

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター理事長

水澤英洋

総括研究報告

1. 研究目的

病態機序解明に関する基礎研究と治療・介護・予防に関する臨床研究の協働を通して、認知症克服のための融合的研究を展開する。NCNP病院に設置された認知症センターやAMED関連事業等と連携し、研究の効率化を進め、成果の最大化をめざす。

具体的に、1) 病態機序解明研究として、病因蛋白質の凝集と伝播、それらの制御機構の解明を細胞レベル、動物モデルレベルで行い、予防・治療の標的を見いだす。さらにその成果をもとに、2) 精神科医と神経内科医らによるチームが、脳画像情報、脳脊髄液・血液などバイオリソースから生み出される臨床情報を活用した研究を展開し、治療・予防法の実用化に努める。3) 患者およびその家族を対象とした認知行動療法などを実践し、介護モデルの構築と社会実装を図る。

2. 研究組織

主任研究者

水澤英洋 国立精神・神経医療研究センター
分担研究者

株田智弘 国立精神・神経医療研究センター

荒木敏之 国立精神・神経医療研究センター

長谷川成人 東京都医学総合研究所

永井義隆 大阪大学大学院医学系研究科神経
難病認知症探索治療学寄附講座
(2020.4.1~2020.12.31)

近畿大学医学部脳神経内科
(2021.1.1~2021.3.31)

齊藤勇二 国立精神・神経医療研究センター

松田博史 国立精神・神経医療研究センター

堀越 勝 国立精神・神経医療研究センター

塚本 忠 国立精神・神経医療研究センター

大町佳永 国立精神・神経医療研究センター
研究協力者 (前年度から引き続き研究に従事)

関口正幸 国立精神・神経医療研究センター

功刀 浩 帝京大学医学部精神神経科学講座

3. 研究成果

2018.4.1 から 2021.3.31 のうち 2020.4.1 から 1 年間の成果を記載。

1) 病態解明研究において得られた成果を臨床研究に展開

神経変性疾患における睡眠の質低下の意義を解明

従来は神経変性の進行に伴い睡眠の質が低下すると考えられていたが、睡眠障害(中途覚醒)モデルマウスを作製し、中途覚醒の増加が α シヌクレイン(α -syn)の構造変化とその蓄積を誘導することを明らかにした。さらに、当該モデルマウスの髄液中エクソソーム解析を実行し、中途覚醒の増加に伴い変動する蛋白質を複数同定した。並行して、NCNP通院中のLewy小体病患者をRBD(レム睡眠行動異常症)先行群、RBD後発群、RBD非発症群に分け患者脳脊髄液全液及びエクソソームのオミックス解析を実施した。現在、患者、モデルマウスに共通して変動する蛋白質の解析を進めている。

脳画像評価に基づくアルツハイマー病病理の解析

タウ沈着が脳の構造的連結性に与える影響を解析した。アミロイドPET陽性の健忘型軽度認知障害/軽度アルツハイマー型認知症(ADスペクトル群)18例、アミロイドPET陰性で認知機能正常の高齢者(CN群)35例にタウPETイメージングを行い、さらに各群でT1強調全脳MRI灰白質画像を抽出した。2mm立方のボクセルをX,Y,Z方向に3ボクセルずつ重ねた27ボクセルからなる立方体を全脳で作製し、立方体間の灰白質分布類似性からグラフ理論に基づき、構造ネットワーク画像(媒介中心性、クラスタ係数、特徴的経路長、次数)を作成した。CN群では、デフォルトモードネットワーク(DMN)において大脳全体のタウ沈着は軽度であるがその増加とともに構造的連結性の増加が示された。ADスペクトル群ではDMNにおいて大脳全体のタウ沈着はCN群に比べ顕著でその増加とともに構造的連結性の低下を認めた。タウの沈着は初期の神経細胞障害または正常な老化に伴う慢性炎症に対する代償的応答を誘導するが、アミロイドの共存は構造的連結性を変えることに作用すると考えられる。

アルツハイマー病病理と睡眠の関連性を明らかにするため、ヒト型APPノックイン($App^{NL-G-F/KI}$)マウスとMPT KIマウスとを掛け合わせダブルノックインマウス($App^{NL-G-F/MAPT dKI}$ マウス)を作製した。MPT KIマウスでのCaMKK2阻害剤投与や発現抑制ベクターの導入によりリン酸化タウが増加す

ることを明らかにした。*App^{NL-G-FI}/MAPT* DK1マウスに対してCaMKK2の発現抑制ベクターの導入実験を行い、その解析を行った。タウの挙動に関しては、基本的には*MAPT*K1マウスの結果と同様であった。また、CaMKK2の発現抑制ベクター投与群の海馬において、脳内に含まれるA β の量が増加した。

伝播機序の解明と末梢由来原因蛋白質が脳機能に与える影響解析

ロテノン投与により腸管アウエルバッハ (A) 神経叢ならびに求心性入力部位の迷走神経背側核 (DNV) に α -synが蓄積するモデルを確立した。溶媒投与マウスが陰性であるのに対しロテノン投与マウスでは顕著な抗リン酸化 α -syn抗体陽性シグナルをA神経叢で見出した。非リン酸化 α -synと異なりリン酸化 α -synはプレシナプスには存在しなかった。さらに、p- α -synシグナルはNOS陽性細胞 (NOS: 腸管平滑筋に対する抑制性モーターニューロンの一部を染色) より、Calretinin陽性細胞 (Calretinin: 腸管平滑筋に対する興奮性モーターニューロンの一部を染色) やCalbindin陽性細胞 [Calbindin: 内在性一次求心性ニューロンIPAN(腸の状態を感知)のほとんどを染色]に高頻度で存在する傾向が示唆された。M83Tgマウス (17週齢) 結腸の免疫組織化学的検討により、上記ロテノンマウスの場合と類似した分布特性を持つp- α -syn蓄積が観察された。

線維化 α -synを野生型マウスの脳に接種するパーキンソン病モデルを用いてL-DOPAの効果を検討した結果、黒質における α -synの凝集やマウスの脳における α -synの伝播を抑制する可能性が示唆された。異なる条件下(\pm KCl)で線維化した α -synは、異なるプリオン様性質と、異なる細胞機能障害性を発揮することが示された。リコンビナントタウを線維化し、野生型マウスの脳に接種すると、数ヶ月から半年程度で野生型マウスの脳内にリン酸化タウ病変が生じ、神経連絡を介して脳内に広がることを示され、合成タウ線維を接種するタウ伝播モデルの構築に成功した。大脳皮質基底核変性症 (CBD) の患者脳に蓄積するタウ線維を精製してそのシード活性を調べると共に、MRCとのクライオ電顕解析による共同研究でCBDタウ線維の構造解明に成功した。さらに多系統萎縮症 (MSA) の患者脳に蓄積する α -syn線維を精製し、MRCと共同でクライオ電顕解析を行い、MSA α -syn線維の構造を解明し、レビー小体型認知症患者脳に蓄積する α -syn線維はMSA患者のものとは明らかに異なる構造をとっていることを示した。

治療・予防薬開発研究

植物エキス由来化合物がADモデルマウスにおける記憶・学習能力低下、シナプス関連タンパク質の発現低下を抑制することを見だし、論文として報告した。

新規核酸分解機構RNautophagyがCAGリピート依存的に神経変性関連ハンチンチンmRNAの分解を促進することを見いだした。さらにRNautophagyの構成因子SIDT2を介した新しい細胞内蛋白質分解機構を発見し、この新規経路が神経変性関連蛋白質の分解を促進することを見出した。

バイオマーカー開発研究

多数例での検討を行うために、認知症センターと協力しNCNP病院にてFTLDやアルツハイマー病 (AD) および高齢健常対照者のCSFを収集して用いた。網羅的プロテオームやメタボローム解析、ミネラルの網羅的解析により、バイオマーカーとして実用化できる可能性のある分子を複数見出した。

2) 臨床における医療・介護モデルの構築

自治体との協力的体制構築

小平市市役所、同医師会と協力的体制を構築し、ブレインヘルスプロジェクト小平を立ち上げた。小平市高齢者支援課および地域包括支援センターと協力して認知症状を自覚し始めた人 (SCD: subjective cognitive dysfunction) をターゲットとして講演会を開催し、簡単な自記式テストにより、健常者・軽度認知症を選別し、当院もの忘れ外来受診を働きかけるシステムを構築した。健常者・MCI領域の人には当センターのプレクリニカルコホートに参加することを呼びかけ、登録者は60人となった。さらに、介入研究を行うために、小平市の健康推進課が行っている「健康ポイント」事業にも2020年度から参加した。歩行などの活動量に応じて商品券などに交換できる健康ポイントを付与するというインセンティブによって、市民の健康を向上させる事業であるが、これまで認知症への効果は考慮されてこなかった。2020年7月に健康ポイント参加者に自記式認知症テストを行ったところ (総数203人) 15%がMCI領域であった。

家族介護者向け認知行動療法の開発と応用

都立松沢病院、訪問看護ステーションなど4カ所と協力的体制を構築し、これら施設で働く訪問看護師に対して認知行動療法研修を実施した。また、広く認知症の家族介護者のストレス・ケアに役立てていけるようテキストおよびワークシートを書籍化した。また小平市高齢福祉課および小平市地域包括支援センター中央センター (基幹型)、三鷹市社会福祉協議会と協力的体制を構築し、「認知症の家族介護者を対象とした集団認知行動療法」プログラムを作成し実施した。

WHOプログラムの日本語化と社会実装

介護者の知識や技術の向上、精神的ストレスの軽減、自己効力感やメンタルヘルスの向上を目指し、WHO が家族等の認知症介護者のための自己学習お

よび支援プログラム iSupport を開発した。WHO と NCNP との間で iSupport の著作権に関する契約を正式に締結し、認知症分野に精通した翻訳業者、「認知症の人と家族の会」の協力のもと動画や音声を充実させた日本語版を準備した。将来の RCT に向けて、対照群に配信予定の電子書籍「Help for care partners of people with dementia」の翻訳も行っている。併せてインターネット上で使用可能な心理評価システムを開発する予定である。

