

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、介護モデルの構築を図る。

2. 研究組織

水澤英洋 国立精神・神経医療研究センター
 和田圭司 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
 関口正幸 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
 村田美穂 国立精神・神経医療研究センター
 (～2018.9.9)
 齊藤勇二 国立精神・神経医療研究センター
 (2018.9.10～)
 功刀 浩 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

3. 研究成果

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、クラスター係数、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^{M-G-F} KI)マウスとMAPT KIマウスとを掛け合わせダブルノックインマウス($App^{M-G-F}/MAPT$ dKIマウス)を作製し、そのホモ化を終えた。予備データとしてCaMKK2の発現低下がリン酸化タウを増加させること、MAPT 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ている。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DNVを解析するため外部機関と共同で延髄孤束核や迷走神経背側核のin vivo 2光子イメージング手法を世界に先駆けて開発した。頸部迷走神経の電気刺激による孤束核神経活動イメージングに成功しており、今後腹部迷走神経活性化とDNV、孤束核の神経活動変化の関連性をロテノン投与の有無で検討する。

線維化 α -synを野生型マウス脳に接種しパーキンソン病やLewy小体型認知症にみられるリン酸化 α -syn病変が回路を伝わって伝播するモデルが確立されている。このモデルを用いて、L-DOPAが α -syn伝播に及ぼす影響を検討した。線条体では対照同様リン酸化 α -syn量の有意な低下はみられなかったが、黒質ではL-DOPA /benserazide投与群で有意な減少が観察された。接種側および対側の黒質TH陽性ニューロンを定量したところ、対照マウスでは接種側のTH陽性細胞は対側側と比較して有意に減少したが、L-DOPA/benserazide投与群ではこの減少が抑制された。L-DOPA/benserazide投与は黒質における α -syn凝集、マウス脳における病的 α -syn伝播を抑制すると思われる。

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 α -syn、ハンチンチンなど神経変性関連mRNAの分解を促進することを見出した。さらにRNautophagyの構成因子SIDT2の発現増加が異常蛋白質の凝集を軽減することを見出した。

2) 臨床における医療・介護モデルの構築

自治体との協力体制構築

小平市市役所、同医師会と協力体制を構築し、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。このノウハウをパッケージ化することで、今後北多摩北部医療圏の他市の行政・医師会・地域包括支援センター・認知症疾患医療センターへと拡大する。

また、小平市地域包括支援センター中央センター

(基幹型)から依頼を受けて、小平市「認知症地域支援推進員・認知症ケア向上事業」の一環として、認知症の家族介護者を対象とした認知行動療法研修に講師を派遣した(2017年~)。2018年には、小平市高齢福祉課および包括支援センターの協力を得て、「認知症の家族介護者を対象とした集団認知行動療法」介入研究の実施が決定し、介入プログラムを作成した。2019年5月よりプログラムを試行し、2019年10月より介入研究を開始した。

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。また三鷹市と協力体制を構築し包括支援センターにおいて家族介護者向け集団認知行動療法研究を実施した。

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. 研究成果一覧 (主任研究者・分担研究者)

【論文】計(49)件 うち査読付論文計(36)件 代表的なもの5件を記載

1. Ogawa M, Maruo K, Sone D, Shimada H, Suzuki K, Watanabe H, Matsuda H, Mizusawa H: Longitudinal analysis of risk factors for dementia based on Mild Cognitive Impairment Screen results and questionnaire responses from healthy Japanese individuals registered in an online database. *Alzheimers Dement* (N Y). 2019 Aug 2; 5:347-353. doi: 10.1016/j.trci.2019.06.003. eCollection 2019.
2. Taniguchi K, Yamamoto F, Arai T, Yang J, Sakai Y, Itoh M, Mamada N, Sekiguchi M, Yamada D, Saitoh A, Kametani F, Tamaoka A, Araki YM, Wada K, Mizusawa H, Araki W.: Tyrosol Reduces Amyloid- β Oligomer Neurotoxicity and

Alleviates Synaptic, Oxidative, and Cognitive Disturbances in Alzheimer's Disease Model Mice. *J Alzheimers Dis.* 2019 Jun 21. 2019; 70(3):937-952. doi: 10.3233/JAD-190098.

3. Minikel EV, Vallabh SM, Orseth MC, Brandel JP, Haik S, Laplanche JL, Zerr I, Parchi P, Capellari S, Safar J, Kenny J, Fong JC, Takada LT, Ponto C, Hermann P, Knipper T, Stehmann C, Kitamoto T, Ae R, Hamaguchi T, Sanjo N, Tsukamoto T, Mizusawa H, Collins SJ, Chiesa R, Roiter I, de Pedro-Cuesta J, Calero M, Geschwind MD, Yamada M, Nakamura Y, Mead S. Age at onset in genetic prion disease and the design of preventive clinical trials. *Neurology.* 2019 Jul 9; 93(2): e125-e134. doi: 10.1212/WNL.0000000000007745. Epub 2019 Jun 6.
4. Hashiguchi S, Doi H, Kunii M, Nakamura Y, Shimuta M, Suzuki E, Koyano S, Okubo M, Kishida H, Shiina M, Ogata K, Hirashima F, Inoue Y, Kubota S, Hayashi N, Nakamura H, Takahashi K, Katsumoto A, Tada M, Tanaka K, Sasaoka T, Miyatake S, Miyake N, Saito H, Sato N, Ozaki K, Ohta K, Yokota T, Mizusawa H, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Morishita S, Tsuji S, Takeuchi H, Ishikawa K, Matsumoto N, Ishikawa T, Tanaka F. Ataxic phenotype with altered CaV3.1 channel property in a mouse model for spinocerebellar ataxia 42. *Neurobiol Dis.* 2019 Oct;130:104516. doi: 10.1016/j.nbd.2019.104516. Epub 2019 Jun 20.
5. 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* doi: 10.1093/brain/awaa115.

