、細胞が傷害されるメカニズムを明らかにするため、APP^{NLGF-KI} マウスの青斑核神経細胞特異的な遺伝子発現解析を行うことにした。

まず、青斑核神経細胞特異的な PRS \times 8 プロモーター下でタグ付リボソームタンパク質 (Ribo-Tag) を発現する AAV ベクターを、マウス青斑核へ直接投与し、青斑核神経細胞で Ribo-Tag が発現することを確認した (図 7A, B)。さらに、青斑核を含む脳組織を摘出し、Ribo-Tag 沈降法 (免疫沈降) により、青斑核神経細胞特異的な RNA を高効率で回収できることを確認した。効率の確認は、ノルアドレナリン神経細胞特異的なノルアドレナリン合成酵素であるチロシン水酸化酵素 (TH) やドーパミン β 水酸化酵素 (DBH) などの遺伝子を標的とした qPCR にて行った (図 7C)。本実験として、6 ヶ月齢の野生型マウスと $A\beta$ 病理モデルマウスの青斑核に Ribo-Tag 発現 AAV ベクターの投与を行い、3 週間後に青斑核を摘出、青斑核神経細胞特異的な RNA を回収し RNA シークエンス解析を実施した。

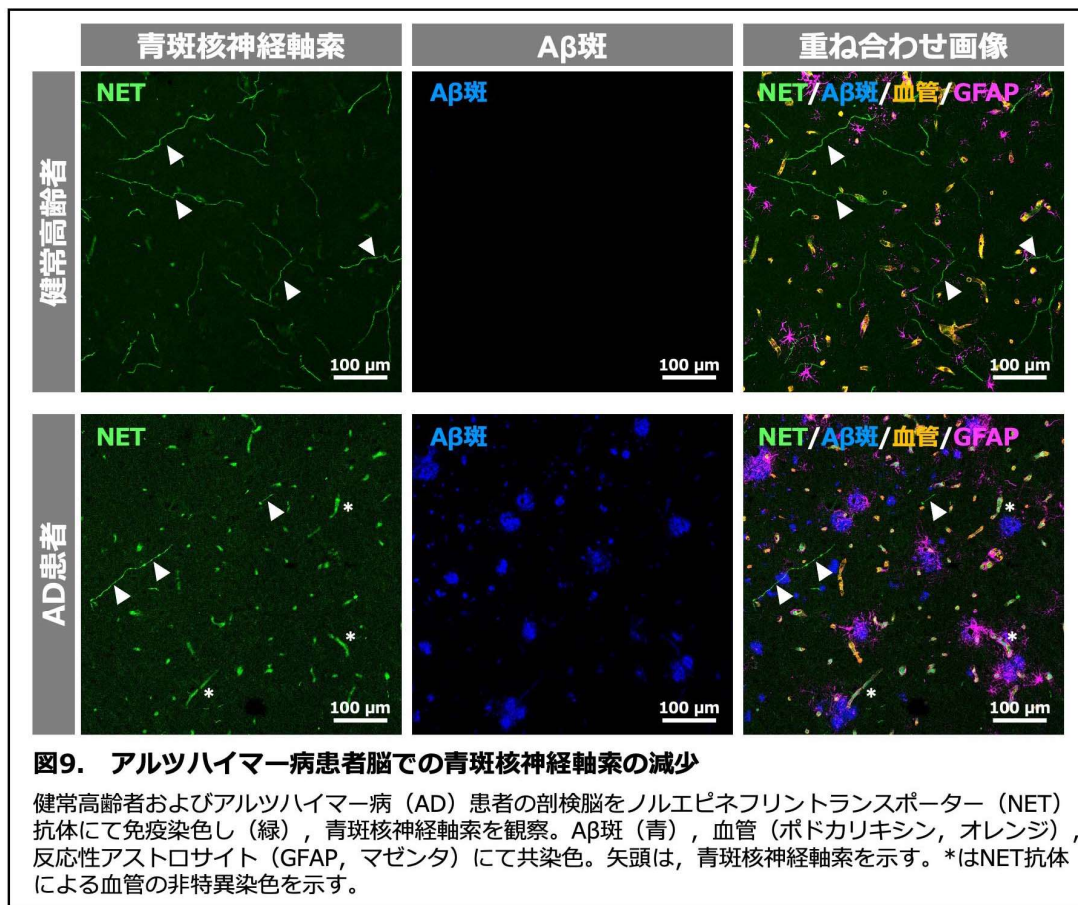


その結果、発現上昇遺伝子を 356 遺伝子、発現低下遺伝子を 635 遺伝子 (有意水準 $p < 0.05$) 同定した (図 8A, 次ページ)。その後、同定した発現変動遺伝子を用いてパスウェイ解析を行い、遺伝子 H や遺伝子 I のシグナル伝達、分子シャペロンやコレステロール代謝に関わる経路が変化していることを見出した (図 8A)。これらの中で、神経血管ユニットの維持や神経細胞の生存に関わる遺伝子 H や遺伝子 I のシグナル伝達の低下に着目し、 $A\beta$ 病理モデルマウス脳内での遺伝子 H 等のリガンドの分布を免疫組織染色にて調べた。その結果、野生型マウスにおいて、 H の遺伝子産物は脳血管周囲に沿ったアストロサイト終足に分布しているのに対し、 $A\beta$ 病理モデルマウスでは脳血管周囲から $A\beta$ 斑の周辺へと分布が変化していることを見出した (図 8B)。これらの結果と研究計画 1-1) の結果を統合的に考え、 $A\beta$ 病理によりアストロサイトが活性化された結果、神経血管ユニットの構成や細胞間シグナル伝達が乱れて、青斑核神経の軸索変性が惹起される可能性を着想した (図 8C)。現在、