4. 研究成果刊行一覧

1. Hamaguchi T, Sakai K, Kobayashi A, Kitamoto T, Ae R, Nakamura Y, Sanjo N, Arai K, Koide M, Katada F, Harada M, Murai H, Murayama S, Tsukamoto T, Mizusawa H, Yamada M: Characterization of sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease and history of neurosurgery to identify potential iatrogenic cases. *Emerging Infectious Diseases*. June 2020. 26(6): 1140-1146. doi: 10.3201/eid2606.181969. Original Publication Date: April 29, 2020
2. Hamaguchi T, Sanjo N, Ae R, Nakamura Y, Sakai K, Takao M, Murayama S, Iwasaki Y, Satoh K, Murai H, Harada M, Tsukamoto T, Mizusawa H, Yamada M: MM2-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: new diagnostic criteria for MM2-cortical type. *Neuroinfection*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2020;0:1-8. doi: 10.1136/jnnp-2020-323231 August24 2020.
3. Hase K, Contu VR, Kabuta C, Sakai R, Takahashi M, Kataoka N, Hakuno F, Takahashi SI, Fujiwara Y, Wada K, Kabuta T. Cytosolic domain of SIDT2 carries an arginine-rich motif that binds to RNA/DNA and is important for the direct transport of nucleic acids into lysosomes. *Autophagy*. 2020; 16(11): 1974-1988.
4. Nagano S, Jinno J, Abdelhamid RF, Jin Y, Shibata M, Watanabe S, Hirokawa S, Nishizawa M, Sakimura K, Onodera O, Okada H, Okada T, Saito Y, Takahashi-Fujigasaki J, Murayama S, Wakatsuki S, Mochizuki H, Araki T. TDP-43 transports ribosomal protein mRNA to regulate axonal local translation in neuronal axons. *Acta Neuropathol*. 140: 695–713 2020 doi: 10.1007/s00401-020-02205-y
5. Takeuchi E, Yamada D, Suzuki S, Saitoh A, Itoh M, Hayashi T, Yamada M, Wada K, Sekiguchi M. Participation of the nucleus accumbens dopaminergic system in the antidepressant-like actions of a diet rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids. *PLoS ONE* 15(3) 2020 e0230647 doi: 10.1371/journal.pone.0230647
6. Kuniishi H, Yamada D, Wada K, Yamada M, Sekiguchi M. Stress-induced insertion of calcium-permeable AMPA receptors in the OFC-BLA synapse modulates emotional behavior in mice. *Transl Psychiat* 10 2020 154 doi: 10.1038/s41398-020-0837-3
7. Hashimoto O, Kuniishi H, Nakatake Y, Yamada M, Wada K, Sekiguchi M. Early life stress from allergic dermatitis causes depressive-like behaviors in adolescent male mice through neuroinflammatory priming. *Brain Behav Immun* 90 2020 319-331 doi: 10.1016/j.bbi.2020.09013
8. Hori K, Yamashiro K, Nagai T, Shan W, Egusa S, Shimaoka K, Kuniishi H, Sekiguchi M, Go Y, Tatsumoto S, Yamada M, Shiraishi R, Kanno K, Miyashita S, Sakamoto A, Abe M, Sakimura K, Sone M, Sohya K, Kunugi H, Wada K, Yamada M, Yamada K, Hoshino M. AUTS2 regulation of synapses for proper synaptic inputs and social communication. *iScience* 23 2020 101183 doi: 10.1016/j.isci.2020.101183
9. Matsuzaka Y, Tanihara J, Ooshima Y, Yamada D, Sekiguchi M, Miyatake S, Aoki Y, Terumitsu M, Yashiro R, Komaki H, Ishiyama A, Oya Y, Inoue YU, Inoue T, Takeda S, Hashido K. The nSMase2/Smpd3 gene modulates the severity of muscular dystrophy and the emotional stress response in mdx mice. *BMC Medicine* 18 2020 343 doi: 10.1186/s12916-020-01805-5
10. Suzuki G, Imura S, Hosokawa M, Katsumata R, Nonaka T, Shin-Ichi Hisanaga SI, Saeki Y, Hasegawa M. α -Synuclein strains that cause distinct pathologies differentially inhibit proteasome. *eLife* 2020 July 22;9:e56825. doi: 10.7554/eLife.56825.
11. Masuda-Suzukake M, Suzuki G, Hosokawa M, Nonaka T, Goedert M, Hasegawa M. Dextran sulphate-induced tau assemblies cause endogenous tau aggregation and propagation in wild-type mice. *Brain Communications* 2020 July 08.

12. Schweighauser M, Shi Y, Tarutani A, Kametani F, Murzin AG, Ghetti B, Matsubara T, Tomita T, Ando T, Hasegawa K, Murayama S, Yoshida M, Hasegawa M, Scheres SHW, Goedert M. Structures of α -synuclein filaments from multiple system atrophy. *Nature* 2020 May 27. doi: 10.1038/s41586-020-2317-6.
13. Zhang W, Tarutani A, Newell K, Murzin A, Matsubara T, Falcon B, Vidal R, Garringer H, Shi Y, Ikeuchi T, Murayama S, Ghetti B, Hasegawa M, Goedert M, Scheres SHW. Novel tau filament fold in corticobasal degeneration. *Nature* 2020 April;580(7802):283-287. doi: 10.1038/s41586-020-2043-0. Epub 2020 February 12.
14. Hasegawa M. Experimental models of prion-like protein propagation. *Neuropathology*. 2020 June 1. doi: 10.1111/neup.12656.
15. Kawakami I, Motoda A, Hashimoto M, Shimozawa A, Masuda-Suzukake M, Ohtani R, Takase M, Kumashiro M, Samejima K, Hasegawa M. Progression of phosphorylated alpha-synuclein in *Macaca fuscata*. *Brain Pathol.* 2021 March 22: e12952. doi: 10.1111/bpa.1295
16. Tando S, Kasai T, Mizuta I, Takahashi H, Yaoi T, Saito K, Honjo T, Mizuno T, Hasegawa M, Itoh K. An autopsy case of corticobasal syndrome due to asymmetric degeneration of the motor cortex and substantia nigra with TDP-43 proteinopathy, associated with Alzheimer's disease pathology. *Neuropathology* 2021 February 3. doi: 10.1111/neup.12723.
17. Kaide S, Watanabe H, Shimizu Y, Iikuni S, Nakamoto Y, Hasegawa M, Itoh K Ono M. Identification and Evaluation of Bisquinoline Scaffold as New Candidate for α -Synuclein-PET Imaging. *ACS Chemical Neuroscience* 2020 December 1. doi: 10.1021/acscemneuro.0c00523.
18. Hayakawa H, Nakatani R, Ikenaka K, Aguirre C, Choong C.J, Tsuda H, Nagano S, Koike M, Ikeuchi T, Hasegawa M, Papa S.M, Nagai Y, Mochizuki H, Baba K. Structurally distinct α -synuclein fibrils induce robust Parkinsonian pathology. *Mov. Dis.* 35(2): 256-267 2020 doi: 10.1002/mds.27887
19. Minakawa E.N, Popiel H.A. (equal contribution), Tada M, Takahashi T, Yamane H, Takahashi Y, Ozawa D, Takeda A, Takeuchi T, Okamoto Y, Yamamoto K, Suzuki M, Fujita H, Ito C, Yagihara H, Saito Y, Watase K, Adachi H, Katsuno M, Mochizuki H, Shiraki K, Sobue G, Toda T, Wada K, Onodera O, Nagai Y. Arginine is a disease modifier of polyQ disease models that stabilizes polyQ protein conformation. *Brain* 143(6):1811-1825 2020 doi: 10.1093/brain/awaa115
20. Choong C.J, Okuno T, Ikenaka K, Baba K, Hayakawa H, Koike M, Yokota M, Doi J, Kakuda K, Takeuchi T, Kuma A, Nakamura S, Nagai Y, Nagano S, Yoshimori T, Mochizuki H. Alternative mitochondrial quality control mediated by extracellular release. *Autophagy* 10: 1-13 2020, doi: 10.1080/15548627.2020.1848130
21. Shibata T, Nagano K, Ueyama M, Ninomiya K, Hirose T, Nagai Y, Ishikawa K, Kawai G, Nakatani K. Small molecule targeting r(UGGAA)_n disrupts RNA foci and alleviates disease phenotype in *Drosophila* model. *Nat. Commun.* 12(1): 236 2021 doi: 10.1038/s41467-020-20487-4
22. Hervás R, Fernández-Ramírez M.D.C, Galera-Prat A, Suzuki M, Nagai Y, Bruix M, Menéndez M, Laurents D.V, Carrión-Vázquez M. Divergent CPEB prion-like domains reveal different assembly mechanisms for a generic amyloid-like fold. *BMC Biol.* 19(1):43 2021, doi: 10.1186/s12915-021-00967-9
23. Minakawa E.N, Nagai Y. Protein aggregation inhibitors as disease-modifying therapies for polyglutamine diseases. *Front. Neurosci.* 15:621996 2021, doi: 10.3389/fnins.2021.621996
24. Saitoh Y, Takahashi Y. Riluzole for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegenerative Disease Management.* 2020 December;10(6):343-355. doi: 10.2217/nmt-2020-0033. Epub 2020 August 27.
25. Ishihara T, Okamoto T, Saida K, Saitoh Y, Oda S, Sano T, Yoshida T, Morita Y, Fujita A, Fukuda H, Miyake N, Mizuguchi T, Saito Y, Sekijima Y, Matsumoto N, Takahashi Y. Neuronal intranuclear inclusion disease presenting with an MELAS-like episode in chronic polyneuropathy. *Neurol Genet.* December 2020, 6 (6) e531. doi:

10.1212/NXG.0000000000000531.

26. Saitoh Y, Imabayashi E, Mukai T, Matsuda H, Takahashi Y. Visualization of Motor Cortex Involvement by ¹⁸F-THK5351 PET Potentially Strengthens Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. Clin Nucl Med. 2021 March 1;46(3):243-245. doi: 10.1097/RLU.0000000000003456.
27. Saitoh Y, Miyazaki M, Arai N, Takahashi Y. Pneumomediastinum while using mechanical insufflation-exsufflation after recovery from riluzole-induced interstitial lung disease. eNeurologicalSci. 2021 March; 22: 100326. doi: 10.1016/j.ensci.2021.100326.
28. Maikusa N, Fukami T, Matsuda H. Longitudinal analysis of brain structure using existence probability. Brain Behav 2020 e01869 doi: 10.1002/brb3.1869
29. Sone D, Shigemoto Y, Ogawa M, Maikusa N, Okita K, Takano H, Kato K, Sato N, Matsuda H. Association between neurite metrics and tau/inflammatory pathology in Alzheimer's disease. Alzheimer and dementia: Diagnosis, Assessment, and Disease Monitoring 2020 doi: 10.1002/dad2.12125
30. Shigemoto Y, Sone D, Okita K, Maikusa N, Yamao T, Kimura Y, Suzuki F, Fujii H, Kato K, Sato N. Matsuda H. Gray matter structural networks related to ¹⁸F-THK5351 retention in cognitively normal older adults and Alzheimer's disease patients. eNeurologicalSci 22,100309,2021. doi: 10.1016/j.ensci.2021.100309