【図 書】計(8)件 代表的なものを記載

1. 水澤英洋: 中山書店 改定第 9 版内科学書 6 神経変性疾患 総論. Vol.6 血液・造血器疾患 神経疾患 2019. 8. 30: 408-423
2. 塚本忠、水澤英洋、日本医事新報社、炎症性・

脱髄性疾患 プリオン病. 私の治療 2019-20 年度版、2019. 7. 5、584-586.

3. 水澤英洋ほか、プリオン病感染予防ガイドライン作成委員会 厚生労働省「プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究班」日本神経学会、プリオン病感染予防ガイドライン 2020、2020. 3、全 42 頁.

【学会発表】計(63)件 代表的なものを記載

1. Hama Y, Date H, Ishiura H, Mitsui J, Yoshimura J, Doi K, Morishita S, Tsuji S, Murata M, Mizusawa H, Takahashi Y.: Molecular background of ALS based on whole exome sequencing analysis. AAN2019(American Academy of Neurology) 2019. 5. 5
2. Tsukamoto T, Yabu-uchi N, Uchiyama Y, Kizaki N, Nakagawa I, Mizusawa H.: Application of the cloud database in the management of prion disease surveillance questionnaire. Asian Pacific Prion Symposium. 2019. 10. 3
3. 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 CJD” with history of neurosurgery to identify potentially iatrogenic cases., Asian Pacific Prion Symposium 2019, 2019. 10. 3-4
4. Mizusawa H, Nanbyo (Rare disease) policy in Japan, 2019 Annual Meeting of the Society for Neurological Rare Disorders-Taiwan (SNeRD-T), 2019. 9. 8.
5. Nagai Y. Disease-modifying therapy for the polyglutamine diseases targeting protein misfolding and aggregation. The JSPS Core-toCore Program Seminar; Towards a cure for amyloid diseases (Dec 16-19, 2019, Pavia, Italy)
6. 塚本忠、藪内奈津子、内山裕子、木崎菜津子、中川いずみ、水澤英洋: プリオン病サーベイランス調査票のデジタル化およびクラウド化. 第 24 回日本神経感染症学会総合・学術大会 2019. 10. 11

緒言

アルツハイマー型認知症 (AD) では軽度認知障害 (MCI) などより早期の段階での診断、治療介入の必要性が認識されてきている。AD 病態において、アミロイドβタンパク質 (Aβ) の可溶性集合体である Aβオリゴマーが重要な発症因子と考えられている。他方、AD をはじめとする認知症の発症には、遺伝的要因に加え、ストレスや生活習慣といった環境要因が深く関わっていることが指摘されている。本研究では、蛋白質・核酸代謝のホメオスターシスに焦点を当て環境要因と遺伝要因が蛋白質・核酸代謝、凝集性の変化を通して神経細胞機能、神経回路機能にどのように影響するかを明らかにする。さらにこれまでに同定した治療薬候補物質を、動物モデル及び培養神経細胞系を用いて検証するとともに、臨床試験等に有効なバイオマーカーの開発を目指す。

方法

今年度用いた方法開花の通りである。

①治療薬候補の開発

独自に同定した Aβ42 オリゴマーの神経毒性を低減する植物由来の低分子化合物の治療的有効性をモデル動物と培養神経細胞を用いて検証する。

②生活習慣と認知機能に関する研究

多価不飽和脂肪酸の摂取が脳機能に及ぼす影響をマウスで検討した。

③神経変性疾患原因遺伝子の分解機構解析

我々が独自に見出している RNautophagy/DNautophagy において神経変性疾患原因遺伝子が基質となるかどうかを検討した。別途、新たなオートファジー経路の探索を行った。

結果

① 治療薬候補の開発

研究成果を論文として報告した。

② 生活習慣と認知機能に関する研究

高ω3 餌摂取により強制水泳試験における抗うつ薬応答性行動 (無動時間) は減少し、この減少には高ω3 餌摂取による腹側被蓋野-側坐核ドパミン神経系が関与することを報告してきた。本研究に使用した高ω3 餌はクリル油を添加したものであるが、ω3 としてクリル油ではなく魚油または化学合成された EPA エチルエステルを添加した餌を摂取した動物においても無動時間を調べた。魚油および EPA エ

チルエステルを添加した高ω3 餌でも無動時間の有意な低下が観察されたが、クリル油を添加したもののほど劇的な低下ではなかった。

③ 神経変性疾患原因遺伝子の分解機構解析

CAG リピート長依存的に Htt mRNA (exon1) が SIDT2 細胞質側に結合することを見いだした。その結合には、SIDT2 の細胞質側アルギニンリッチモチーフが必要であることを発見した。

考察および結論

今年度の研究成果に対する考察は以下の通りである。

生活習慣と認知機能に関する研究

魚油に含まれるω3 脂肪酸の多くはトリグリセリドであり、一方、クリル油に含まれるω3 脂肪酸の多くはリン脂質である。トリグリセリドやエチルエステルと比較しリン脂質は生体内に取り込まれやすいということが報告されており、今回の結果はこの bioavailability の違いを反映するものであると思われる。

神経変性疾患原因遺伝子の分解機構解析

今回の結果は SIDT2 が治療薬開発の標的分子になる可能性を示している。

参考文献

- Taniguchi, K., Yamamoto, F., Arai, T., Yang, J., Sakai, Y., Itoh, M., Mamada, N., Sekiguchi, M., Yamada, D., Saitoh, A., Kametani, F., Tamaoka, A., Araki, Y.M., Wada, K., Mizusawa, H., Araki, W. Tyrosol reduces amyloid-β oligomer neurotoxicity and alleviates synaptic, oxidative, and cognitive disturbances in Alzheimer's disease model mice. *J. Alzheimers Dis.*, 70, 937-952, 2019.
- Hase, K., Contu, V.R., Takahashi, M., Kabuta, C., Hakuno, F., Takahashi, S.I., 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*, Jan 16:1-15, 2020.