AAV による遺伝子導入法を用いて、A β 病理モデルマウス脳内で、遺伝子 *H* や遺伝子 *I* シグナル伝達経路を賦活化した場合の、軸索変性の保護効果を解析している。



また、2023 年度よりヒト剖検脳を用いて、A β 病理の蓄積と大脳皮質や海馬に投射する青斑核神経の軸索が変性・退縮の関係についての解析を開始した。最初に、国立精神・神経医療研究センターより分与頂いた、認知機能健常の高齢者 (80~90 代) の大脳皮質 (第一、第二前頭回) のパラフィン切片を用い、青斑核神経軸索を標識するためノルエピネフリントランスポーター (NET) 抗体、A β 抗体、アストロサイトや血管を標識する各種マーカー抗体、アミロイド染色試薬などの染色性の確認や抗原賦活化の条件など、染色プロトコールの最適化を行った。次に、東京都健康長寿医療センターより、A β 病理を呈さない認知機能健常の若齢者 (20~40 代)、A β 病理を呈さない認知機能健常の高齢者、A β 病理を呈する認知機能健常の高齢者、そして AD 患者 (ともに 50~70 代) の大脳皮質 (第二前頭回) のパラフィン切片を分与いただき、青斑核神経軸索などを標識した (図 9, 次ページ)。まず、健常高齢者の脳では A β 斑やアストロサイト活性化は認めず、青斑核神経軸索が維持されていることを確認した (図 9 上段, 健常高齢者)。さらに、青斑核神経細胞が脱落した AD 患者の脳では、予想されたように青斑核神経の軸索が顕著に減少していることを見出した (図 9 下段, AD 患者)。現在、青斑核神経細胞が脱落する前から、A β 病理の形成や神経炎症により青斑核神経の軸索の変性が生じるかを調べるために、A β 病理を呈する認知機能健常の高齢者の大脳皮質、また、老化が青斑核神経軸索のインテグリティへ及ぼす影響を調べるために、認知機能健常の若年者の大脳皮質のパラフィン切片を用いて、解析を進めている。



研究計画 4 : AD 初期の中核病理を模す新規モデル動物開発 (分担:関谷, 4-2 と 4-3)

4-1) 青斑核ノルアドレナリン神経タウ病理モデルマウスの開発

APPNLGF-KI マウスは大脳皮質に Aβ 病理を呈するが, AD の初期に見られる皮質下青斑核のタウ病理を呈さない (論文発表, *Journal of Alzheimer's Disease*, 2021, 82(4):1513-1530)。そこで, マウスの青斑核にタウ病理を再現するために, ヒトタウ (0N4R 型) を青斑核神経細胞特異的な PRS×8 プロモーター下で発現する AAV を作製した。AAV を投与するマウスとして, ヒトタウ病理をより忠実に再現するために, APPNLGF-KI マウスの内在性タウをヒト化したダブルノックインマウス (APPNLGF-KI/Tau-KI マウス) を作製した。作製したヒトタウ発現 AAV は, ヒトタウノックイン (Tau-KI) マウスの青斑核に投与して, 青斑核の神経細胞体ならびに大脳皮質の投射軸索でタウの高発現できることを確認した後, Tau-KI マウス, ならびに APPNLGF-KI/Tau-KI の青斑核へ投与を行なった。投与から 6 および 12 ヶ月後に脳組織を回収し, 凍結脳切片を作製, 免疫組織染色にて, 1) ヒトタウ発現 AAV の投与により青斑核神経の細胞体にタウ病理が形成されること, 2) これらのタウは, Thioflavin S の染色に対し陰性であること, さらに 3) 青斑核神経細胞の顕著な脱落は見られないことを見出した。現在, Aβ 病理の増悪化により青斑核のタウ病理が海馬や大脳皮質へと拡大するかについて解析を進めている。

4-2) ノルアドレナリン・オクトパミン神経タウ病理モデルショウジョウバエの開発

青斑核ノルアドレナリン神経には正常老化の最初期にタウ病理が出現し、他の脳領域へのタウ病理伝播の起点となっている可能性が指摘されている。また、中枢ノルアドレナリン神経系は、情動や認知機能、ストレス反応、さらに睡眠・覚醒の制御に関わることから、その変性脱落は、AD 初期に見られる症状の原因になると考えられる。従って、老化に伴う青斑核ノルアドレナリン神経細胞へのタウ蓄積や神経細胞死を防ぐことは、重要な先制治療標的と考えられるが、その分子機序は不明である。そこで、タウ蓄積や神経変性に関わる因子を効率的に探索するために、新規モデルショウジョウバエを作製した。