神経変性疾患関連 RNA・タンパク質の細胞内分解機構

分担研究者 株田智弘
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究第四部 室長

緒言

認知症などの神経変性疾患に共通した病理学的特徴として、神経細胞内の凝集体形成が知られている。神経細胞内のタンパク質蓄積は神経変性疾患の原因となると考えられており、細胞内異常 RNA やタンパク質の分解促進をできれば有効な治療法となり得ると期待されている。そのためには細胞内分解システムの理解が必要であるが、細胞内分解機構に関しては未だ不明な点が多く残されている。我々は近年、新たな細胞内核酸分解システム RNautophagy/DNautophagy (RDA) を発見した。本研究では、RDA による疾患関連 RNA 分解の分子メカニズムを解明することにより、疾患治療標的を明らかにする。タンパク質を分解する新規経路も発見し研究中であり、この経路についても同様に解析を進める。また、マウスモデルやヒトデータを用いて、これら新規分解経路と神経変性疾患病態との関連性の解明を目指す。

方法

(RNA 分解について)

RNautophagy の際に SIDT2 と基質核酸が結合するかどうかについては不明であったため、affinity isolation assay により結合性の解析を行なった。結合が確認された変性疾患関連 RNA についてその分解とタンパク質の量への SIDT2 過剰発現の影響を解析した。

(タンパク質分解について)

培養細胞や単離リソソームを用いて実験を行なった。SIDT2 を原因とするヒト疾患を機関内の whole exome sequencing data から探索した。SIDT2 KO マウスについては機関内共同研究にて作出・解析した。

結果

(RNA 分解について)

SIDT2 の細胞質領域 (CD) を介して SIDT2 が RNA と直接結合することを見いだした。また、この結合には SIDT2 CD のアルギニン残基が必要であった。アルギニンに変異を導入し、核酸と結合しない変異型 SIDT2 (3RS SIDT2) を作成した。3RS SIDT2 では RNautophagy の活性が顕著に減弱したことから、

SIDT2 による核酸取り込みには基質との結合が必要であることが示された。

CD とハンチントン病の原因である *HTT* mRNA が結合することを見いだした。また、この結合は CAG リピート依存的であった。細胞レベルの実験では、*HTT* mRNA の分解が SIDT2 過剰発現により促進され、*HTT* mRNA は RNautophagy の基質となり分解された。さらに、SIDT2 の過剰発現により細胞内の変異型 *HTT* タンパク質の量を低減できることを明らかにし、その低減効果には SIDT2 と *HTT* mRNA の結合が重要であることを示した。

(タンパク質分解について)

「リソソームが ATP 依存的にタンパク質を直接リソソームに取り込み分解する」という新規経路を発見した。単離リソソームを用いた *in vitro* 実験系や培養細胞を用いて、この経路が既知のオートファジーとは別経路であることを確認した。また、この経路において、SIDT2 はタンパク質をリソソーム内に輸送することも見いだした。 α -synuclein や Tau など認知症・神経変性疾患の原因となるタンパク質を含む多様な細胞質タンパク質が新規経路の分解基質となった。

SIDT2 を原因とするヒト疾患を探索し、ニューロパチーおよび縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーの家系とその患者から SIDT2 変異 (c2226delG) を見いだした。この変異は dominant negative 変異であることを生化学的に示した。SIDT2 KO マウスを作出・解析し、筋萎縮と縁取り空胞が確認できた。以上、SIDT2 を介した新規分解系の破綻は protein aggregation disease の原因となることを示した (Fujiwara et al. BioRxiv. 2020. preprint)。

考察・結論

SIDT2 の CD は核酸結合能をもち、この結合を介して核酸をリソソーム内へ取り込む。

タンパク質が直接的にリソソームに取り込まれ分解されるという新規のオートファジー経路を発見した。この経路に重要なリソソーム膜タンパク質 SIDT2 を同定した。

膜透過型オートファジーの活性化は、新たな神経変性疾患の治療法となる可能性がある。

業績

1. Hase K, Contu VR, Kabuta C, Sakai R, Takahashi M, Kataoka N, Hakuno F, Takahashi SI, Fujiwara Y, Wada K, Kabuta T. Cytosolic domain of SIDT2 carries an arginine-rich motif that binds to RNA/DNA and is important for the direct transport of

nucleic acids into lysosomes. *Autophagy*. 2020;
16(11): 1974-1988.

APP ノックイン、タウノックインマウスを用いた
認知症発症機序に関する研究

分担研究者 荒木敏之
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究第五部 部長

緒言

アルツハイマー病の危険因子の一つは加齢であると考えられているが、その一方で、その分子レベルの実体は十分に解明されていない。本研究は、加齢と類似した変化を加速的に進行させることが明らかとなった「間欠的低酸素負荷 (IHT) マウスモデル」を活用し、認知症をはじめとする神経変性疾患の発症または進行に関して、加齢がどのような影響を及ぼすのかを解明することを目的とする。従来の研究ツールでは、この問題に踏み込むことは難しかったが、本研究では、よりヒトの病状を反映すると期待されるモデルとして、ヒト型のアルツハイマー病関係タンパク質を生理的レベルで発現するモデル (APP ノックインマウス、タウノックインマウス) を用い、ストレスや老化に関連した刺激の意義に関する研究を行う。

方法

本研究では IHT モデルをヒト型 APP ノックインマウスノックイン (AppNL-G-F KI) マウス、Tau ノックイン (MAPT-KI) マウスに適用することにより、APP 蓄積、タウ過剰リン酸化のメカニズムの検討を個なっている。今年度は、主として MAPT-KI マウスを用い、IHT 負荷後の細胞内シグナル変化を検討した。

結果

1. CaMKK2 に関する解析

これまでに、神経活動がリン酸化タウの増減に影響を与えることを明らかにしてきた。特に、新規遺伝子発現を伴う神経活動に着目した解析を行っている。その過程で、培養細胞実験において、CaMKK2 の発現低下もしくは活性低下によって、リン酸化タウが増加することを見出した。そして、昨年度は、*in vivo* での検証に着手し、MAPT KI マウスに対する CaMKK2 の発現抑制ベクターの導入実験を行って、リン酸化タウが増加すること、界面活性剤に不溶性のタウが増える傾向があることを見出した。本年度は、AppNL-G-F/MAPT DK1 マウスに対して CaMKK2 の発現抑制ベクターの導入実験を行い、その解析を行った。タウの挙動に関しては、基本的には、MAPT KI マウスの結果と同様であった。また、A β に関しても解析を行ったところ、CaMKK2

の発現抑制ベクター投与群の海馬において、脳内に含まれる A β の量が増加することが分かった。

2. IHT モデルに関する解析

リン酸化タウを増加させることが分かっている刺激 (IHT) を MAPT KI マウスに対して行い、解析を継続している。IHT が起こす遺伝子発現変化が、神経活動の亢進が起こすそれと類似していたことから、「神経活動依存的な遺伝子発現」との関連を調べている。

今年度は、「神経活動依存的な遺伝子発現」に関連することが知られている幾つかのタンパク質について、対照群と IHT 群とで比較をした。その結果、IHT 群では、対照群に比べて、リン酸化 ERK や CaMK2 β が増えていることが分かった。なお、「神経活動依存的な遺伝子発現」を起こす新規環境曝露によっても、リン酸化 ERK や CaMK2 β の増加が起きていた。今後、新規環境曝露と IHT との相違点を明らかにすることを目指している。

また、対照群と IHT 群とをそれぞれ新規環境に曝露し、その際に発現が増加する最初期遺伝子群の変動も比較した。その結果、IHT 群では対照群に比べ、Arc の発現上昇を起こしやすいことが分かった。c-fos にもその傾向は認められたものの、Npas4 や Erg1 など、他の最初期遺伝子ではその傾向は認められなかった。

さらに、対照群と IHT 群とでタウの局在に変化があるかどうか、免疫染色を行って解析したところ、IHT 群では、細胞体側に局在が変化している可能性を見出した。

本年度は、新たに、2-trial Y-maze という行動実験系を構築した。この実験系では、マウスの活動量や記憶の保持の程度を評価することができる。IHT 群に関して、24 時間後の記憶の保持に関して評価を行ったが、対照群と差はなかった。

これまでの結果から、IHT によってリン酸化タウが増加すること、新規環境曝露によってリン酸化タウが減少することを明らかにしている。そこで、IHT 群および新規環境曝露群と対照群とで網羅的な比較を行うため、これらの処置群から海馬を採取し、プロテオーム解析およびリン酸化プロテオーム解析を行い、データを取得した。

考察

CaMKK2 の発現抑制ベクターの導入は、リン酸化タウの量が増えた状態を継続させるだけでなく、A β の量も増やす傾向を認めた。このようなことから、CaMKK2 の発現抑制は、AD の進行を進める可能性が考えられる。そこで、CaMKK2 が関与する経路が AD の発症に与える影響について解析するため、タ

モキシフェン投与に依って CaMKK2 の発現を抑制させることのできるマウスを、現在、交配に依って作製中である。これが出来次第、ある程度の年齢に達した MAPT KI マウスおよび AppNL-G-F/MAPT dKI マウスの CaMKK2 の発現を抑制して、タウや AB に与える影響、また「神経活動依存的な遺伝子発現」に与える影響を解析する。

また、IHT によってリン酸化タウが増加した状態が持続するメカニズム、新規環境曝露によってリン酸化タウが一過性に減少するメカニズムを明らかにするため、網羅的解析を行い、データを取得した。このデータを詳細に検討し、解析対象を絞り込んで、個々に検証を行う予定である。これを通じて、新規環境曝露と IHT との相違点を明らかにしたいと考えている。

業績

1. Nagano S, Jinno J, Abdelhamid RF, Jin Y, Shibata M, Watanabe S, Hirokawa S, Nishizawa M, Sakimura K, Onodera O, Okada H, Okada T, Saito Y, Takahashi-Fujigasaki J, Murayama S, Wakatsuki S, Mochizuki H, Araki T. TDP-43 transports ribosomal protein mRNA to regulate axonal local translation in neuronal axons. *Acta Neuropathol.* 140: 695–713(2020) doi: 10.1007/s00401-020-02205-y

参考文献

1. 柳下聡介, 閉塞性睡眠時無呼吸と認知機能低下, *THE LUNG perspectives*, Vol. 28, 1, 2020

パーキンソン病モデルマウス腸管神経系におけるリン酸化 α -シヌクレイン蓄積

研究協力者 関口正幸
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究第四部 非常勤研究員
(研究分担者：荒木敏之)

緒言

パーキンソン病において病変上行仮説が提唱されている。同疾患モデルマウス腸管神経系においては、S-129 リン酸化 α -シヌクレイン (p-a-syn) の蓄積が認められるケースも知られているが、その蓄積の詳細 (細胞特異性や細胞内局在など) についてはほとんど研究が行われていない。そこで本年度は同疾患モデルマウス腸管神経系における p-a-syn 蓄積に関して、その細胞特異性の検討を目的として研究を行った。この目的のために、i)ロテノン経口投与により腸管神経系に p-a-syn が異常蓄積するマウス、ii)M83Tg マウス (human A53T-a-syn over-expression under a prion promotor) の 2 種類のマウスを用いて、腸管神経系の免疫組織化学的検討を行った。なお、M83Tg マウスに関しては腸内細菌叢についての分析も行った。