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

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

昨年度までに、神経活動や神経活動依存的な新規遺伝子発現が、リン酸化タウの増減に影響を与えることを明らかにした。その過程で、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、MAPT KI マウスに対する CaMKK2 の阻害剤投与や発現抑制ベクターの導入実験を行い、リン酸化タウが増加することを明らかにした。

今年度は、MAPT KI マウスに対する CaMKK2 の発現抑制ベクター導入実験を引き続き行った。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。また、抗タウ抗体による免疫染色を行ったところ、タウの局在に変化が起きている可能性を見出した。

次に、c-fos や Arc を指標とし、神経活動依存的な遺伝子発現の程度を評価した。CaMKK2 の発現抑

制ベクターを導入したマウスでは、対照群に比べ、c-fos や Arc が増加している傾向があった。

また、上記の実験と並行し、リン酸化タウを増加させることが分かっている刺激、間欠的低酸素負荷 (IHT) も、MAPT KI マウスに対して実施した。上述と同様の解析を行い、この実験系においても、c-fos や Arc が増加している傾向を認めた。

さらに、昨年度から今年度にかけて AppNL-G-F KI マウスと MAPT KI マウスとを掛け合わせダブルノックインマウス (AppNL-G-F/MAPT dKI マウス) を作製し、そのホモ化を終えた。今年度は、このマウスを用いた実験を開始した。

考察

今後まず、AppNL-G-F/MAPT dKI マウスに対して、CaMKK2 の発現抑制ベクター導入実験や IHT を行い、これまで行ってきたのと同じ解析を行う。MAPT KI マウスと比較することにより、アミロイドβタンパク質の存在がどのような影響を及ぼすのかを明らかにする。特に、MAPT KI マウスに比べて、より不溶性のタウが出現するか、局在変化が顕著になるか、などを調べる。

また、IHT によって c-fos や Arc 陽性細胞の数が増加することを見出しているが、部位に関してはまだ漠然とした部分がある。今後は、前・後、背・腹など、脳の部位の違いにも着目し、影響を受けやすい部位を明らかにする。

現時点での仮説は、神経活動の亢進がリン酸化タウを増加させ、この状態が持続することでタウが蓄積する、ということである。この仮説の真偽を検証するため、(1)何らかの方法で神経活動を抑制し、これまで見てきた現象が緩和されるかどうかを調べる、(2)CaMKK2 の発現抑制や IHT によって影響を受けるシグナル経路を見出し、そこに対する介入実験を行う、などの方法を模索する。

文献

Takahashi Y, Uchino A, Shioya A, Sano T, Matsumoto C, Numata-Uematsu Y, Nagano S, Araki T, Murata M, Murayama S, Saito Y. Altered immunoreactivity of ErbB4, a causative gene product for ALS19. *Neuropathology* Volume 39, Issue 4, Pages: 268-278, August, 2019.

自律神経による求心性情報と神経変性疾患

分担研究者 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

緒言

パーキンソン病における Braak の病変上行仮説をモデルマウスにおいて検証することが本研究の主要な目的である。

この目的のために、ミトコンドリア電子伝達系複合体1阻害剤であるロテノンの経口投与により、腸管で α -シヌクレイン(α -syn)の発現が増加するマウスを作出した。このモデルマウスでは、病理学的に重要な S-129 リン酸化 α -シヌクレイン(p- α -syn)の増加について確実なデータは示されていない。また、p- α -synの腸管神経系内での詳細な分布についても報告がない。

そこで本研究では、ロテノン投与で腸管神経系においてp- α -synが増加するかどうか、さらにはp- α -synが分布する細胞内ドメインや細胞種について知見を得るべく免疫組織化学的検討を行った。比較のため、 α -synの分布についても同様な検討を行った。

方法

(1) α -synが腸管神経叢に蓄積するマウスの作出：昨年度の当研究班での検討に従い、7週齢雄性マウスにロテノン10mg/kgを経口投与(1回/day、5回/weekで4週間)し、当該マウスを作出した。

(2)ロテノンマウス腸管におけるp- α -synシグナル：上記で作成したマウス腸管から組織切片を作成し、一部は抗p- α -syn抗体と反応後DAB染色した。また、一部は抗p- α -syn抗体と反応後、腸管神経系神経細胞のマーカー(NOS、calbindin、calretinin)およびプレシナプスマーカー(synaptophysin)に対する抗体とも反応させ蛍光二次抗体を用いて二重染色した。

(3)ロテノンマウス腸管における α -syn発現：比較のため、抗 α -syn抗体とNOS、calbindin、calretinin、synaptophysinに対する抗体で二重蛍光染色した。

(4)カハール介在細胞(ICC)：この細胞は近年腸管の自発的な蠕動運動の制御に重要なことが判明した間質系細胞である。ロテノン投与はICCにおいて細胞内カルシウム動態に影響を与えるという報告がある。そこで、ロテノン投与によるICC特異的抗体の染色性変化について検討した。

結果

(1) α -synが腸管神経叢に蓄積するマウスの作出：昨

年の報告同様、ロテノン経口投与により結腸で顕著な抗 α -syn抗体シグナル増加が観察された。

(2)ロテノンマウス結腸におけるp- α -syn蓄積：ロテノンマウス結腸において、抗p- α -syn抗体による免疫陽性シグナルはAuerbach神経叢に広範に見られた。DAB染色の結果では、ロテノン投与マウスでAuerbach神経叢(1匹のマウスから50程度観察)の $44.2 \pm 9.5\%$ (3匹からの平均値)にp- α -syn陽性シグナルが認められた。同様なシグナルは対照マウス(vehicle投与群)でも見られたが、その頻度は神経叢の $15.1 \pm 4.2\%$ (n=3)においてであり、これはロテノン投与個体に比べて有意に低い値であった($P = 0.048$, Two-tailed unpaired *t*-test)。

蛍光染色において、ロテノン投与群ではp- α -syn陽性シグナルは抗synaptophysin抗体シグナルと全くマージしなかった。このデータは、腸管神経系におけるp- α -synのプレシナプス局在を支持しない。一方、抗 α -syn抗体陽性シグナルの2-3割はsynaptophysin陽性シグナルとマージしたので、 α -synそのものは神経叢のプレシナプス部位に局在する場合もあると考えられた。

