

課題番号：29-5

研究課題名：ポリグルタミン病モデルマーマセットシステムを用いた病態理解と治療法開発

主任研究員：国立精神・神経医療研究センター 神経研究所モデル動物開発研究部 部長 関和彦

分担研究者：信州大学農学部 助教 富岡郁夫

大阪大学大学院医学系 教授 永井義隆

国立精神・神経医療研究センター

神経研究所 所長 和田圭司

脳病態統合イメージングセンター 先進脳画像研究部 部長 花川隆

病院・脳神経内科診療部長 高橋祐二

臨床検査部 医長 齊藤祐子

#### 1 研究目的：

精神・神経疾患について、齧歯類を用いた遺伝子改変モデル動物は多数報告されているが、ヒトへの外挿が困難であるため、効果的な治療法の開発につながっていないのが現状である。動物実験の結果をヒトの精神・神経疾患の治療方法や治療薬に結びつけるためには、ヒトと近縁種であるサルを用いたモデル動物の作出が必須である。当センターでは、これまでの所内共同研究によって、発症し進行形の症状を呈する世界初の病態モデルマーマセットの作出及び系統化に成功している。本研究の目的はこのマーマセットシステムの維持・発展を行うと同時に、研究所-病院連携研究によって同モデルを用いた治療法開発や治療薬候補化合物検索の研究基盤を確立する事を目的とする。このマーマセットシステムを作出・解析できる点でNCNPには他にはない戦略的な優位性があるが、この優位性を活かして研究成果を生むためには、基礎（研究所）と臨床（病院）の連携研究を支える研究基盤の整備が必要である。この研究基盤を用いた継続的な研究によって、難治性疾患であるポリグルタミン病の新たな診断・治療方法が提案できる可能性がある。

#### 2 研究方法：（最後に、倫理面への配慮について、記入のこと）

これまで確立してきた発光的手法を用い、前年度解析した遅延発症型 F1 個体の精子を用いて、F2 世代を作出した。作出された個体及び年齢・性別が

同じコントロール個体を用いて発症時期や進行度を反映するバイオマーカー開発を行った。具体的には qPCR, FISH などの分子遺伝学的解析に加えて、脳機能イメージング、行動解析、生化学的解析を行った。なお全ての実験は NCNP 神経研究所長類研究倫理委員会において承認を受けている。

#### 3 研究結果及び考察

本年度は 1) 行動バイオマーカー開発、2) 生化学バイオマーカー開発、3) 脳機能イメージングバイオマーカー開発、4) 病理解析によるヒト-サル共通のマーカー開発、5) NCNP の MJD/SCA3 患者におけるバイオマーカーの開発とサルとの比較、の項目別に研究を進めているので、各項目における研究成果についてその概略を説明する。

##### 【行動バイオマーカー開発】

本項目ではこれまで様々な行動計測系を試案してきたが、最終的には日内活動量・オープンフィールド試験、ローターロッド試験、はしご上り課題の 4 試験を選択し、テストバッテリーを構成した。さらに、観察による運動異常を評価するためのマーマセット PolyQ スコアを考案し解析を進めた。本年度誕生した晩発発症個体の F2 個体の計測開始に向けて、準備が整った段階である。次年度複数の TG 個体を対象にこの 5 項目を用いた表現型・発症評価を行ってゆく。

##### 【生化学バイオマーカー開発】

本項目では、polyQ 病モデルマーマセット（脊髄小脳失調症 3 型）の血液エクソソームのプロテオーム解析からバイオマーカーの確立を目指している。マーマセットの血清エクソソームのオミクス解析を行うために、LC-MS/MS 測定を行った。その結果、いずれの検体からも 2000 を超える多数のタンパク質が検出された。このうち、PolyQ 病モデルマーマセットにおいて、野生型と比較して、月齢に関係なく共通して増加しているタンパク質を 15 種同定したできたことは大きな前進であった。また、一方、ヒトハンチントン病の生化学的バイオマーカーとして有効性が報告されている血清中 Neurofilament Light chain 濃度の解析を英国 UCL と国際共同研究によって推進し、これまでに発症個体では顕著に高値になることが日英両施設における再現性も含めて確認している。

##### 【脳構造イメージングバイオマーカー開発】

本項目では、MRI や PET 計測によって明らかになる脳構造の変化が上記疾患のバイオマーカーとして確立できるか検討している。WT 群では 8 ヶ月齢まで灰白質が増加するが、TG 群は発症・未発症問わず増加率が低いなどの新規知見から、未発症 TG も潜在的には発症している可能性があることを見出した成果は大きな前進である。ヒト患者を対象とした研究では

SCD 群における小脳の有意な萎縮を確認しており、MRI がヒト-サル共通のバイオマーカーとして確立できる可能性を強く示唆している。

#### 【病理によるヒト-サル共通のマーカー開発】

導入遺伝子の発現脳内部位が異なる 2 ラインに対する病理学的検索を行った。結果としては封入体の数、ミクログリアの活性化の状態、GFAP による変性の度合い等により、部位別に評価を行ったが、明らかな相関がみられた。この事は、遺伝子発現の部位差は最終病理を反映しないという興味深い結果である。またヒトと近似した封入体の微細構造を確認したことは大きな前進である。

#### 【MJD/SCA3 患者のバイオマーカー開発】

本研究は「神経変性疾患における臨床指標・バイオマーカーの開発」(承認番号 A2017-131) との研究倫理承認を受けて、センター内での MJD/SCA3 患者の血清/髄液検体の収集を開始した。J-CAT を用いた患者レジストリを積極的に進め、年度内に 936 例の運動失調症患者の登録が得られ、553 例の遺伝子検査が終了した。MJD と診断されたのは 54 例(9.8%)であった。54 例の発症年齢は  $36.6 \pm 12.4$  歳、登録時年齢は  $45.8 \pm 13.5$  歳であった。登録時の SARA スコアの平均は  $14.5 \pm 5.5$  点であった。

#### 4 結論

F2 個体を用いたバイオマーカー検索を行うと共に、ヒト-サル共通の疾患バイオマーカーを確立しつつある。

#### 5 研究発表

国内、国外における口頭発表、論文数について件数を記入のこと。

(あわせて、主なもの、5 課題について記入のこと。)

口頭発表 1 件、論文数 1 件

- (1) Ikuo Tomioka, Yoshitaka Nagai, Kazuhiko Seki. Developing biomarkers for neurodegenerative diseases using genetically-modified common marmoset models. Neural Regeneration Research. 13(7): 1189-1190, 2018.
- (2) Seki K: Transgenic marmoset model of the polyglutamine diseases recapitulating progressive neurological symptoms. 2019 Salk Institute Adler Symposium on Alzheimer's disease. Salk Institute, USA, 2019/2/12、招待講演、国外

#### 6 知的所有権の出願・取得状況

なし

#### 7 自己評価 (次の 4 項目について記入のこと。)

##### 1) 達成度について

遅発性個体の F2 作出に若干遅れが認められるので、80%。しかし、脳機能イメージングや生化学計測でヒト-サル共通のバイオマーカー候

補が見つかったことは 150%。

- 2) 学術的、国際的、社会的意義について  
世界初の疾患モデル霊長類の F2 系統樹立に成功した点は学術的、国際的に評価できる。
- 3) 行政的意義について  
このモデル動物が本邦に多数存在する神経変性疾患患者の創薬研究に利用され、効果的な治療方法が確立すれば、医学的・社会的・経済的側面からも厚生労働行政の貢献は大きい。
- 4) その他特記すべき事項について  
特になし