方法

上記 2 種類のモデルマウス腸管神経系での p-a-syn 蓄積を腸管神経系各種細胞マーカーと多重染色 (蛍光) することにより免疫組織化学的に評価した。評価には主に結腸の組織切片を用い、Auerbach 神経叢を解析対象とした。

結果

①ロテノン投与マウス腸管神経系における p-a-syn 蓄積細胞の検討

昨年度までに確立した方法で作成したロテノン投与マウス結腸組織切片を抗 p-a-syn 抗体で染色したところ、コントロールである溶媒投与マウスでは Auerbach 神経叢に明らかな抗 p-a-syn 抗体陽性シグナルを見出せないのに対し、ロテノン投与マウスでは明らかな抗 p-a-syn 抗体陽性シグナルを見出すことができた。当該シグナルは抗体に対する吸収ペプチドで消失することから p-a-syn のシグナルである可能性が高いと考えられた。

このシグナルは一酸化窒素合成酵素 (NOS) 陽性細胞 (NOS: 腸管平滑筋に対する抑制性モーターニューロンの一部を染色) に比べ、Calretinin 陽性細胞 (Calretinin: 腸管平滑筋に対する興奮性モーターニューロンの一部を染色) や Calbindin 陽性細胞 [Calbindin: 内在性一次求心性ニューロン IPAN (腸

の状態を感知) のほとんどを染色] に高頻度で存在する傾向が示唆された。

②M83Tg マウスでの p-a-syn 蓄積サイトの検討

M83Tg マウス (17 週齢) 結腸の免疫組織化学的検討により、上記ロテノンマウスの場合と類似した分布特性を持つ p-a-syn 蓄積 (すなわち Calbindin 陽性細胞 > Calretinin 陽性細胞 > NOS 陽性細胞) が観察された。一方、野生型マウス (Age-matched) 結腸では明らかな p-a-syn のシグナルは見出せなかった。

③M83Tg マウスにおける腸内細菌叢の分析

M83Tg マウスより採取した糞を用いて腸内細菌叢を検討した。今回分析した限りにおいては腸内細菌叢の顕著な変化は見いだせなかった (Tg と野生型マウス各々 5 匹を用いた比較)。

考察

腸管神経細胞における p-a-syn 蓄積は完全な細胞特異性は示さないものの、ある程度の細胞嗜好性を示した。これと関連して我々はマウス結腸 Auerbach 神経叢においてドーパミン神経が存在するか否かについても免疫組織化学的に予備的な検討を行ったが、今回の検討では明確な結果を得ることができなかった。

今回 p-a-syn の蓄積が高い比率でみられた Calbindin や Calretinin 陽性細胞は腸管の運動制御に重要な役割を担っており、今後 p-a-syn 蓄積がこの機能に影響を与えるか否か検討する必要があると思われる。

これら細胞への p-a-syn 蓄積の分子メカニズムは明らかでないが、Calbindin や Calretinin はいずれもカルシウム結合タンパク質であることから、p-a-syn 蓄積が細胞内カルシウム代謝と何らかの関連を持つ可能性が考えられるかもしれない。

またロテノン投与マウスと M83Tg マウスで同様な細胞嗜好性が見られたことは、両マウスの p-a-syn 蓄積に何らかの共通メカニズムが存在する可能性を示唆するかもしれない。ロテノンはミトコンドリア電子伝達系の阻害剤であることがよく知られているが、A53T 変異に関しても a-syn によるミトコンドリア機能制御の破綻誘発が知られている点は興味深い (Sci Rep 7:5042, 2017)。

結論

ロテノン投与マウスと M83Tg マウス結腸 Auerbach 神経叢において p-a-syn 蓄積は Calbindin 陽性細胞 > Calretinin 陽性細胞 > NOS 陽性細胞という細胞嗜好性を示した。

業績

1. Takeuchi E, Yamada D, Suzuki S, Saitoh A, Itoh M, Hayashi T, Yamada M, Wada K, Sekiguchi M. Participation of the nucleus accumbens dopaminergic system in the antidepressant-like actions of a diet rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids. PLoS ONE 15(3) 2020 e0230647 doi: 10.1371/journal.pone.0230647
2. Kuniishi H, Yamada D, Wada K, Yamada M, Sekiguchi M. Stress-induced insertion of calcium-permeable AMPA receptors in the OFC-BLA synapse modulates emotional behavior in mice. Transl Psychiat 10 2020 154 doi: 10.1038/s41398-020-0837-3
3. Hashimoto O, Kuniishi H, Nakatake Y, Yamada M, Wada K, Sekiguchi M. Early life stress from allergic dermatitis causes depressive-like behaviors in adolescent male mice through neuroinflammatory priming. Brain Behav Immun 90 2020 319-331 doi: 10.1016/j.bbi.2020.09013
4. Hori K, Yamashiro K, Nagai T, Shan W, Egusa S, Shimaoka K, Kuniishi H, Sekiguchi M, Go Y, Tatsumoto S, Yamada M, Shiraishi R, Kanno K, Miyashita S, Sakamoto A, Abe M, Sakimura K, Sone M, Sohya K, Kunugi H, Wada K, Yamada M, Yamada K, Hoshino M. AUTS2 regulation of synapses for proper synaptic inputs and social communication. iScience 23 2020 101183 doi: 10.1016/j.isci.2020.101183
5. Matsuzaka Y, Tanihara J, Ooshima Y, Yamada D, Sekiguchi M, Miyatake S, Aoki Y, Terumitsu M, Yashiro R, Komaki H, Ishiyama A, Oya Y, Inoue YU, Inoue T, Takeda S, Hashido K. The nSMase2/Smpd3 gene modulates the severity of muscular dystrophy and the emotional stress response in mdx mice. BMC Medicine 18 2020 343 doi: 10.1186/s12916-020-01805-5

認知症の進行に関わる異常分子の毒性と制御

分担研究者 長谷川成人
東京都医学総合研究所
認知症・高次脳機能研究分野
認知症プロジェクト 分野長

緒言

アルツハイマー病(AD)等の認知症やパーキンソン病などの神経変性疾患では、疾患に特徴的な異常型タンパク質の蓄積病変が観察され、病変分布と症状、病変の広がりや病態進行が密接に関係していることが知られている。近年、これらの異常タンパク質病変の形成、伝播の機序として、プリオン病における異常型 PrP の形成や伝播と同じメカニズムが提唱され、実験的証拠が多数示されて注目を集めている。本研究は様々な神経変性疾患のプリオン様伝播を再現する細胞や動物モデルを構築し、メカニズム解明や治療法の開発の基礎となる研究を行うため、患者剖検脳に蓄積する異常型タンパク質の解析と共に、細胞モデルやマウスモデルの構築を行う。今年度は異なる条件で形成した α シヌクレイン線維の構造や性質の違いについて、また多系統萎縮症患者脳に蓄積する α シヌクレイン線維のクライオ電顕解析について、さらには様々なタウオパチー患者脳に蓄積するタウの翻訳後修飾などについて検討した内容を報告する。

方法

リコンビナント α シヌクレインを生理的条件の塩の存在下(KCl+)と、非存在下(KCl-)で線維化し、その性質について、プロテアソームとの相互作用、培養細胞やマウス脳におけるプリオン様活性について比較を行った。MSA 脳の α シヌクレイン線維の構造解析は、日本ブレインバンクネットや大学病院に登録され、神経病理学的に確定診断がついた 5 例の MSA 患者脳から α シヌクレイン線維を調製し、英国 MRC 分子生物学研究所においてクライオ電顕で行った。タウの翻訳後修飾の解析は、AD、ピック病(PiD)、大脳皮質基底核変性症(CBD)、進行性核上性麻痺(PSP)、*MAPT* 変異例の FTDP-17 など様々なタウオパチー患者、それぞれ 3 例ずつからタウ線維を調製し、ギ酸で可溶化後に酵素消化し、高感度 LC/MS/MS にて解析を行った。

結果

KCl-で作製した線維は、野生型マウスの脳への接種で、リン酸化 α シヌクレイン凝集体を顕著に誘導したが、KCl+で作製した線維は α シヌクレイン凝集体形成の誘導がほとんど認められなかった。また

マウス初代培養神経細胞に添加した場合も同様の結果で、KCl-で作製した線維はリン酸化 α シヌクレインの蓄積を誘導した。両者の違いを調べた結果、KCl-で作製した線維はその C 末端部分がプロテアソームと相互作用し、その活性を阻害することが示された。これらの結果は α シヌクレインの構造の違いによって、プロテアソームに対する毒性が異なり、病理の誘導の違いにも関係している可能性が示唆された(Suzuki et al, eLife 2020)

5 例の MSA 患者はいずれもオリゴデンドロサイト内に特徴的な α シヌクレインの凝集体 GCIs が認められ、不溶性画分に多数のリン酸化 α シヌクレイン陽性の捻れた線維が観察された。これらをクライオ電顕によって解析した結果、世界で初めて実際の患者脳に蓄積する α シヌクレイン線維の構造を明らかにすることに成功した。線維は 4 つの異なるプロトフィラメントで非対称に構成されており、非タンパク質性分子が、プロトフィラメントの K43 と K45 に囲まれて存在することが明らかとなった。これまで報告されている合成 α シヌクレイン線維とは異なっていた(Schweighauser et al, Nature 2020)。

AD, PiD, CBD, PSP, FTDP-17 の患者剖検脳(それぞれ 3 例)からタウ線維を単離し、ギ酸によって可溶化後、酵素消化し、消化ペプチドを質量分析することにより、翻訳後修飾の解析を行った。その結果、リン酸化、ユビキチン化、アセチル化、脱アミド化など、様々な翻訳後修飾が同定された。リン酸化部位の多くは線維中心の外側周辺に集中し、またユビキチン化、アセチル化部位は線維中心領域に多く認められ、疾患ごとに特徴的であった。この結果はタウの翻訳後修飾は蓄積しているタウの構造と密接に関係していることが強く示唆された (Kametani et al, Frontiers Neurosci 2020)。

結論

NaCl の有無(0.15M 程度の微妙な違い)で異なる構造の α シヌクレイン線維が形成され、その違いによって細胞毒性やプリオン様伝播特性も大きく異なることが示された。

MSA 患者脳に蓄積する異 α シヌクレイン線維をクライオ電顕解析し、世界で初めて 2.6Å~3.1Å の原子レベルで構造を明らかにした。MSA 患者の α シヌクレイン線維は 2 つの異なるプロトフィラメントにより構成される 2 種類の線維で形成されていること、プロトフィラメントの界面に非タンパク質性分子が存在することが明らかとなった。

種々のタウオパチー患者脳に蓄積するタウには、リン酸化、ユビキチン化、アセチル化、脱アミド化など、様々な翻訳後修飾が同定され、疾患によって特徴的なパターンをとること、そしてそれらはタウ