(3)ロテノンマウス結腸においてp- α -synが蓄積する細胞：蛍光染色の結果、抗p- α -syn抗体陽性シグナルはcalbindin陽性細胞やcalretinin陽性細胞に観察されることが多かった。一方、同シグナルがNOS陽性細胞に観察されることは少なかった。

(4)ICC:ロテノン投与とvehicle投与でICCの染色像に見かけ上の違いは見出せなかった。

考察

ロテノン投与により腸管神経叢内部に α -syn免疫陽性シグナルが増加することは他の研究者によっても指摘されていたが、p- α -synについては確実な報告がなかった。本年度の我々の研究で得られた、ロテノン投与による抗p- α -syn抗体由来シグナル陽性Auerbach神経叢率の上昇は、ロテノン投与によるp- α -synの増加を示す可能性があるが、さらに検討が必要と思われる。

ロテノン投与マウス結腸神経叢のp- α -synが全くsynaptophysinとマージしないという結果は、HuA53T-Tgマウス脳において、p- α -synがプレシナプスには存在しないとする既報¹⁾と符合する。我々の検討で α -synそのものはプレシナプスに局在している場合もあることが示されたが、ロテノン投与で生成するp- α -synは腸管神経系においてプレシナプス部位に存在しなくなる可能性が考えられた。

また、ロテノン投与マウス結腸神経叢でp- α -synが好んで蓄積する細胞としてcalbindinやcalretininなどのカルシウム結合タンパク質を発現する細胞が指摘された点は、ミトコンドリアのカル

シウム貯蔵オルガネラとしての機能と関係するのかもしれないが、その詳細は不明である。

今後、HuA53T-Tgマウス腸管での今回と同様な免疫組織化学的検討や、同マウス迷走神経背側核などでの電気生理学的検討を計画している。

参考文献 1) Acta Neuropathol, 120:145-154, 2010.

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

諸言

アルツハイマー病をはじめとする認知症やパーキンソン病、ALSなどの神経変性疾患では、それぞれの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、あるいは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、伝播と同じメカニズムがおこることを示す実験的証拠が蓄積し注目を集めている。本研究で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、メカニズムの解明や治療方法の開発を行うための基礎となる患者剖検脳に蓄積する異常型タンパク質の解析を行うと共に、細胞、マウスモデルの構築を行う。今年度は α シヌクレイン伝播のマウスモデルを用いて、L-DOPA(レボドパ)の効果について検討した。また大脳皮質基底核変性症(CBD)患者脳に蓄積するタウの構造について英国MRCとの共同研究でクライオ電顕による解析を行った。

方法

リコンビナントマウス α シヌクレインを線維化して異常型 α シヌクレインを調製した。この線維を野生型マウスの脳の線条体に接種し、その28日後に、マウスを2つのグループに分け(各10匹)、生理食塩水、または200mg/kg L-DOPA (75mg/kg benserazide との合剤)を1日1回、経口投与した。その後、マウスの脳をホルマリン固定後、切片をリン酸化 α シヌクレイン抗体で染色し、陽性構造を定量した。

CBD患者脳に蓄積するタウの構造解析については、日本ブレインバンクネットに登録され、神経病理学的に確定診断がついた3名のCBD患者脳からサルコシル不溶性画分を調製し、さらに洗浄などを繰り返して線維化タウを精製し、英国MRC分子生物学研究所においてクライオ電子顕微鏡による構造解析を行った。

結果

α シヌクレイン伝播に対するL-DOPAの効果

α シヌクレイン線維接種の2か月後においても線条体、黒質、扁桃体、皮質、および他のさまざまな脳領域においてリン酸化 α シヌクレインの異常病理が観察された。陽性構造を定量、比較した結果、線条体では、L-DOPA/benserazideで処置したマウスは、

対照と比較してリン酸化 α シヌクレインの量に有意な低下はみられなかったが、黒質では、L-DOPA/benserazide投与群で、有意な減少が観察された($p < 0.001$)。扁桃体でも減少が観察されたが、統計的有意差は見出せなかった($p < 0.1$)。また、接種側および対側の黒質のTH陽性ニューロンを定量したところ、生理食塩水を投与したマウスでは、接種側のTH陽性細胞は対側側と比較して有意に減少したが、L-DOPA/benserazide投与群ではこの減少が抑制された。これらの結果は、L-DOPA/benserazideが黒質における α シヌクレインの凝集、マウスの脳における病的 α シヌクレインの伝播を抑制することを示唆する。

CBD患者脳のタウの構造

3例の患者はいずれもCBDに特徴的なastrocytic plaquesが認められ、多数の神経細胞、グリア細胞内病変が観察された。凍結剖検脳から不溶性画分を調製し、通常免疫電顕解析を行った結果、3例とも、直径が約10nmのnarrowな線維と、直径約25nmのwideな線維が観察された。Wideな線維は約140nm程度の周期でねじれたリボン様の構造をした微粒子として観察された。そこでnarrow線維をtype I, wide線維をtype IIと解析した。生化学的にはいずれも全長4Rタウバンドの蓄積に加え、CBDに特徴的な37kDのタウC末端断片が検出された。CBD患者脳から精製した異常型タウ線維をクライオ電顕によって解析した結果、世界で初めて2.8Å~3.2Åレベルでその構造を明らかにすることに成功した。CBDタウ線維の中心構造は、タウの微小管結合領域にある繰り返し配列1(R1)の最後の残基K274からはじまり、R2、R3、R4の全体、およびR4の後の12個のアミノ酸にまたがる新規の4層構造を形成していた。また、線維の中心部分には、非タンパク質性のコファクター(おそらくポリアニオン)の存在も明らかとなった。筆者らが以前報告したトリプシン耐性の線維中心領域とはほぼ合致するものであった。