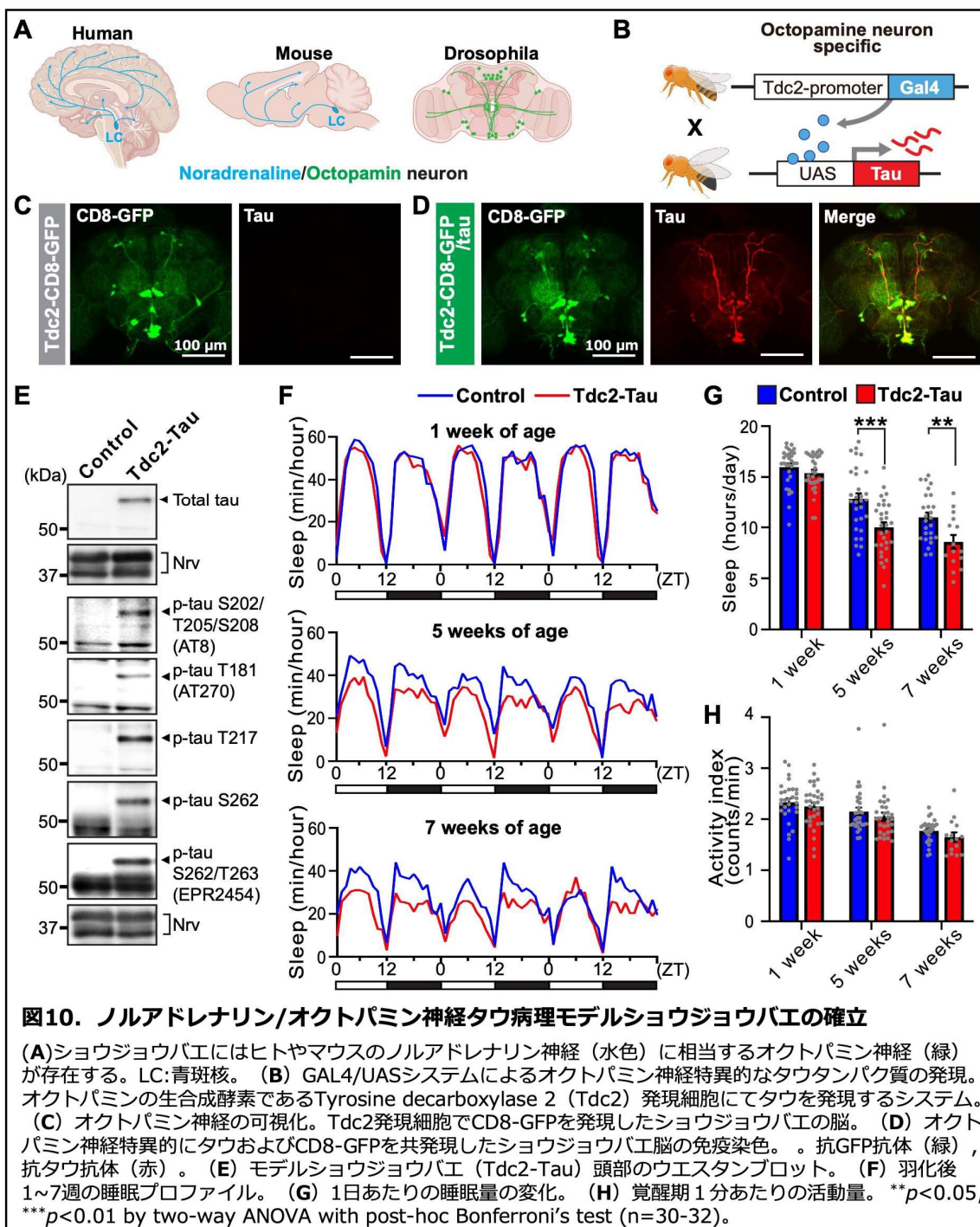
ショウジョウバエには、ヒトのノルアドレナリン神経に相当するオクトパミン神経が存在する (図 10A, 次ページ)。そこで、オクトパミンの生合成酵素である Tyrosine decarboxylase 2 (Tdc2) を発現するオクトパミン神経特異的にヒトタウを発現する新規モデル (オクトパミン-タウモデル, 図中では Tdc2-Tau と記載) を作製した (図 10B-D)。このモデルショウジョウバエでは、AD のタウ病理で蓄積が見られる p-tau 202/205/208, p-tau 181, p-tau 217, p-tau 262 などのリン酸化タウが認められ (図 10E), 生存率の有意な減少も認められた。オクトパミン-タウモデルショウジョウバエにおいても、コントロールと同様に加齢に伴う睡眠時間の減少が認められ、羽化後 5 週齢および 7 週齢においては、コントロールと比較して睡眠時間の減少が増悪することを見出した (図 10G)。一方、覚醒期の 1 分間あたりの活動量 (Activity index) は、コントロールとオクトパミン-タウモデルの間で変化が認められないことから (図 10H), オクトパミン神経特異的なヒトタウの発現は、覚醒期の活動量には変化を与えず、加齢依存的な睡眠量の減少を増悪することが示された (論文投稿準備中)。

現在、このモデルを用いて、タウの蓄積やリン酸化レベルを変化させる遺伝子の探索や、オクトパミン神経活動と睡眠量、タウ蓄積との関係について調べており、老化に伴う睡眠量の変化と、青斑核神経細胞におけるタウ病理の形成の関係の解明につなげたいと考えている。

4-3) 新規 A β 病理モデルショウジョウバエの開発

これまでに、脳神経細胞でヒト A β を産生・分泌する新規モデルショウジョウバエを作製した。この系を用いる利点は、A β 斑形成前の単量体 A β の産生、分解、排出に関わる遺伝子群を効率的に同定できることにある。現在、このモデルを用いたグリア細胞での RNA シーケンスも実施しており、今後、A β の産生、分解、排出に関わるグリア細胞機能の同定を行う予定である。また、本モデルショウジョウバエを用い、研究計画 1 で同定したアストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークの Causal regulator 遺伝子の A β 毒性に対する効果も検討している (論文準備中)。さらに、研究計画 1 で同定したアストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークの構成遺伝子の中から、AD の治療薬標的となりうる

アストロサイト食食機能に関わる遺伝子を効率的に探索するために、グリア細胞による傷害神経の食食活性を評価するショウジョウバエモデルを確立した（論文発表, *iScience*, 2023, 26(2): 105968）。