の折り畳み構造と密接に関係することが示された。

業績

1. Suzuki G, Imura S, Hosokawa M, Katsumata R, Nonaka T, Shin-Ichi Hisanaga SI, Saeki Y, Hasegawa M. α -Synuclein strains that cause distinct pathologies differentially inhibit proteasome. *eLife* 2020 Jul 22;9:e56825. doi: 10.7554/eLife.56825.
2. Masuda-Suzukake M, Suzuki G, Hosokawa M, Nonaka T, Goedert M, Hasegawa M. Dextran sulphate-induced tau assemblies cause endogenous tau aggregation and propagation in wild-type mice. *Brain Communications* 2020 July 08.
3. Schweighauser M, Shi Y, Tarutani A, Kametani F, Murzin AG, Ghetti B, Matsubara T, Tomita T, Ando T, Hasegawa K, Murayama S, Yoshida M, Hasegawa M, Scheres SHW, Goedert M. Structures of α -synuclein filaments from multiple system atrophy. *Nature* 2020 May 27. doi: 10.1038/s41586-020-2317-6.
4. Zhang W, Tarutani A, Newell K, Murzin A, Matsubara T, Falcon B, Vidal R, Garringer H, Shi Y, Ikeuchi T, Murayama S, Ghetti B, Hasegawa M, Goedert M, Scheres SHW. Novel tau filament fold in corticobasal degeneration. *Nature* 2020 Apr;580(7802):283-287. doi: 10.1038/s41586-020-2043-0. Epub 2020 Feb 12.
5. Hasegawa M. Experimental models of prion-like protein propagation. *Neuropathology*. 2020 Jun 1. doi: 10.1111/neup.12656.
6. Kawakami I, Motoda A, Hashimoto M, Shimozawa A, Masuda-Suzukake M, Ohtani R, Takase M, Kumashiro M, Samejima K, Hasegawa M. Progression of phosphorylated alpha-synuclein in *Macaca fuscata*. *Brain Pathol*. 2021 Mar 22: e12952. doi: 10.1111/bpa.1295
7. Tando S, Kasai T, Mizuta I, Takahashi H, Yaoi T, Saito K, Honjo T, Mizuno T, Hasegawa M, Itoh K. An autopsy case of corticobasal syndrome due to asymmetric degeneration of the motor cortex and substantia nigra with TDP-43 proteinopathy, associated with Alzheimer's disease pathology. *Neuropathology* 2021 Feb 3. doi: 10.1111/neup.12723.
8. Kaide S, Watanabe H, Shimizu Y, Iikuni S, Nakamoto Y, Hasegawa M, Itoh K Ono M. Identification and Evaluation of Bisquinoline Scaffold as New Candidate for α -Synuclein-PET Imaging. *ACS Chemical Neuroscience* 2020 Dec 1. doi: 10.1021/acscchemneuro.0c00523.

認知症・神経変性疾患におけるライフスタイル環境要因の影響とその予防法の開発

分担研究者 永井義隆
大阪大学大学院医学系研究科
神経難病認知症探索治療学寄附講座 教授
(2020.4.1~2020.12.31)
近畿大学医学部脳神経内科学 主任教授
(2021.1.1~2021.3.31)

緒言

アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD)、レビー小体型認知症、前頭側頭葉型認知症 (FTD) など、加齢に伴って発症する認知症や神経変性疾患の克服は、高齢化が進行するわが国における喫緊の課題である。これらの認知症や神経変性疾患においては、蛋白質あるいはRNAの凝集と蓄積が病態の中核を成すことが明らかにされてきた。

本研究の目的は、病原性蛋白質やRNAの凝集と蓄積を誘発する生体側の因子として、食事、運動、睡眠などのライフスタイル環境要因に着目し、これらの環境要因が神経変性病態に及ぼす影響を明らかにするとともに、そのメカニズムを解明することである。

本年度は、ヒトと相同性の高い睡眠-覚醒制御機構を持つモデル動物であるマウスの特性を生かして、神経変性疾患患者にしばしば合併する睡眠の異常がPDモデルマウスの脳病理ならびに臨床症状に及ぼす影響を検討した。また睡眠の異常を合併したPD患者脳脊髄液 (CSF) 中蛋白質の網羅的解析を行った。

方法と結果

PDモデルマウスにPD患者特有の慢性的な睡眠の異常を誘導した後に脳を採取して病理解析ならびに網羅的遺伝子発現解析を行い、対照群と比較した。

また当センターのバイオバンクに登録されたPD患者CSFのうちCSF採取と終夜睡眠ポリグラフ検査 (PSG) を同時期に実施された症例を対象として、公益財団法人がん研究会植田幸嗣博士との共同研究によりCSFのLC-MS/MS解析を行い、PSGにおける睡眠指標との関連解析を行うとともに、慢性的な睡眠の異常を誘導したPDモデルマウス脳の網羅的遺伝子発現解析結果との比較解析を行った。

結果と考察

慢性的な睡眠の異常を誘導したPDモデルマウス脳では若年齢、中年齢ともにPD病理が対照群よりも有意に悪化していた。またこのような慢性的な睡眠の異常がマウスにおいてPD関連症状を悪化させる可能性を見出した。これらの結果は睡眠がPD病態に

寄与するライフスタイル要因の一つであることを示唆している。

われわれはこれまでに慢性的な中途覚醒の増加がADモデルマウス脳のA β 病理を悪化させることを見出してきたが^[1]、今回、睡眠の異常による病態進行がAD特異的な現象ではない可能性を見出した。従来、中途覚醒の増加をはじめとする神経変性患者の睡眠の異常は、神経変性病態が睡眠-覚醒や概日リズムの制御機構に波及した結果として生じるものと考えられてきたが、われわれの結果は従来の考え方とは逆に、睡眠の異常が神経変性病態を進行させることを示唆する。ADの発症や進行と睡眠の異常の関連は疫学研究においても以前から指摘されてきたが^[2]、最近PDにおいても同様の報告がなされた^[3]。以上より、睡眠は様々な神経変性疾患に共通して病態に寄与するライフスタイル要因である可能性があると考えられる。

一方、LC-MS/MS解析によりPD患者CSFから同定した蛋白質の中にPSGにおける睡眠指標と関連が見られる分子を複数同定した。これらのうち一部の分子は、慢性的な睡眠の異常を誘導したPDモデルマウス脳の網羅的遺伝子発現解析においても発現上昇が見られた。今後これらの各分子を手がかりとして、睡眠の異常によるPD病態進行の背景にある分子機構を明らかにしていきたい。

結論

認知症や神経変性疾患特有のライフスタイル環境要因である睡眠の異常が、これらの疾患の病態を修飾する因子である可能性を明らかにするとともに、その背景にある分子機構の手がかりを得た。ライフスタイル環境要因は特に孤発性神経変性認知症に対する新たな治療介入点の候補であり、今後もこれらの要因と蛋白質およびRNAの品質恒常性をはじめとする認知症や神経変性疾患の病態との関連について研究を進めていきたい。

業績

1. Hayakawa H, Nakatani R, Ikenaka K, Aguirre C, Choong C.J, Tsuda H, Nagano S, Koike M, Ikeuchi T, Hasegawa M, Papa S.M, Nagai Y, Mochizuki H, Baba K. Structurally distinct α -synuclein fibrils induce robust Parkinsonian pathology. *Mov. Dis.* 35(2): 256-267 2020 doi: 10.1002/mds.27887
2. Minakawa E.N, Popiel H.A. (equal contribution), Tada M, Takahashi T, Yamane H, Saitoh Y, Takahashi Y, Ozawa D, Takeda A, Takeuchi T, Okamoto Y, Yamamoto K, Suzuki M, Fujita H, Ito C, Yagihara H, Saito Y,

Watase K, Adachi H, Katsuno M, Mochizuki H, Shiraki K, Sobue G, Toda T, Wada K, Onodera O, Nagai Y. Arginine is a disease modifier of polyQ disease models that stabilizes polyQ protein conformation. *Brain* 143(6):1811-1825 2020 doi: 10.1093/brain/awaa115

3. Choong C.J, Okuno T, Ikenaka K, Baba K, Hayakawa H, Koike M, Yokota M, Doi J, Kakuda K, Takeuchi T, Kuma A, Nakamura S, Nagai Y, Nagano S, Yoshimori T, Mochizuki H. Alternative mitochondrial quality control mediated by extracellular release. *Autophagy* 10: 1-13 2020 doi: 10.1080/15548627.2020.1848130
4. Shibata T, Nagano K, Ueyama M, Ninomiya K, Hirose T, Nagai Y, Ishikawa K, Kawai G, Nakatani K. Small molecule targeting r(UGGAA)_n disrupts RNA foci and alleviates disease phenotype in *Drosophila* model. *Nat. Commun.* 12(1): 236 2021 doi: 10.1038/s41467-020-20487-4
5. Hervás R, Fernández-Ramírez M.D.C, Galera-Prat A, Suzuki M, Nagai Y, Bruix M, Menéndez M, Laurents D.V, Carrión-Vázquez M. Divergent CPEB prion-like domains reveal different assembly mechanisms for a generic amyloid-like fold. *BMC Biol.* 19(1):43 2021, doi: 10.1186/s12915-021-00967-9
6. Minakawa E.N, Nagai Y. Protein aggregation inhibitors as disease-modifying therapies for polyglutamine diseases. *Front. Neurosci.* 15:621996 2021, doi: 10.3389/fnins.2021.621996

参考文献

1. Schreiner SJ, Imbach LL, Werth E, et al. Slow-wave sleep and motor progression in Parkinson disease. *Ann Neurol* 2019, 85(5):765-70.