結論

α シヌクレイン線維を野生型マウスの脳の線条体に接種するモデルに、接種後一ヶ月で、L-DOPA/benserazideを一ヶ月間、経口投与すると、L-DOPA/benserazide投与群の黒質において、 α シヌクレイン病変の有意な減少が観察された($p < 0.001$)。この結果はL-DOPAが α シヌクレインの伝播を抑える効果があることを示唆する。

MRCとの共同研究により、CBD患者脳に蓄積する異常型タウ線維をクライオ電顕解析し、世界で初めて2.8Å~3.2Åの原子レベルでその構造を明らかにした。その構造は症例間で同一であったが、アルツハイマー病、ピック病、CTEの症例とは異なる新規

の構造であった。また線維の中心タウの K274-E380 を含む新規の 4 層構造を形成し、その中心部分には非タンパク質性のコファクター (ポリアニオン) の存在が明らかとなった。異なるタウの構造が様々なタウオパチーの病態を決定するという考えを支持するものである。

参考文献

1. Shimozawa A, Fujita Y, Kondo H, Takimoto Y, Terada M, Sunagi M, Hisanaga SI, Hasegawa M. Effect of L-DOPA/benserazide on propagation of pathological α -synuclein. *Front Neurosci* 13:595. 2019. doi: 10.3389/fnins.2019.00595. 査読有
2. 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* 580 (7802): 283-287, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2043-0. 査読有

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

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一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モデルマウスに慢性的な睡眠の異常を誘導した後脳を採取して病理解析を行い、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PD病理が対照群よりも有意に悪化していた。この結果は睡眠が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モデルマウス脳のアβ病理を悪化させることを見出しているが^[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一覚醒や概日リ

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。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した。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。

参考文献

- 1) Minakawa EN, Miyazaki K, Maruo K, Yagihara H, Fujita H, Wada K, Nagai Y. Chronic sleep fragmentation exacerbates amyloid β deposition in Alzheimer's disease model mice, *Neurosci Lett*. 2017;653: 362-369.
- 2) Minakawa EN, Wada K, Nagai Y. Sleep disturbance as a potential modifiable risk factor for Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci* 2019, 20(4). pii: E803.
- 3) 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ている。これらの発症予測マーカーのうち、RBD は特に有用と考えられ、パーキンソン病のみならず、他の Lewy 小体病であるレビー小体型認知症や多系統萎縮症でも高頻度に見られ、このことから RBD と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、認知症の発症リスクと互いに関連していることが推察される。

本研究では Lewy 小体病患者における RBD の存在や出現様式による特徴によって分類し、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 の出現形式により細分化し、グループごとの生体試料を網羅的に解析して各群の細胞内の分子動態がどのように異なるかを解析し、Lewy 小体病の認知症病態を解明する。

- 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学的に検討した。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。

結果

本年度は昨年度に引き続き、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、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中のプロテオーム解析を継続した結果、網羅的解析で得られた蛋白質はそれぞれ 1388, 1952 蛋白質にのぼり、このうち 694 蛋白質が全脳脊髄液および脳脊髄液中エクソソームの両方で検出ができた。さらに、RBD が先行した群を基準にした認知症に関連した候補蛋白質の絞り込みを行い、RBD 後発群および RBD 非発症群でそれぞれ 40, 19 蛋白質を絞り込んだ。また、発現変動分子を抽出し、分子ネットワーク解析を行い、候補蛋白質についての生体内役割について特異的な発現変動がみられる分子を検索している。

考察

パーキンソン病など Lewy 小体病の運動症状発症前のマーカーとして注目されている睡眠障害である RBD の存在は認知機能低下を併発しやすいといわれているが、その発症時期により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及ぼす影響が異なり、RBD の存在だけでなく、その出現様式によっても認知機能の進行度が変化することが本研究から明らかになり、RBD の責任病巣と血圧調節障害の責任病巣への広がりに関連があることが示唆された。

さらにこのような RBD に着目して分類したグループ間で脳脊髄液中の蛋白質の網羅的解析を行った結果、各群で発現量の違いがみられる蛋白質が存在することが明らかになった。この発現量の違いがどのような理由によるものかという意義づけを複数の解析方法を用いて検討する必要がある。

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。睡眠障害の有無により臨床症状の違いがみられ、その分子的基盤を明らかにすることでバイオマーカーの同定ができる可能性がある。

参考文献 なし

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

分担研究者 功刀浩¹⁾

服部功太郎^{1),2)}、石渡小百合¹⁾、高居久義³⁾

- 1) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第三部 2) 同・メディカル・ゲノムセンター 3) 川崎市健康安全研究所

緒言

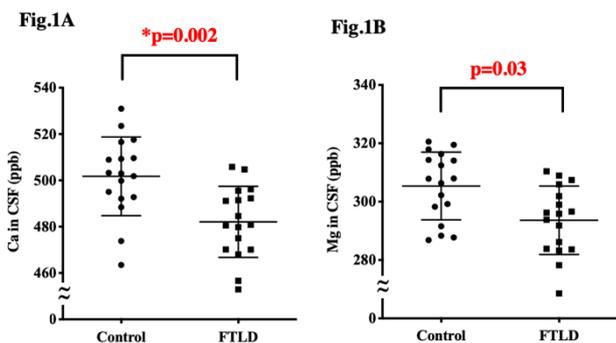
前頭側頭型痴呆(FTLD)は人格変化や行動・言語障害を特徴とする認知症で、若年性認知症の20%を占めるがいまだに診断に有用なバイオマーカーは見いだされていない。我々は、脳脊髄液(CSF)中のオミックスを行い FTLD の脳内分子病態の解明と診断マーカーの開発を目指している。今年度はCSF中の微量元素について網羅的な測定を行った。

方法

FTLD 群(n=17)と健康高齢者群(n=17)について誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)法により 10 種類の微量元素(ナトリウム:Na、マグネシウム:Mg、リン:P、カリウム:K、カルシウム:Ca、鉄:Fe、銅:Cu、亜鉛:Zn、ルビジウム:Rb、鉛:Pb)の同時測定を試みた。変動係数値が10%、添加回収試験の回収率が110%を超える値を定量下限とした。両群間の平均の差の検定を行うと共に、各種元素間の関連を調べた。