D. 考察と結論

本研究は、アルツハイマー病 (AD) 発症初期の病態メカニズム解明から、先制治療法開発のための治療標的やバイオマーカーの同定を目的としている。これまでに、AD 患者脳由来の加重遺伝子共発現ネットワーク解析と A β 病理モデルマウス脳から取得した遺伝子発現データを統合し、A β 病理の蓄積が惹起する脳病態の形成に関わる遺伝子ネットワークを同定した。本研究では、アストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークに着目して研究を進めた。

研究計画 1 の 1-1) では、A β 病理モデルマウスを用いて、A β 病理に対するアストロサイトの慢性的な活性化が、神経血管ユニットの構成を破綻させ、神経突起変性や認知機能低下を引き起こすという仮説の検証を行った。これまでに見出した、反応性アストロサイトの活性化に関わる分子群や、AQP4、遺伝子 *D* や遺伝子 *E* 等のアストロサイト終足で機能する分子が、AD 剖検脳でも A β 斑周囲に局在変化することを見出した (論文準備中)。これらの分子群が AD 初期の脳病態の形成に果たす役割を明らかにすることで、神経炎症を起点とする神経血管ユニットの破綻を防ぐ治療標的を同定できると考えている。

研究計画 1 の 1-2) では遺伝子ネットワーク解析から、AD 病態の修飾因子ならびに治療薬標的の候補として、遺伝子 *A* を選定し研究を進めた。遺伝子 *A* は、糖尿病治療薬や血管拡張薬の標的として知られている。また遺伝子 *A* は、細胞をストレスから保護する機能を持ち、AD 患者脳ならびに A β 病理モデルマウスの脳内で発現が上昇していることから、AD 病態に対して保護的に働く可能性が考えられる。そこで、遺伝子 *A* ヘテロ欠損マウスと A β 病理モデル (APP^{NLGF-KI}) マウスを交配し、加齢飼育して脳病理を解析した。その結果、遺伝子 *A* のヘテロ欠損による機能低下は、血管周囲の周皮細胞の肥大化や微小脳出血を引き起こし、神経血管ユニットのインテグリティを低下させることを見出した。さらに、遺伝子 *A* のヘテロ欠損により神経・シナプス関連遺伝子の低下が、増悪することを見出した。以上の結果から、遺伝子 *A* は A β 病理が引き起こす脳病態の修飾因子であり、その機能増強は治療標的となる可能性を見出した (論文準備中)。

一方で、遺伝子 *A* の脳組織での発現量を上昇させる一塩基遺伝子多型は、海馬の萎縮と TAR-DNA binding protein 43 (*TARDBP*/TDP-43) の蓄積を特徴的な脳病理とする、加齢性海馬硬化症のリスク因子であることが報告されている。TDP-43 病理は AD 患者の一部でも見られることから、遺伝子 *A* の発現上昇は、TDP-43 病理を呈する認知症サブタイプに対しては増悪因子として働く可能性が考えられる。遺伝子 *A* の欠損により TDP-43 が引き起こす神経毒性が抑制されるかを、ショウジョウバエモデルを用いて検討したところ、遺伝子 *A* のショウジョウバエ相同遺伝子のヘテロ欠損により、神経変性が抑制され TDP-43 の凝集体が減少することを見出した (論文準備中)。さらに、ヒト遺伝子 *A* ならびにハエ遺伝子 *B* への阻害作用を持つ薬剤をショウジョウバエに混餌投与することで、用量依存的に複眼の変性が抑制され、TDP-43 の凝集体量が減少することを見出した (論文準備中)。遺

伝子 *A* の阻害が TDP-43 の凝集や毒性を抑制するメカニズムの解明は、TDP-43 が関与する様々な神経変性疾患の発症メカニズムから治療法の開発につながると考え、モデルマウス、ヒト細胞を用いて継続して研究を進めていく。

研究計画 1 の 1-3) では、AD プレクリニカル期の血液バイオマーカーとして近年注目を集めているリン酸化タウが反映する脳病態を明らかにするために、AD のプレクリニカル期を模す A β 病理モデルマウスと野生型マウスの脳組織を用いた免疫組織染色を行い、p-tau 217 と p-tau 231 のシグナルが、A β 病理の周辺で肥大化した興奮性神経のシナプス後部に特異的に出現することを見出した (論文発表, *Brain Communications*, 2022 Nov 6;4(6))。また、従来から汎用されている p-tau 181 は、有髄神経の、Parvalbumin 陽性 GABA 作動性抑制性神経に局在し、A β 病理によって引き起こされる神経突起変性を反映している可能性を見出した (論文発表, *Journal of Alzheimer's Disease*, 93:1065-1081, 2023)。現在、上記の A β 病理モデルマウスで見出した結果が、ヒト剖検脳でも認められるかについての検証を進めており、プレクリニカル期から AD 初期の血液バイオマーカーであるリン酸化タウ (p-tau 217, p-tau 231, p-tau 181) と、ヒト脳内において A β 病理が引き起こす病態との関係を明らかにできると考えている。これまでに、プレクリニカル期から AD 初期の血液バイオマーカーである p-tau 217 が、ヒト脳においても A β 病理周辺で生じるシナプス変性を反映している可能性を見出した (投稿準備中)。