Lewy 小体病における認知症発症リスクの同定に関する研究

分担研究者 齊藤勇二
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
病院脳神経内科診療部 医師

緒言

パーキンソン病 (PD) などの Lewy 小体病において、認知症の合併は予後不良因子であり、PD 患者における認知症の発症リスクとしては嗅覚低下やレム睡眠行動異常症 (RBD)、自律神経障害などが考えられている。近年、PD 患者の運動症状発症以前からすでに睡眠障害や精神症状、自律神経障害などの非運動症状がみられ、これらが将来の PD 発症を予測するバイオマーカーとして注目され、さらにこれらの非運動症状が運動症状のサブタイプとも関連していることがわかってきている。RBD は発症予測マーカーとして特に有用と考えられ、他の Lewy 小体病であるレビー小体型認知症でも高頻度に見られ、認知症とのつながりが考えられる。さらに、RBD 患者では嗅覚障害や自律神経障害などの合併が多いなど、互いに関連していることが推察される。

本研究では RBD の存在や出現様式による特徴によって Lewy 小体病患者を分類し、認知症に関連するとされる嗅覚低下・自律神経障害がどのように認知症の発症・進展に影響するかを明らかにし、Lewy 小体病における認知症発症リスク因子を同定することを明らかにする。さらに、脳脊髄液中の蛋白質を網羅的に解析・比較し、認知症発症に関わる分子を同定してバイオマーカーとしての有用性を検討することを目的とする。

方法

本研究では Lewy 小体病患者の臨床症状のうち RBD の出現形式により層別化し、各群の認知機能の進行速度の違いを検討し、脳脊髄液中の病原蛋白質の増減の検討に加え、蛋白質を網羅的に解析することによって各群の分子動態に違いがあるかを検討した。また、Lewy 小体病と同様のパーキンソニズムを呈するパーキンソン症候群などのタウオパチーについてもデータベース化を進めた。

1) Lewy 小体病患者の臨床症状はすでに NCNP 病院のコホート研究を利用して検討した。運動症状だけでなく、認知症に関連するとされる睡眠障害や自律神経障害、嗅覚障害といった臨床症状に加え、髄液中タウ濃度などに着目して PD 患者群の細分化を行った。

2) 1) の臨床データに基づいて細分化した PD 患者の脳脊髄液を網羅的に解析したデータをもとに、有用な分子が見いだせるか統計的に検討した。なお、脳脊髄液の網羅的解析はがん研究会植田幸嗣博士により行われた。

3) タウオパチーのデータベース化には NCNP 病院での診療歴のある患者を抽出し、臨床情報を中心に収集した。

結果

パーキンソン病評価入院患者のうち、認知機能の発症リスクとされている睡眠障害 (RBD) と運動症状の発症時期の違いにより患者群を分け、臨床的な認知機能の進行の経時的データを検討した。例数が少ないものの、RBD が先行した群では RBD が運動症状に遅れて出現した群および RBD が認められない群に比べて認知機能の低下が速い傾向がみられた。また、RBD が先行する群では脳脊髄液中のアルツハイマー病マーカーであるタウやアミロイド β の量がそれぞれ高値、低値である傾向がみられた。これらの群における全脳脊髄液および脳脊髄液中エクソソームのプロテオーム解析により、それぞれ約 1300、約 2000 の分子を同定した。同定した分子をもとにパスウェイ解析など相互関係解析を行い、RBD を有していない PD を基準に他の群と比較したところ、アミロイドシグナルとの関連が示唆された。タウオパチーのデータベースを行い、Tau-PET で神経変性を可視化し、それが病理学的にも裏付けられた例 (Saitoh et al., *in preparation*) や、疾患特異的な解剖学的病変を可視化することができた例 (Saitoh et al., *Clin Nucl Med.* 2021) を示し、神経変性疾患における PET トレーサーの有用性を実証した。

考察

パーキンソン病など Lewy 小体病の運動症状発症前の発症予測マーカーとして注目されている RBD は認知機能低下を併発しやすいといわれているが、その有無だけでなく発症時期によっても認知機能や自律神経障害 (血圧調節障害) などの非運動症状に影響を及ぼすため、RBD の出現時期にも着目することで Lewy 小体病患者の診療の質を向上させることができる。RBD で層別化することで、脳脊髄液中のアルツハイマー病に関連した分子・分子間ネットワークに違いがあったことから、RBD の発症とアルツハイマー病理の間には何らかの関連がある可能性がある。レビー小体病の病原蛋白質である α シヌクレインとタウ、アミロイド β の間にどのような相互作用が引き起こされているかは不明であるが、単分子にだけでなく、複数の分子の動態に着目した

解析により、神経変性性認知症疾患の病態が明らかになると思われる。

doi: 10.1016/j.ensci.2021.100326.

結論

PD など Lewy 小体病における認知症発症リスクの同定に関する臨床・分子的バイオマーカーの探索を行った。RBD は臨床サブタイプに影響し、RBD による Lewy 小体病患者の層別化をもとにした生化学的解析により、その分子基盤が明らかになり、病態を反映するバイオマーカーを同定できる可能性がある。

業績

1. [Saitoh Y](#), Takahashi Y. Riluzole for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegenerative Disease Management*. 2020 Dec;10(6):343-355. doi: 10.2217/nmt-2020-0033. Epub 2020 Aug 27.
2. Minakawa EN, Popiel HA, Tada M, Takahashi T, Yamane H, [Saitoh Y](#), Takahashi Y, Ozawa D, Takeda A, Takeuchi T, Okamoto Y, Yamamoto K, Suzuki M, Fujita H, Ito C, Yagihara H, Saito Y, Watase K, Adachi H, Katsuno M, Mochizuki H, Shiraki K, Sobue G, Toda T, Wada K, Onodera O, Nagai Y. Arginine is a disease modifier for polyQ disease models that stabilizes polyQ protein conformation. *Brain*. 2020 Jun 1;143(6):1811-1825. doi: 10.1093/brain/awaa115.
3. Ishihara T, Okamoto T, Saida K, [Saitoh Y](#), Oda S, Sano T, Yoshida T, Morita Y, Fujita A, Fukuda H, Miyake N, Mizuguchi T, Saito Y, Sekijima Y, Matsumoto N, Takahashi Y. Neuronal intranuclear inclusion disease presenting with an MELAS-like episode in chronic polyneuropathy. *Neurol Genet*. Dec 2020, 6 (6) e531. doi: 10.1212/NXG.0000000000000531.
4. [Saitoh Y](#), Imabayashi E, Mukai T, Matsuda H, Takahashi Y. Visualization of Motor Cortex Involvement by ¹⁸F-THK5351 PET Potentially Strengthens Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clin Nucl Med*. 2021 Mar 1;46(3):243-245. doi: 10.1097/RLU.00000000000003456.
5. [Saitoh Y](#), Miyazaki M, Arai N, Takahashi Y. Pneumomediastinum while using mechanical insufflation-exsufflation after recovery from riluzole-induced interstitial lung disease. *eNeurologicalSci*. 2021 March; 22: 100326.

脳脊髄液試料を活用した認知症の分子病態と脳画像に関する研究

研究協力者 功刀浩
帝京大学医学部精神神経科学講座 教授
(研究分担者：大町佳永)

緒言

前頭側頭型痴呆(FTLD)は人格変化や行動・言語障害を特徴とする認知症で、若年性認知症の20%を占めるがいまだに診断に有用なバイオマーカーは見いだされていない。我々は、脳脊髄液(CSF)のオミックスを行い FTLD の脳内分子病態の解明と診断マーカーの開発を目指している。昨年度までに CSF のプロテオームやミネラルの網羅的解析などの多層的オミックス解析を行ってきた。今年度は CSF 中の脂質について網羅的な解析(lipidomics)を行った。

方法

FTLD 群(n=16、男性 4 名、平均年齢 69.2±10.5 歳)と健康高齢者群(n=17、男性 4 名、平均年齢 64.0±6.4)の CSF サンプルおよび同時に採取した血漿サンプルについて、CE-MS により測定した(国立食品医薬品研究所)。Analysis of Covariance (ANCOVA)によって年齢・性を統制し両群間の平均の差の検定を行った。

本研究は、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得て行われた。

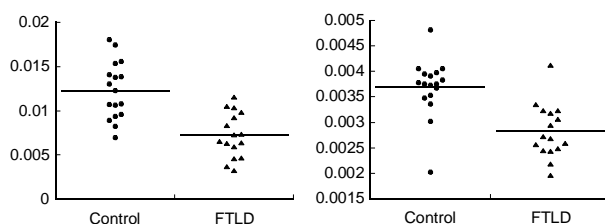
結果

CSF サンプルで 140 分子、血漿サンプル 707 分子の測定が可能であった。ANCOVA による比較では、FDR 補正を行っても有意差 ($q < 0.05$) を認めた分子は CSF、血漿ともに存在しなかった。しかし、血漿で $q < 0.1$ は 2 分子存在し、いずれもリゾリン脂質であり、FTLD 群で減少していた(分子 A: nominal $p = 0.000087$, FDR $q = 0.061$; 分子 B: nominal $p = 0.00042$, FDR $q = 0.099$) (Fig. 1)。

また、nominal $P < 0.05$ の分子について検討したところ、FA(18:2)リノール酸→FA(18:3) γ リノレン酸→FA(20:3)ジホモ γ リノレン酸→FA(20:4)アラキドン酸→FA(22:4)ドコサテトラエン酸というアラキドン酸類生合成経路に含まれる脂肪酸(FA)の減少が血漿・CSF の両者においてみられた。

また、CSF 中の分子と血漿中の分子の相関を検討したところ、一部の FTLD 患者において健常者において観察される相関から大きく外れる分子をいくつか同定した。

Figure 1. 血漿において差(FDR 補正 $q < 0.1$)がみられた分子 A, B



考察

FTLD において2つのリゾリン脂質が血漿中で低下していることが示唆された。リゾリン脂質はさまざまな生物学的役割をもつ脂質メディエータとして注目されており、FTLD での病態生理との関連性が注目される。

また、老化や脳の変性疾患によって、脳内の n-3 系、n-6 系多価不飽和脂肪酸の減少が生じることは古くから知られているが、本研究では、特にアラキドン酸生合成経路に含まれる分子を含む油脂の低下が血漿・CSF 中でみられた。この経路に含まれるリノール酸はシヌクレイン蓄積とパーキンソン病との関連やシナプス小胞膜組成の薄さとの関連性が示唆されている。

結論

FTLD 患者では血漿中のリゾリン脂質、血漿・CSF 中のアラキドン酸生合成経路に含まれる FA を含む分子の低下などがみられた。しかしながら、本研究では検体数およびそれにとりまなう服薬情報や FTLD 亜型などの情報が限られていた。今後、詳細な臨床情報を含む多検体での検討が重要となる。

認知症における PET 分子イメージングに関する研究

分担研究者 松田博史
一般財団法人脳神経疾患研究所南東北創薬・
サイクロトロンセンター 院長

緒言

アルツハイマー病 (AD) は、細胞外アミロイド-β (Aβ) プラークと過剰リン酸化タウで構成される細胞内神経原線維変化の存在によって特徴付けられる。これらのタンパク質は局所シナプス破壊に関連しているため、ADは局所シナプス機能不全を伴う切断症候群とみなすことができる。前年度は健常高齢者とアルツハイマー病患者との間の灰白質類似性に基づいた構造ネットワーク分析を使用して18F-THK5351保持に関連したローカルネットワーク測定値を検討した。その結果、健常高齢者群では18F-THK5351集積と有意な正の相関を示した一方で、ローカルネットワーク測定値は、アルツハイマー病患者群で有意な負の相関を示した。この結果はわれわれがすでに報告した自動拡散コネクトメトリ分析で見られる結果と同様であった。今年度はさらに、健常高齢者群において18F-THK5351集積とローカルネットワーク測定値をボクセル単位で直接比較することにより、タウ蛋白集積に伴う神経炎症が構造ネットワークにどのような影響を及ぼすかを検討した。

方法

健常高齢者群

正常な認知機能を有する 47 人の健康な日本人を募集した。これらの健常高齢者群は 11C-PIB PET ではアミロイド蓄積陰性、および 18F-THK5351 PET では側頭葉内側部への集積に加えわずかな集積を側頭葉底部、島皮質、後部帯状回から楔前部、内側前頭前野に認めた。年齢は 65.0 ± 7.9 歳であり、平均 MMSE スコアは 29.3 ± 1.1 、WMS-R LMII は 13.4 ± 2.9 、CDR は 0 であった。国立精神・神経医療研究センターの倫理審査委員会の承認を得て、すべての被験者から、この試験に参加するという書面による同意を得た。