結果

対照群と比較してFTLD群ではCSF中のCa量が有意に減少していた(年齢・性を統制した ANCOVA、 $p=0.002$, Fig. 1A)。また、Mg量も有意な減少を認めた($p=0.03$, Fig. 1B)。PbおよびRbに関しては一部検体が定量下限以下であったため、今回の解析からは除外した。その他の微量元素に関しては両群間において有意



差は認められなかった。

また、各種元素間の関連を検討したところ、健常者ではCuとZn、CuとCa間に有意な正の相関が認められたものの、FTLD患者では相関が認められなかった。一方、NaとMgでは、両群において有意な正の相関が認められた(Table 1)。

Table 1

元素	Zn vs Cu	Ca vs Cu	Mg vs Na
Control	$r=0.79$ $p=0.0004$	$r=0.78$ $p=0.0006$	$r=0.80$ $p=0.00034$
FTLD	$r=0.08$ $p=0.79$	$r=0.25$ $p=0.37$	$r=0.81$ $p=0.00025$

考察

アルツハイマー型認知症患者では本研究と同様にCSF中Ca濃度の減少が報告され¹⁾、レビー小体型認知症患者ではCSF中CaやMgの有意な増加²⁾が報告されている。血清中のCaやMgは糖尿病、心不全、脳卒中歴、利尿剤の使用等により影響を受けるためCSF中CaやMg量が同様の影響を受けている可能性も考えられる。統合失調症や大うつ病患者ではCSF中微量元素の有意な変化が認められなかったため(未発表データ)、他の精神疾患との鑑別に有用な可能性がある。FTLD群では健常群と比較して元素間の相関が崩れている組み合わせが認められ、こうしたバランス異常が脳内での神経活動や機能を障害している可能性がある。

結論

FTLD患者ではCSF中CaおよびMg量の有意な減少が認められた。しかしながら、本研究では検体数およびそれにとまう服薬情報や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。また、同様の患者において末梢での微量元素測定も行い、両群間において末梢-中枢のバランスが崩れていないかも検討していく予定である。

参考文献

- 1) Subhash MN et al. Neurobiol Aging. 1991, 12:267-9.
2) Boström F et al. Neurobiol Aging. 2009, 30:1265-71.

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
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
脳病態統合イメージングセンター

緒言

アルツハイマー病 (AD) は、細胞外アミロイド- β ($A\beta$) 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。機能的磁気共鳴画像法 (fMRI)、脳波記録、脳磁図などのいくつかの神経画像診断法を使用して、ADの脳ネットワークを研究する多くの研究によってグラフ理論解析が行われている。最近では、拡散テンソルイメージング (DTI) または T1 強調イメージングを使用した構造ネットワーク解析が注目されている。T1 強調画像を使用した構造ネットワークに関するこれまでの研究は、個人全体の皮質の厚さまたは体積に基づいており、グループレベルの分析に限定されていた。しかし、最近提案された方法により、皮質の類似性に基づいた個人レベルの分析が可能になった。本研究の目的は、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、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ものと同様の 18F-THK5351 保持関連ネットワークの変化が得られるかどうかを検証することである。

方法

患者群および対照群

健忘性の軽度認知障害 5 人と早期 AD 患者 13 人の計 18 人を AD スペクトル患者群として募集した。これらの患者は 11C-PIB PET 画像の視覚的評価によって陽性であった。患者群は 69.5 ± 8.7 歳 (平均 \pm 標準偏差) であり、MMSE スコアは 22.1 ± 4.7 (平均 \pm SD) であり、Clinical Dementia Rating (CDR) は 0.5 および 1.0 である。対照として、正常な認知機能を有する 30 人の健康な日本人 (Cognitively Normal; CN 群) を募集した。これらの対照群は視覚的に正常な 11C-PIB および 18F-THK5351 PET 結果を示した。年齢は 68.1 ± 6.5 歳であり、平均 MMSE スコアは 29.1 ± 1.1 、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 MRI スキャンを受けた。高空間分解能、3 次元サジタル T1 強調 MPRAGE 画像を取得した。

個人レベルの構造ネットワーク

ボクセルサイズを標準化し、次元を減らすために、すべてのネイティブセグメント化された灰白質画像を $2 \text{ mm} \times 2 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ の等ボクセルに再スライスした。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 $p < .05$ 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)。

結果

18F-THK5351 保持に関連してローカルネットワーク測定値は、CN 群で有意な正の相関を示した。一方、ローカルネットワーク測定値の大部分 (クラスタリング係数、特徴的な経路の長さ、次数) は、AD 患者で有意な負の相関を示した。

討論

個人脳の T1 強調画像を用いた構造ネットワーク解析は、大脳全体においてタウ沈着の増加を伴うアミロイド陰性 CN 群において有意に増加した結合性を検出したが、アミロイド陽性 AD スペクトル群においては減少した結合性として検出された。低タウ沈着は、早期のニューロン損傷または正常な加齢に伴う慢性炎症に対する代償性反応を誘導するように思われるが、アミロイドおよび高タウの共存は、減少した結合性をもたらす代償的効果を上回ると思われる。さらに、われわれの結果は、アミロイドの共存がタウ沈着に関連する構造的結合性を変化させるこ

とに重要な役割を果たすことを示唆している。

結論

タウ沈着とアミロイド沈着との共存が構造的結合性に悪影響を及ぼすことが自動拡散コネクトメトリと同様に個人脳の T1 強調画像を用いた構造ネットワーク解析でも示された。

参考文献

- [1] Sepulcre J, Sabuncu MR, Li Q, 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.
- [2] Tijms BM, Seriès P, Willshaw DJ, et al. Similarity-based extraction of individual networks from gray matter MRI scans. *Cereb Cortex.* 2012;22(7):1530-1541. doi:10.1093/cercor/bhr221.
- [3] Shigemoto Y, Sone D, Maikusa N, et al. Association of deposition of tau and amyloid- β proteins with structural connectivity changes in cognitively normal older adults and Alzheimer's disease spectrum patients. *Brain Behav.* 2018;8(12):e01145. doi:10.1002/brb3.1145.