研究計画 2 では、AD 初期の抑制性介在神経の変性機序に関わる遺伝子として、抑制性介在神経の生存に関わる転写因子、遺伝子 *C* に着目して研究を進めた。AD 初期に大脳皮質で見られる神経変性には、A β 病理が惹起する神経炎症が関わると考えられる。研究計画 1 で着目したアストロサイト・神経血管ユニット遺伝子ネットワークには遺伝子 *C* が含まれており、また最近、遺伝子 *C* の欠損によりアストロサイト・神経間のコミュニケーションが抑制され、大脳皮質のシナプス密度が減少することも報告された。そこで、抑制性介在神経の変性への遺伝子 *C* の関与を検証するために、遺伝子 *C* の欠損マウスと A β 病理モデル (APP^{NLGF-KI}) マウスと交配し、得られたヘテロ接合体マウスを加齢飼育し、脳病理解析ならびに遺伝子発現解析を行なった。遺伝子 *C* のヘテロ欠損による細胞数の減少は見られなかったが、大脳皮質、海馬での遺伝子発現解析から、神経突起の伸長やシナプス機能に関連する遺伝子群の低下がより顕著に見られ、特にカテコールアミン神経の分泌低下や、興奮性神経の活性の変化が示唆された。ヒト剖検脳を用いた解析を含めて、より詳細な解析を継続し論文発表につなげる。

研究計画 3 では、AD 発症前・初期の A β 病理モデル (APP^{NLGF-KI}) マウスを用いて、青斑核が脱落する前に、大脳皮質や海馬に投射した青斑核神経の軸索が変性・退縮することを見出した (論文発表, *Journal of Alzheimer's Disease*, 2021, 82(4):1513-1530)。本年度は、ヒト剖検脳を用いて、A β 病理の蓄積と、大脳皮質に投射する青斑核神経軸索の変性・退縮の関係についての解析を開始した。これまでに、健常高齢者の脳では青斑核神経軸索

が維持されていること、青斑核が脱落した AD 患者の脳では、予想されたように青斑核神経の軸索が顕著に減少していることを確認した。今後、A β 病理を呈さない認知機能健常の若齢者 (20~40 代)、A β 病理を呈する認知機能健常の高齢者 (50~70 代) の解析を進めることで、老化、ならびに A β 病理の蓄積と、大脳皮質に投射する青斑核神経の軸索が変性・退縮の関係を明らかにできると考えている (論文準備中)。

さらに、A β 病理下で軸索が変性した青斑核神経細胞における遺伝子発現解析を行い、神経保護的に働く複数のシグナル経路が低下していることを見出した。現在、AAV による遺伝子導入法を用いて、A β 病理モデルマウス脳内でシグナル伝達経路を賦活化し、軸索変性への保護効果を解析し、治療標的の探索を進めている (論文準備中)。

研究計画 4-1 では、AD 発症前・初期の脳病理をより忠実に再現するモデルマウスを確立するために、正常老化ならびに AD で最初にタウ病理が出現する青斑核ノルアドレナリン神経に着目して、大脳皮質に A β 病理を呈し、かつ青斑核にタウ病理を呈するモデルマウスの作製を進めた。ヒトタウ (0N4R 型) をマウス青斑核に特異的に発現できる AAV を作製し、A β 病理モデル (APP^{NLGF-KI}) マウスの内在性タウをヒト化したダブルノックインマウス (APP^{NLGF-KI}/Tau-KI マウス) の青斑核に投与した。現在までに、1) AAV 投与により青斑核神経の細胞体へタウ病理が形成されること、2) これらのタウは、Thioflavin S 染色に対し陰性であること、さらに 3) 顕著な青斑核神経の細胞脱落は見られないこと等を見出し、現在、A β 病理の増悪による海馬や大脳皮質へのタウ病理拡大について解析を進めている (論文準備中)。これらの結果に基づいて、さらなる改良点を考察し、AD 発症前・初期の脳病理をより忠実に再現するモデルマウスの開発を進め、AD 発症前・初期のバイオマーカーや治療薬探索等のトランスレーショナル研究に利用できる新規モデルマウスの確立につなげる。

また研究計画 4-2 では、ショウジョウバエのノルアドレナリン神経に相当するオクトパミン神経にヒトタウを発現する新規モデルショウジョウバエを確立し、加齢依存的な睡眠量の減少がタウにより増悪化することを見出した (論文準備中)。このモデルを用いて、青斑核へのタウ蓄積のメカニズムや、老化や AD での睡眠障害とタウ病理形成の関係を明らかにできると考えている。

研究計画 4-3 では、脳神経細胞でヒト A β を産生・分泌する新規モデルショウジョウバエを作製し、A β の分解や蓄積に関わる因子のスクリーニングを進めている。さらに、グリア細胞による傷害神経の貪食活性を評価するショウジョウバエモデルを確立し (論文発表, *iScience*, 2023, 26(2): 105968), 老化に伴うグリア貪食活性の低下を抑止する遺伝子や栄養因子の探索を進めている。

本研究により、AD 発症の前・初期に起こる脳病態の形成機序を解明し、AD 脳病態の進行を詳細に検出できる病態マーカーや、神経変性を未然に防ぐ予防・治療薬の標的を同定することで、国民の保険・医療・福祉の向上等、大きな社会的成果が挙げられると期待で

きる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

2021 年度

- 1) **Sekiya, M., Iijima, K.M.** Phenotypic analysis of a transgenic *Drosophila* model of Alzheimer's amyloid- β toxicity. *STAR Protocols*. 2021, 2(2):100501. doi: 10.1016/j.xpro.2021.100501.
- 2) Sakakibara, Y., Hirota, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Chikamatsu, S., Tsubokawa, Y., Saito, T., Saido, T.C., **Sekiya M., Iijima K.M.** Widespread Reduced Density of Noradrenergic Locus Coeruleus Axons in the *App* Knock-In Mouse Model of Amyloid- β Amyloidosis. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2021, 82(4):1513-1530. doi: 10.3233/JAD-210385.
- 3) Nozawa, N., Noguchi, M., Shinno, K., Tajima, M., Aizawa, S., Saito, T., Asada, A., Ishii, T., Ishizuka, M., **Iijima, K.M.**, Ando, K. 5-aminolevulinic acid and sodium ferrous citrate ameliorate muscle aging and extend healthspan in *Drosophila*. *FEBS Open Bio*. 2022, 12(1):295-305. doi: 10.1002/2211-5463.13338.
- 4) **関谷倫子, 飯島浩一**, 治療戦略から考えるアルツハイマー病の神経炎症, *生体の化学*, 72 (5) 446-449. 2021 年 10 月 15 日発行