画像取得

すべての参加者は、32 チャンネルヘッドコイルを使用して 3-T MRI システム (Verio, Siemens, Erlangen, ドイツ) で 3 次元サジタル T1 強調 MPRAGE 画像を取得した。11C-PIB および 18F-THK5351 PET は Siemens/Bigraph TruePoint16 Scanner を用いて撮像した。

個人レベルの構造ネットワーク

単一被験者 GM ネットワークは、完全に自動化された方法

(https://github.com/bettytijms/Single_Subject_Grey_Matter_Networks;バージョン20150902) を使用して、ネイティブスペースの灰白質セグメンテーションから皮質内の類似性に基づいて抽出された。ノードは、脳内の小さな関心領域として定義された ($3 \times 3 \times 3$ ボクセルキューブ、 $6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ に対応)。接続性は、任意の2つのノード間の対応するボクセルの灰白質密度値にわたるピアソンの相関で定量化された高い統計的類似性によって定義された。次に、各ノードを45度の倍数でθ角度だけ回転し、すべての軸で反射して、ターゲットノードとの最大類似値を特定した。灰白質類似性マトリックスは、相関値の有意性が被験者固有の閾値 $p < 0.05$ を超えたときに脳領域を接続することにより構築され、ランダム置換法に基づく複数のテスト用に修正された。得られたネットワークを二値化し、次の4つのローカルネットワーク測定値を計算した。媒介中心性 (ノードを通る最短経路の割合)、クラスタリング係数 (近隣ノードの相互接続性のレベル)、特徴的な経路長 (2つのノード間の最短距離)、および次数 (ノードあたりのエッジの数)。

18F-THK5351 PET と構造ネットワーク指標の相関解析

Statistical Parametric Mapping と Biological Parametric Mapping (BPM) toolbox を用いて、両画像の相関を直接ボクセルレベルで行った。

結果

ボクセル単位多重比較補正を使用して、18F-THK5351 の蓄積と両側尾状核の4つのローカルネットワーク測定値との間に有意な正の相関が観察された (Family Wise Error, $p < 0.05$)。有意な負の相関は検出されなかった。

考察

本研究では、18F-THK5351 の蓄積と、両側尾状核の局所構造ネットワーク測定値との間に有意な正の相関が検出された。タウの病理に加えて、18F-THK5351 の蓄積は、もともとタウ特異的トレーサーが開発されたにもかかわらず、非特異的アストログリオーシスを反映しており、モノアミンオキシダーゼ B (MAO-B) へのオフターゲット結合を示すと報告されている。18F-THK5351 の局所的な蓄積は、主に内側側頭葉に見られ、程度は低いものの、下側頭葉、島、後帯状皮質/楔前部、および基底前頭葉に見られた。これらの所見は Braak ステージ III ~ IV に対応し、原発性加齢性タウオパチー

(PART) を反映していると考えられている。
BPM分析により、¹⁸F-THK5351の蓄積と尾状核の4つのローカルネットワーク測定値との間に有意なボクセルごとの正の相関が明らかになった。媒介中心性は、ノードを通過する最短経路の割合であり、今回の結果は、尾状核が¹⁸F-THK5351蓄積のハブとして重要な役割を果たしていることを示唆している。局所レベルでは、¹⁸F-THK5351の蓄積に伴い、尾状核の特徴的な経路長とクラスター化係数の増加が検出された。尾状核の特徴的な経路長の増加は、尾状核の局所効率が¹⁸F-THK5351の蓄積とともに減少することを示唆している。一方、クラスタリング係数の増加も検出され、ネットワーク分離の進行状況が示される。したがって、¹⁸F-THK5351の蓄積は、尾状核におけるネットワーク統合と分離の間のバランスを局所的に障害するものと考えられる。尾状核は、タウの病理によって影響を受ける最初の脳領域である内側側頭葉に連結しているため、尾状核のネットワーク増強の発見は、高齢者における正常なタウおよびMAO-B蓄積に対する一種の代償反応を反映している可能性がある。

結論

¹⁸F-THK5351の蓄積と尾状核の構造ローカルネットワーク測定値との間に有意なボクセルごとの正の相関が検出された。これらの結果は、尾状核が認知機能正常な高齢者の灰白質ネットワークの変化に重要な役割を果たしていることを示唆する。

業績

1. Maikusa N, Fukami T, Matsuda H. Longitudinal analysis of brain structure using existence probability. Brain Behav 2020 e01869 doi: 10.1002/brb3.1869
2. Sone D, Shigemoto Y, Ogawa M, Maikusa N, Okita K, Takano H, Kato K, Sato N, Matsuda H. Association between neurite metrics and tau/inflammatory pathology in Alzheimer's disease. Alzheimer and dementia: Diagnosis, Assessment, and Disease Monitoring 2020 doi:10.1002/dad2.12125
3. Shigemoto Y, Sone D, Okita K, Maikusa N, Yamao T, Kimura Y, Suzuki F, Fujii H, Kato K, Sato N. Matsuda H. Gray matter structural networks related to ¹⁸F-THK5351 retention in cognitively normal older adults and Alzheimer's disease patients. eNeurologicalSci 22,100309,2021. doi: 10.1016/j.ensci.2021.100309

参考文献

1. Sepulcre J, et al. Tau and amyloid β proteins distinctively associate to functional network changes in the aging brain. *Alzheimers Dement*. 2017;13(11):1261-1269. doi:10.1016/j.jalz.2017.02.011.

認知症の家族介護者に対する認知行動療法の開発および有効性の検討

分担研究者 堀越勝
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
認知行動療法センター センター長

緒言

日本では日常生活自立度Ⅱ以上の認知症患者のうち、半数が居宅で介護が行われている。認知症の家族介護者に対する精神的なケアの向上は喫緊の課題であるが、その手法については十分に検証されていない。

海外ではこれまでに認知行動療法（Cognitive Behavioral Therapy: CBT）による介入が奏功していることが報告されており、日本でも CBT による認知症の家族介護者への介入として用いられることが期待されている。

我々はこれまでに、研究の1として、訪問看護師が訪問先で実施する CBT の有効性の検討、さらに研究の2として、情報提供と交換を兼ねて、集団による CBT プログラムの有効性を検証に着手してきた。しかしながら、今般の COVID-19 感染拡大による影響で、上記の方法で認知症の家族介護者にアクセスすることが妨げられることとなった。

そこで、我々はコロナ禍においても実施可能なオンラインにより CBT 介入の手法を開発し、実施可能性や安全性などを検証することにした。

目的

未曾有の COVID-19 感染拡大の影響下にあっても認知症の家族介護者に対して CBT を提供すること、感染リスクの観点から、オンラインでの CBT 介入の提供の実施可能性の検討を行うこととした。

方法

研究：認知症の家族介護者を対象としたオンラインを用いた集団CBTプログラム

研究デザイン：単群の前後比較試験、セッティング：小平市包括支援センター中央センター、研究対象者：20歳以上の認知症の家族介護者、研究アウトライン：①市報およびチラシにて研究参加希望者を募集、②第1回開始前に研究説明・同意を実施、③介入前後、介入終了1ヶ月後に評価を実施、④介入の実施：90分×5回の集団プログラム、Web会議システムであるZoomを活用)、評価方法：主要評価項目は抑うつ不安症状 (HADS)、副次的評価項目は、介護負担感 (J-ZBI)、認知症患者の周辺症状 (NPI-Q) 等。介入は英国のCoping strategy program (START) ¹⁾ を用いた。本研究はNCNPの研究倫理承認を得て実

施した (A2017-049)。

結果

COVID-19の感染拡大の影響下でも実施可能であるオンラインを活用した集団CBTの実施方法を検討した。

1回目は講師のみオンラインで参加者は感染対策を徹底した会場で参加する方法、2回目は講師・参加者共にオンラインで実施する方法を試行した。講師のみでオンラインによって実施した際の参加者は10名、講師と参加者ともにオンラインで実施した際の参加者は5名であった。平均出席数は4.09回 (SD = 1.28)、プログラムの完遂率 (80%以上参加) は78.3%であり、オンラインでの集団CBTは、対面での集団CBTと比較して、平均出席数、プログラム完遂率、各回のプログラムの満足度や役立ち度に有意差が認められなかった。

考察

COVID-19の感染拡大に伴い、実施機関である市の判断で集団CBTの開催が中止となり、感染状況下でも実施可能な心理的支援を検討する必要が生じた。医療機関に勤務する講師の会場派遣が困難であるため、まずは講師のみオンライン、参加者は会場で参加という形態で試行した。講義時は運営に支障が生じなかったが、高性能のマイクやカメラを活用したにも関わらず、演習時には講師と参加者の円滑な交流が妨げられて「やりにくかった」という感想も聞かれた。集団療法では参加者の非言語的な要素も観察しながら参加者同士の相互交流を活用する必要があり、これらの問題を解消する必要があると考えられた。講師と参加者ともにオンラインで実施した際には、対面での集団CBTと遜色なく相互交流を保つことができた。しかし、認知症の家族介護者は高齢である場合が多く、遠隔会議システムへのアクセスが出来ずに参加者が制限されたり、包括支援センターのスタッフが参加者に対してアクセス方法を教授したり予行練習を実施する等の事前準備が必要となった。

結語

認知症の家族介護者に対するケアが充分に行われていないことは周知の事実であるが、対象者が患者介護の現場を離れることが難しいなどアクセスの問題を克服する必要がある、また日本でも海外で有効な手法であるCBTが有効かどうか検証を試みてきた。しかし、COVID-19感染拡大という事態に遭遇し、研究が遅滞生じたため、オンラインによる介入に変更し、集団へのCBTの実施可能性を検討した。ある意味では、オンラインやその他のデジタルディバイ

スによって介入する道が開けたと言える。

本研究の結果、オンラインCBTを有効に実施するには、実施するための設備を用意することや導入するための指導者の訓練が必要であること、また実施対象者の殆どがデジタル機器に慣れていない高齢者世代であり、苦手意識を克服する工夫が必要であることが判明した。

一方で、デジタル技術の発達も目覚ましく、様々な障害や苦手意識を克服するための仕組みが用意されて来ており、デジタル機器時代も日々進化し、ユーザーフレンドリーに変わりつつある。そうした最新技術を用いて、認知症の家族介護者、さらには認知症患者自身に対する介入も可能になる日も近いと予感することができた。

我々の班は、今年度を最後に本研究班での研究を終了することとなったが、最新の技術を応用した認知症の家族介護者へのケア、更には認知症患者自身への介入研究を継続していきたい。

業績

1. 田島美幸, 原祐子, 横井優磨, 堀越勝, 認知症の家族介護者に対する集団認知行動療法プログラムの実施可能性と有用性の検討, 老年精神医学雑誌

参考文献

1. Livingston G.et.al: Clinical effectiveness of a manual based coping strategy programme (START, STrAtegies for RelaTives) in promoting the mental health of carers of family members with dementia: pragmatic randomised controlled trial. BMJ. 347. f6276. 2013.