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

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、半数が居宅にて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が喫緊の課題であるが、その手法は十分に検証されていない。そこで本研究では、家族介護者向けの認知行動療法プログラムを作成し、有効性を検討することにした。

目的

本研究では、認知症家族介護者を対象とした2つのCBTプログラム（個人・集団）を開発し、実施可能性や有効性の検討を行う。

方法

【研究①】訪問看護師が訪問時に実施する認知症の家族介護者を対象としたCBTプログラム

研究デザイン：対照群を設けない単群の前後比較試験

セッティング：都立松沢病院物忘れ外来および世田谷区内の訪問看護ステーション（4施設）を利用する認知症患者の家族介護者

研究対象者：20歳以上80歳未満で、認知症の親族と週10時間以上生活を共にする者。目標症例数は20名。MMSE23点以下の者（60歳以上）、身体疾患等で余命1年以内と申告されている者等は除外。

研究アウトライン：① 協力施設を利用する認知症患者の家族介護者に研究チラシを配布する。② 研究コーディネーターが対象者の選定基準の確認を行い、説明同意と事前評価を行う。③ 評価は介入前、中間時点、介入後、介入終了3ヶ月後に行う。④ 介入実施者（訪問看護師）が、家族介護者にプログラム（30分×11回）を実施する。

評価方法：主要評価項目は、Zarit介護負担尺度日本語版（J-ZBI）で測定する介護負担感とする。副次的評価項目は、家族介護者の精神症状（抑うつ・不安；HADS、健康関連QOL；SF8、コーピングスタイル；BriefCOPE等）、および、認知症患者の周辺症状（NPI-Q）等とする。実施可能性として、ドロップアウト率、参加率、プログラム完遂率、有害事象発生率、プログラムの満足度をまとめる。

【研究②】認知症の家族介護者を対象とした集団CBTプログラム

研究デザイン：対照群を設けない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小平市市報およびチラシにて研究参加希望者を募集する。②第1回開始前に研究説明同意を実施する。③評価は介入前、介入後、介入終了1ヶ月後に行う。④介入を実施する（2時間×5回の集団プログラム）

評価方法：主要評価項目は、HADSで測定する抑うつ不安症状とする。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）等とする。

結果

研究①では、英国のCoping strategy program（START）¹⁾のテキスト・マニュアルの翻訳作業を行い介入に用いるテキストを作成した。テキストとワークシートは、認知症の介護者向けのワークブックとして出版した。研究倫理承認後（A2017-049）、2019年3月時点で、3名の登録を完了した。また、上記3例のプログラムを実施者（訪問看護師）に対して、認知行動療法の専門家が録音に基づいたスーパービジョンを行った。その他、プログラムの普及啓発を図ることを目的に、認知症患者や認知症家族介護者のケアに携わる地域包括支援センター、認知症疾患医療センター等の医療福祉職の職員を対象に集団研修を実施した。

研究②では、地域包括支援センター、社会福祉協議会等の地域包括ケアを担う施設において、認知症の家族介護者に対して広くプログラムを提供することを目的に、2時間×5回の集団プログラムを作成した。2019年5月からプログラムを1クール試行し、研究倫理承認後（A2019-107）に、介入研究を開始した。2019年3月末時点で、13名の登録を完了した。

考察

認知症の家族介護者は、支援を必要としながらも、自らの支援にアクセスしにくい一群であるといえる。その問題を克服するために、研究①では認知症患者や介護者の日常生活を包括的視点からケアする訪問看護師を実施主催者に据えたプログラムを作成し、研究②では、地域包括ケアを提供する施設で提供できるプログラムを作成した。研究①では、東京都内の訪問看護ステーション約570施設に対してチラシを郵送し、研究協力施設を増やして研究を継続することを予定している。また、研究②では、東京都三鷹市社会福祉協議会の研究協力を得たため、2020年度は対象施設を増やして研究を継続する予定である。

結論

本研究では、認知症家族介護者を対象とした2つのCBTプログラム（個人・集団）を開発し、実施可能性や有効性の検討を行った。

引用文献

- 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 医療連携福祉相談室 医長

諸言

認知症のあるひとの高齢者に占める割合および実数の増加はわが国の医学・公衆衛生における喫緊の課題である。認知症を伴う神経変性疾患のうち、大多数を占めるアルツハイマー病の原因物質であるアミロイドβの凝集蛋白を標的にした治験はで効果をあげているものもわずかである。これは、治験薬投与がすでに進行した症例に行われたからであるという説明がされており、効果が得られたとされる治験もなるべく早期の認知症をターゲットにしている。過去の認知症研究の結果から、認知症の前段階である軽度認知障害(MCI)への介入のみならず、その前の段階である前臨床期(preclinical stage)の段階での介入に認知症の予防効果・進行抑制効果があるらしいことがわかってきた。しかしながら、前臨床期から認知症への転換に関する研究はまだ少ない。前駆臨床期のコホートを構築し、経時的に心理学的検査・画像検査・採血などを行い追跡することが望まれるが、一般市民の中でも自覚的に自分はもの忘れがあるのではないかと心配しつつ生活に支障が出ていない段階である自覚的認知機能障害(SCI)から認知症への転換が、自覚がない集団より認知症になる率が高いという報告もあり、SCIのコホート構築は有意義であると考えられる。SCIのコホート構築のモデルケースとして、NCNP 認知症センター・認知症疾患医療センターの構成医師・臨床心理士・認知症相談員看護師により、2018年度から、小平市の認知症が気になる高齢市民を対象として「もの忘れチェック会」を小平市および地域包括支援センターと共催している。

目的

小平市における自らの認知症を気にしているが生活に支障がない高齢者を対象に自記式記憶力検査を行う会を複数回開催し、認知症の自覚はあるが検査では認知症段階ではない前臨床期の自覚的認知機能障害のあるひとのコホート構築に役立てる。