2022 年度

- 1) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., **Iijima, K.M., Sekiya, M.**, Distinct brain pathologies associated with Alzheimer's disease biomarker-related phospho-tau 181 and phospho-tau 217 in *App* knock-in mouse models of A β amyloidosis. *Brain Communications*. 2022, 4(6):fcac286. doi:10.1093/braincomms/fcac286.
- 2) Sakakibara, Y., Yamashiro, R., Chikamatsu, S., Hirota, Y., Tsubokawa, Y., Nishijima, R., Takei, K., **Sekiya M., Iijima K.M.** *Drosophila Toll-9* is induced by aging and neurodegeneration to modulate stress signaling and its deficiency exacerbates tau-mediated neurodegeneration. *iScience* 2023, 26:105968.

2023 年度

- 1) Hirota Y., Sakakibara Y., Takei K., Nishijima R., **Sekiya M., Iijima K.M.**, Alzheimer's disease-related phospho-tau181 signals are localized to demyelinated axons of parvalbumin-positive GABAergic interneurons in an *App* knock-in mouse model of amyloid-pathology. *Journal of Alzheimer's Disease*, 93:1065-1081, 2023.
- 2) Maruko A., **Iijima K.M.**, and Ando K. How the daily feeding pattern is generated: the feeding/fasting episodes are generated by peripheral CLOCK/CYCLE proteins

and synchronized by neuronal molecular clocks. *iScience*, Oct 6;26(11):108164, 2023.

3) Shinno K., Miura Y., **Iijima K.M.**, Suzuki, E., and Ando, K. Axonal distribution of mitochondria maintains neuronal autophagy during aging via eIF2b. *eLife*, <https://doi.org/10.7554/eLife.95576.1>

4) **関谷倫子**, **飯島浩一**, アルツハイマー病の遺伝学的リスク因子と診断・治療への薬理遺伝学的な意義 (最前線), *ファルマシア*, 60 (3), 197-202, 2024 年 3 月号

2. 学会発表

2021 年度

1) 山城梨沙, **関谷倫子**, **飯島浩一**, ショウジョウバエの食餌制限によるグリア貪食能低下と貪食能への必須アミノ酸の役割, 第 85 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム 2021 年 5 月 22 日, オンライン開催

2) Sakakibara, Y., Hirota, Y., Chikamatsu, S., Ibaraki, K., Takei, K., Zhou, M., Abe, H., **Sekiya, M.**, **Iijima, K.M.** Cognitive function and brain pathology in mice with a heterozygous deficiency in *ABCC9/SUR2*, a gene associated with hippocampal sclerosis of aging., Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2021) 7/26-30, 2021, WEB 開催

3) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., **Iijima, K.M.**, **Sekiya, M.**, Localization of AD biomarker phospho-tau proteins in the brains of *App* knock-in mouse model of A β amyloidosis. Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2021)7/26-30, 2021, WEB 開催

4) 山城梨沙, **関谷倫子**, **飯島浩一**, ショウジョウバエの食餌制限によるグリア貪食能低下に寄与する食餌因子の探索, 第 94 回日本生化学会大会, 2021 年 11 月 3-5 日, WEB 開催

5) **関谷倫子**, Wang Minghui, 権秀明, Schadt Eric, Brennand Kristen, Zhang Bin, **飯島浩一**, 遺伝子ネットワーク解析によるアルツハイマー病の治療薬探索, 第 94 回日本生化学会大会, 2021 年 11 月 3 日, WEB 開催, シンポジウム: 認知症発症のリスクとメカニズムの多様性, アルツハイマー病の高精度診断法と治療法開発に向けて

6) 榎原泰史, 廣田湧, 近松幸枝, 茨木京子, 竹井喜美, 周明, 阿部寛, **関谷倫子**, **飯島浩一**, 加齢性海馬硬化症関連遺伝子 *ABCC9* のヘテロ欠損マウスにおける認知機能と脳病理の解析, 第 40 回日本認知症学会学術集会, 2021 年 11 月 26-28 日, ハイブリッド開催

7) 廣田 湧, 榎原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, **飯島浩一**, **関谷倫子**, *App* ノックインマウスにおける AD バイオマーカー関連リン酸化タウの脳内局在解析, 第 40 回日本認知症学会学術集会, 11/26-28, 2021, ハイブリッド開催, ポスター発表

8) 近松幸枝, 坪川陽子, 西島里咲, 糸和彦, **飯島浩一**, **関谷倫子**, ノルアドレナリン/オクトパミン神経細胞タウ毒性モデルショウジョウバエの作製と解析, 第 40 回日本認知症学会学術集会, 11/26-28, 2021, ハイブリッド開催, ポスター発表

2022 年度

1) 山城梨沙, 榎原泰史, 近松幸枝, 坪川陽子, 西島里咲, 竹井喜美, **関谷倫子**, **飯島浩一**, ショウジョウバエ Toll 受容体 9 は自然免疫応答には影響を与えず JNK シグナル伝達経路を調節し神経保護作用を発揮する, 第 86 回 日本生化学会 中部支部例会, シンポ