中枢神経変性疾患の臨床データベースを用いて病態解明につなげる研究

分担研究者 塚本忠
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
病院脳神経内科 医長
認知症センター センター長

緒言

これまでの諸報告から、認知症治療薬の治験において、前臨床期・軽度認知症期のひとへの投与は必須であり、また、この段階への様々な介入がもっとも効果があると考えられている。

方法

前臨床期認知症のデータベースを構築するためのモデルケースとして、小平市での自覚的認知機能障害のひとや前臨床期認知症のひとを対象として「もの忘れチェック会」を小平市、地域包括支援センター、NCNP 病院認知症センターが共催する。このチェック会の中の自記式テスト(TestYourMemory-J)で認知機能を調べ、健常者・MCI 領域の人には当センターのプレクリニカルコホートに参加することを呼びかけた。イベントをマニュアル化し、チェック会を定期的に開催し、参加者規模を拡大し、前臨床期認知症コホートへの研究登録者の総数を増やし、データを充実させる。得られたデータの統計解析により認知症初期の病態に関する新知見を見出す。

結果

2017 年 8 月に市、10 月に市医師会にももの忘れチェック会の話をもちかけ、2018 年 4 月から小平市高齢者支援課と具体的な構想を計画し、同年 9 月 15 日第 1 回もの忘れチェック会開催(参加人数 14 人)。その後、回を重ね(2019 年 9 月には東久留米市認知症疾患医療センター・東久留米市役所・東久留米市医師会と協議し 9 月 9 日に同市でももの忘れチェック会開催)、2020 年 2 月以降は COVID-19 渦のため開催数が減ったものの、Web 講演などの工夫をし、2020 年 9 月、2021 年 3 月にももの忘れチェック会開催した。参加者における性別は男性 20%、女性 80%であり、健常者 42%、MCI 32%、認知症 26%であった。2020 年 3 月現在、プレクリニカルコホート登録者は 63 人となっている。

介入研究を行うために、小平市の健康推進課が行っている「健康ポイント」事業(歩行などの活動量に応じて商品券などに交換できる健康ポイントを付与するというインセンティブによって、市民の健康を向上させる事業)にも 2020 年度から参加した。2020 年 7 月に健康ポイント参加者に自記式認知症テストを行い(総数 203 人)15%が MCI 領域にあ

ることが分かった。2021 年 2 月に行った 1 年後のテストの結果では、運動活動量との相関は見られないものの、認知機能は総じて向上していた。

考察; 今後、COVID-19 の感染予防に注意を払いつつ、もの忘れチェック会の開催を毎月行う予定である。

健康ポイント事業でも今後、毎年の活動量と認知機能の変化の相関を調べていく。

結論

地域自治体・医師会と連携して認知症を早期に発見するシステムを構築した。また、運動が認知機能に及ぼす影響を調査する系の研究の緒についた。

認知症介護者のためのインターネットを用いた心理評価・自己学習ツールの開発

分担研究者 大町佳永
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
病院第一精神科 医長

緒言

認知症の介護負担が増すにつれて、介護者のストレスや疲労、社会的孤立、うつ、睡眠障害等が問題となっている。心理社会的介入が介護者の精神的苦痛を軽減し、健康状態を改善することが報告されているが、介護者は時間的・体力的制約が大きいいため、場所や時間の制限の少ないインターネットを用いる介入の有用性が、そのコストの低さと共に期待されている。海外でのランダム化比較試験 (randomized control trial; RCT) の結果から、インターネットを用いた心理社会的プログラムにより介護者の知識が向上し、燃えつきや不安、うつが軽減することが報告されている (Cristancho-Lacroix V et al, 2015、Blom MM et al, 2015)。The World Health Organization (WHO) により、介護者の知識や技術の向上、精神的ストレスの軽減、自己効力感やメンタルヘルスの向上を目指し、自己学習プログラム **iSupport** が開発された。

介護うつや燃えつきを予防、早期発見するためには、介護者自身が自分のストレスに気づき、医療や介護サービスなどに相談できるようになることも重要と考えられる。本研究では、認知症介護者の介護負担や不安、うつなどをインターネット上で自己評価するシステムを開発する。介護者が自身の介護負担感や精神状態をセルフモニタリングできるようになることで、介護うつの早期発見、医療や社会資源へのアクセスが促進され、認知症介護者のメンタルヘルスの向上が期待される。

方法

初年度は、**iSupport** の翻訳と日本語化を行う。2年度は、介護負担度、不安症状、うつ症状等を評価するための心理評価尺度を選定し、**iSupport** 日本版と共に提供可能な心理評価システムを開発する。最終年度は、心理評価結果をフィードバックするシステムを開発する。認知症の人を介護している家族と医療・介護の専門家等で構成される2つのフォーカスグループにおいて、**iSupport** 日本版パイロット版と心理評価システムを試用・評価し、プログラムを完成させる。

結果

初年度は、**iSupport** を日本語に翻訳し、公益社団

法人認知症の人と家族の会の協力のもとで、日本の文化や介護環境、制度等に合わせ **iSupport** の日本語化を行った。

2年度は、海外での先行研究¹⁻³を参考にして、下記の心理評価尺度を用いることを決定した。

- ・介護負担度：Zarit 介護負担尺度日本語版 (身体的・心理的負担や経済的困難を介護負担として測定する尺度)
- ・介護肯定感：認知症介護肯定感尺度 21 項目版 (認知症の人の介護を通して良かったと思う状況、場面、内容など肯定的側面を明らかにするための尺度)
- ・不安：GDA-7 日本語版
- ・うつ：CES-D scale
- ・全般性 QOL：日本版 EuroQol 5-Dimension
- ・パーソン・センタード・ケアの意識：日本語版 ADQ (認知症介護においてどの程度パーソン・センタード・ケアを行っているかを評価するための尺度)
- ・アプリケーションの満足度：CSQ-8J

社会資源の利用の変化等は、アンケート調査を同時に実施し聴取することとした。**iSupport** 日本版 (e-Learning) と個人情報管理システムに、上記の心理評価とアンケート調査 (ePRO) を搭載したプログラム『**iSupport-J** システム』のパイロット版を作成した。

最終年度は、ePRO から入力された介護負担度、抑うつ、不安の点数の推移をグラフとして表示し、利用者にフィードバックするシステムを開発した。家族介護者 8 名と専門家 8 名の 2 つのフォーカスグループを設定し、グループ毎に **iSupport-J** システムパイロット版の 2 週間の試用と評価を行った。ePRO については文言や表示等の修正を行い、**iSupport-J** システムを完成させた。令和 3 年 1 月より開始した **iSupport** 日本版の有用性を検証するための RCT において、**iSupport-J** システムとフィードバックシステムの使用を開始した。

考察

介護の負担感や不安、うつの変化をグラフで表しフィードバックすることで、介護者のセルフモニタリングにつながることを期待される。**iSupport** 日本版の RCT では、参加中に重度のうつ状態 (CES-D Scale で 26 点以上)、不安状態 (GAD-7 で 15 点以上) に陥った可能性が疑われる場合には、フィードバックに加えて事務局から被験者に連絡し、認知症の人と家族の会の電話相談、地域の精神保健福祉サービス等を紹介することとした。一方で、ネガティブな感情を評価するばかりでは、被験者に介護の辛い部分のみに目を向けさせてしまう恐れがある。そ

ここで、介護をすることによって得られる良い面にも焦点を当てられるよう、心理評価システムには認知症介護肯定感尺度を取り入れた。

結論

認知症介護者の介護負担感や肯定感、不安、うつなどをインターネット上でセルフモニタリングするためのシステムを開発した。

参考文献

1. Mehta KM, Gallagher-Thompson D, Varghese M, Loganathan S, Baruah U, Seeher K, et al. iSupport, an online training and support program for caregivers of people with dementia: study protocol for a randomized controlled trial in India. *Trials*. 2018;19(1):1–10.
2. Teles S, Ferreira A, Seeher K, Freil S, Paul C. Online training and support program (iSupport) for informal dementia caregivers: protocol for an intervention study in Portugal. *BMC Geriatrics*. 2020.20(1),10.
3. Pinto-Bruno AC, Pot AM, Kleiboer A, Drees RM, van Straten A. An Online Minimally Guided Intervention to Support Family and Other Unpaid Carers of People With Dementia: Protocol for a Randomized Controlled Trial. *JMIR Research Protocols*. 2019.8(10),e14106.

Studies on Neurocognitive neurodegenerative Disorders: Pathophysiology, Prevention, Therapy and Care

Hidehiro Mizusawa, M.D., Ph.D.
Principal Investigator of the Research Group
National Center of Neurology and Psychiatry

(1) Purpose of the study group

The mission of the study group was to elucidate the pathogenesis/pathophysiology of neurocognitive neurodegenerative disorders, and to develop methods for their prevention, therapy and care. To achieve the goal, the group conducted following three projects; 1) basic research, 2) clinical investigation, and 3) development of new treatment and care of neurocognitive disorders.

(2) Members of the research group:

Hidehiro Mizusawa, Tomohiro Kabuta, Toshiyuki Araki, Masayuki Sekiguchi, Masato Hasegawa, Yoshitaka Nagai, Yuji Saitoh, Hiroshi Kunugi, Hiroshi Matsuda, Masaru Horikoshi, Tadashi Tsukamoto, Yoshie Ohmachi

(3) Results and Discussion

1) **Translational studies of neurocognitive disorders**

We found that sleep disturbance is a possible modifiable risk factor in Alzheimer's disease model mice as well as Parkinson' disease model mice.

To apply some results of basic research to clinical investigation, we have done proteome analyses of cerebrospinal fluids of patients with and without preceding sleep disturbance in neurocognitive disorders.

We found that L-DOPA treatment reduced pathological changes in model mice of Parkinson's disease, and determined the structures of tau and alpha-synuclein filaments from human brains. We also found that SIDT2, a component of RNautophagy, palys important role in the degradation of neurodegeneration-related mRNAs and proteins.

2) **Clinical investigation of neurocognitive disorders**

In grey matter network, we found that tau accumulation increased brain connectivity in normal controls without amyloid beta deposits, while it decreased structural connection of brain in patients with Alzheimer's disease spectrum.

3) **Study on new treatment and care of the disorders.**

We examined the utility of CBT program among family members who care patients with neurocognitive disorders. For persons who care patients with these disorders, we have started the preparation of Japanese version of iSupport, which was developed based on WHO's Mental Health Gap Action Program. We have started Brain Health Project Kodaira under the collaboration with Kodaira city as well as Kodaira Medical Association