ジウム, 2022年5月21日, オンライン開催

2) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Iijima, K.M., Sekiya, M., A β 病理モデルマウスを用いたアルツハイマー病血液バイオマーカーリン酸化タウ181, 217, 231の脳内局在解析, Brain pathologies associated with phospho-tau 181, 217 and 231, fluid biomarkers for Alzheimer's disease, in *App* knock-in mouse models of A β amyloidosis, Neuro2022 (第45回日本神経科学大会, 第65回日本神経化学会大会, 第32回日本神経回路学会大会, 合同), 2022年6月30日, 沖縄

3) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Nishijima, R., Iijima, K.M., Sekiya, M., Reduced density of cholinergic fibers in *App* knock-in mouse models of A β amyloidosis, Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2022) 7/31-8/4, 2022, San Diego,ハイブリッド開催

4) Sakakibara, Y., Yamashiro, R., Chikamatsu, S., Tsubokawa, Y., Nishijima, R., Takei, K., Iijima, K.M., Sekiya, M., A *Drosophila* ortholog of Toll-like receptors modulates c-Jun N-terminal kinase signaling and protects against tau-mediated neurodegeneration independent of innate immune response, Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2022) 7/31-8/4, 2022, San Diego,ハイブリッド開催

5) 関谷倫子, 廣田 湧, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 飯島浩一, アミロイド病理モデルマウスを用いたアルツハイマー病血液バイオマーカーリン酸化タウ181, 217, 231の脳内局在解析, 第95回日本生化学会大会 シンポジウム, 認知症の complexity: その理解と治療介入へ向けて, 2022年11月10日, 名古屋国際会議場

6) 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一, 加齢ショウジョウバエの脳内浄化システムと寿命制御に関わるグリア細胞由来分泌因子の同定と解析, 第95回日本生化学会大会, 口頭発表 2022年11月9日, ポスター発表 2022年11月11日, 名古屋国際会議場

7) 真野叶子, 鈴木えみ子, 三浦ゆり, 飯島浩一, 安藤香奈絵, 神経細胞内ミトコンドリア局在は翻訳開始因子 eIF2 を介してオートファジーを制御する, 第95回日本生化学会大会, 口頭発表 2022年11月11日, ポスター発表 2022年1月10日, 名古屋国際会議場

8) 廣田 湧, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 西島里咲, 飯島浩一, 関谷倫子, A β 病理を呈する *App* ノックインマウスにおけるコリン作動性神経軸索の変性, 第41回日本認知症学会学術集会/第37回日本老年精神医学会, ポスター発表 2022年11月26日, 東京国際フォーラム

9) 榊原泰史, 廣田 湧, 茨木京子, 竹井喜美, 西島里咲, 田部勝也, 谷澤幸生, 関谷倫子, 飯島浩一, ウォルフラム症候群の原因遺伝子 WFS1 の欠損が加齢性脳病理に及ぼす影響の解析, 第41回日本認知症学会学術集会/第37回日本老年精神医学会, ポスター発表 2022年11月25日, 東京国際フォーラム

10) 近松幸枝, 坪川陽子, 西島里咲, 竹井喜美, 桑 和彦, 飯島浩一, 関谷倫子, ノルアドレナリン/オクトパミン神経に着目したタウ毒性モデルショウジョウバエの確立, 第41回日本認知症学会学術集会/第37回日本老年精神医学会, ポスター発表 2022年11月25日, 東京国際フォーラム

11) 菊地正隆, 廣田 湧, 原 範和, 榊原泰史, 関谷倫子, 宮下哲典, 池内 健, 飯島浩一, 網羅的遺伝子発現解析によるアルツハイマー病早期変動遺伝子の同定, 第41回日本認知症学会学術集会/第37回日本老年精神医学会, ポスター発表 2022年11月25日, 東京国際フォーラム, ポスター発表 11月25日, 東京国際フォーラム

12) Sakakibara, Y., Yamashiro, R., Chikamatsu, S., Tsubokawa, Y., Nishijima, R.,

Takei, K., **Sekiya, M.**, **Iijima, K.M.**, Toll-like receptor exerts neuroprotection through p38 MAPK/SAPK in *Drosophila* model of tauopathy, Alzheimer's & Parkinson's Diseases Conference (AD/PD 2023), 3/28-4/1, 2023, Gothenburg, Sweden, ハイブリッド開催

13) Hirota, Y., Sakakibara, Y., Ibaraki, K., Takei, K., Nishijima, R., **Sekiya, M.**, **Iijima, K.M.**, Biomarker-related phospho-tau 181 signals localize to axons of myelinated neurons but not unmyelinated neurons in *App* knock-in mouse, Alzheimer's & Parkinson's Diseases Conference (AD/PD 2023), 3/28-4/1, 2023, Gothenburg, Sweden, ハイブリッド開催

14) Chikamatsu, S., Tsubokawa, Y., Nishijima, R., Takei, K., Kume, K., **Iijima, K.M.**, **Sekiya, M.**, A *Drosophila* model of tau accumulation in noradrenaline/octopamine neurons, Alzheimer's & Parkinson's Diseases Conference (AD/PD 2023), 3/28-4/1, 2023, Gothenburg, Sweden, ハイブリッド開催

2023 年度

1) 廣田 湧, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 西島里咲, **飯島浩一**, **関谷倫子**, アミロイドβ病理モデルマウスを用いたアルツハイマー病バイオマーカー関連リン酸化タウ181, 217, 231の脳内局在解析, 6NC リトリート (第31回 日本医学会総会), ポスター発表, 2023年4月22日, 東京国際フォーラム

1) Hirota Y., Sakakibara, Y., Takei, K., Nishijima, R., **Sekiya, M.**, **Iijima, K.M.**, Alzheimer's disease biomarker-related phospho-tau 181 signals localize to demyelinated axons of parvalbumin-positive GABAergic interneurons in *App* knock-in mouse models of amyloid-β amyloidosis, IAGG Asia/Oceania Regional Congress 2023, ポスター発表, 2023年6月12-14日, パシフィコ横浜ノース

2) Hirota Y., Sakakibara Y., Takei K., Nishijima R., **Iijima K.M.**, **Sekiya M.**, Alzheimer's disease biomarker-related phospho-tau 181 signals localize to demyelinated axons of parvalbumin-positive GABAergic interneurons in *App* knock-in mouse, AAIC2023, 2023年7月16-20日, ハイブリッド開催 (オランダ・アムステルダム)

3) Sakakibara Y., Hirota Y., Ibaraki K., Takei K., Nishijima R., **Sekiya M.**, **Iijima K.M.**, Reduced density of serotonergic axons without prominent neuron loss or tau pathology in the dorsal raphe nucleus in *App* knock-in mouse models of amyloid-β pathology, AAIC2023, 2023年7月16-20日, ハイブリッド開催 (オランダ・アムステルダム)

4) Kikuchi M., Miyashita A., Hirota Y., Hara N., Hasegawa M., Sakakibara Y., **Sekiya M.**, Saito Y., Murayama S., **Iijima K.M.**, Ikeuchi T., Omics analysis of Alzheimer's disease stratified by the microglial polygenic effect, AAIC2023, 2023年7月16-20日, ハイブリッド開催 (オランダ・アムステルダム)

5) Hirota Y., Sakakibara Y., Takei K., Nishijima R., **Sekiya M.**, **Iijima K.M.**, Alzheimer's disease biomarker-related phospho-tau181 signals are localized to myelinated axons of parvalbumin-positive interneurons in an *App* knock-in mouse model of amyloid-β pathology, 第46回日本神経科学大会, 2023年8月1-4日, 宮城県仙台市 仙台国際センター

6) 廣田 湧, アミロイド病理を反映するアルツハイマー病バイオマーカーリン酸化タウの脳内局在, タウ研究会 2023, 2023年8月18-19日, 愛知県名古屋市 名古屋市立大学桜山キャンパス・さくら講堂

- 7) 廣田 湧, 榊原泰史, 竹井喜美, 西島里咲, 飯島浩一, 関谷倫子, アルツハイマー病のプレクリニカル期を検出する血液バイオマーカーリン酸化タウの脳内局在解析, 第8回サマーリサーチセミナー, 2023年8月24日, 愛知県大府市 国立長寿医療研究センター
- 8) 飯島浩一, アルツハイマー病の発症機序の理解と診断・治療薬開発の現状「神経機能の理解に基づく神経変性疾患・認知症の発症機構解明, 早期診断法開発, 新規治療法の実用化」北海道大学大学院薬学研究院 公開シンポジウム 2023年9月12日 2 北海道大学, 札幌
- 9) 飯島浩一, 遺伝子ネットワークと神経回路の解析からアルツハイマー病の発症機序を読み解く, 第39回IBSセミナー, 口頭発表, 2023年9月27日, オンライン (名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経科学研究所)
- 10) 近松幸枝, 西島里咲, 竹井喜美, 桑和彦, 飯島浩一, 関谷倫子, ノルアドレナリン/オクトパミン神経にヒトタウを発現するショウジョウバエモデルを用いた新規タウリン酸化酵素 salt-inducible kinase 3 の同定, 第96回日本生化学会大会, 口頭発表・ポスター発表, 2023年10月31日, 福岡国際会議場
- 11) 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一, 老齡ショウジョウバエ脳においてグリア貪食機能を制御・維持するメカニズムの解明, 第96回日本生化学会大会, ポスター発表, 2023年10月31日, 福岡国際会議場
- 12) 飯島浩一, イントロダクション, グリア多様性の理解に基づく精神・神経変性疾患の機序解明と治療法開発, 第96回日本生化学会大会, シンポジウム口頭発表, 2023年10月31日, 福岡国際会議場
- 13) 榊原泰史, 廣田湧, 茨木京子, 竹井喜美, 西島里咲, 関谷倫子, 飯島浩一, アミロイド病理モデルマウスにおける縫線核セロトニン作動性神経の変性機序の解析, 第42回日本認知症学会学術集会, ポスター発表, 2023年11月24日, 奈良県コンベンションセンター/JW マリオット・ホテル奈良
- 14) 廣田 湧, 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 西島里咲, 飯島浩一, 関谷倫子, 脳内のA β 病理を反映する血液・髄液バイオマーカーリン酸化タウの脳内局在解析, 第42回日本認知症学会学術集会, ポスター発表, 2023年11月25日, 奈良県コンベンションセンター/JW マリオット・ホテル奈良
- 15) 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一, 老化に伴うグリア細胞貪食能の低下と食餌が与える影響について ~ショウジョウバエを用いた検討~, 第8回東海地区連携拡大ワークショップ, 口頭発表, 2023年12月9日, 名古屋市立大学
- 16) Sakakibara, Y., Sekiya, M., Iijima, K.M., Mechanisms underlying reductions of serotonergic axon projections to the cortex in *App* knock-in mouse model of A β pathology, Alzheimer's & Parkinson's Diseases Conference (AD/PD 2024), Lisbon, Portugal, ハイブリッド開催

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし
3. その他
なし