また、これらの方法をマニュアル化し、毎月のチェック会の開催、参加者規模の増大により研究登録者の規模を増やし、データベースを作成する。得られたデータの統計解析により認知症前臨床期の病態に関する新知見を見出す。

方法

小平市役所、小平市の地域包括支援センター、小平市医師会などと連携を取りながら小平市在住の高齢者で、自ら高次機能障害（認知機能障害）があると自覚しながらも日常生活を支障なく過ごしている人々に、地域包括視線センターで定期的開催されている「もの忘れチェック会」への参加を小平市市報などで呼びかけた。「もの忘れチェック会」は隔月の開催とし、1回の参加人数は15人～20人とした。10分間で自記式認知症判定テスト(TestYourMemory-J: TYM-J)(1,2)を一斉に行い、30分間の認知症予防の講演をしている間にテストを採点し、参加者に結果を渡した。TYM-Jの論文に従って、点数によって参加者を健常者（この場合は認知症を自覚しているのでSCIのひと）、MCIのひと、認知症のひとに分け、認知症の（うたがいのある）ひとには小平市のもの忘れ相談医やかかりつけ医の受診を勧めた。MCIのひとには当院もの忘れ外来受診をしてOrange MCI研究への参加を勧め、健常者（SCIのひと）にももの忘れ外来受診をし、当院での認知症前臨床期研究への参加登録を勧めた。

結果

2018年9月に第1回「もの忘れチェック会」開催、2019年3月までにさらに2回開催し、2019年度は6回行った。（東久留米市でさらに1回行った）2018年度の参加者43人、2019年参加者（小平市）76人、東久留米市14人であった。

第1回から第7回までの参加者の内訳は、総数100人、男性19人(19%)、女性81人(81%)であり、TYM-Jにより認知症が疑われた人は25人(25%)、MCIが疑われた人は33人(33%)、SCIが疑われた人は42人(42%)であった。このSCIのうち約4人が認知症線臨床期研究へ参加登録した。

考察

認知症を自覚している高齢者が参加した「もの忘れチェック会」の42%は、認知症を自覚しているにも関わらずMCIや認知症の範疇にないことが分かった。SCIの中でも、医療機関にかかるSCIのコホートでは認知症への転換率が高いという報告もあり、今後はいかにして、SCIを疑われた人から、研究への参加登録を促すかが問題となる。

また、MCIや認知症がうたがわれると診断した人を地域包括視線センターが追跡したところ、かかりつけ医が認知症を否定したり、精査を行わないケースも見られ、さらには未受診のケースもあった。今後は市や地域包括視線センターと連携して、認知症やMCIを疑った症例のケアも必要になると考えられる。

また、日常生活から認知症への進行を抑制するような介入を行う研究を開始する必要もあると考えるものである(3)。

なお、認知症前臨床期コホート研究では参加登録したひとのデータを同意の上で入力しデータベースを拡大している所である。

倫理委員会における承認結果等倫理面への配慮

前臨床期の認知症に関する研究については、すでに倫理委員会で承認を得ている。

文献

- 1) Brown J et al. BMJ, 2009;338:b2030
- 2) Hanyu H et al. Psychiatry Res. 2911;190:145-148
- 3) Ngandu T et.al. Lancet. 2015 Jun 6;385(9984):2255-63.doi: 10.1016/S0140-6736(15)60461-5. Epub 2015 Mar 12.

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

緒言

我が国の認知症の人は、2025年には65歳以上高齢者の約20%（約700万人）程度まで増加すると推計される。介護の負担による介護者のうつ、ストレス、社会的孤立、睡眠障害等も増加し、認知症介護者の身体的精神的不調及び介護のため勤務軽減並びに離職等による世界中の経済的損失は、2010年の時点で2,520億ドルと推計される。

認知行動療法等の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、介護者は介護による時間的・体力的制約が大きいため、場所や時間の制限の少ないインターネットを用いた介入の有用性が、そのコストの低さと共に期待されている。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、認知症介護者のためのインターネットを用いた自己学習支援プログラム*iSupport*が開発された。

本研究においては、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

我々は日本の文化や介護環境、制度等に合わせた*iSupport* 日本版の開発を行っている。この*iSupport* 日本版の有用性を評価するため、インターネット上で利用可能な心理評価システムも併せて開発している。本研究では、認知症介護者の介護負担感や精神状態をセルフモニタリングするツールとして、この心理評価システムの有用性を検討する。

今年度は心理評価尺度を選定する。次年度は、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* 日本版のパイロット版と共に心理評価システムを試用・評価する。

結果

海外での先行研究¹⁻³を参考にして、認知症専門医

である精神科医師、心理療法士等で検討を行い、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（不安を測定する尺度）
 - ・うつ：CES-D scale（抑うつ症状の重症度を測定する尺度）
 - ・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・ケアを行え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（アプリケーションの満足度を評価するための調査票）
- 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。

考察

心理評価を行うにあたり、介護の負担感や不安、うつ等の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、認知症介護肯定感尺度を取り入れることとした。

インターネットを用いた web アプリケーションを用いるため、被験者のプライバシーへの配慮だけでなく、データの安全管理に努め、漏洩対策を行う必要がある。そのため、システムの開発と保守管理は、各種臨床研究支援と IT システム導入支援の実績がある企業に委託する必要があると判断し、株式会社 アクセライト社に委託した。

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ている。今後は、心理評価システムを試用し、有用性を検証する予定である。

参考文献

1. Mehta KM, Gallagher-Thompson D, Varghese M, Loganathan S, Baruah U, Secher 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, Freel 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 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 is to elucidate the pathogenesis/pathophysiology of neurocognitive disorders, and to develop methods for their prevention, therapy and care. To achieve the goal, the group conducts 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, Keiji Wada, Toshiyuki Araki, Masayuki Sekiguchi, Masato Hasegawa, Yoshitaka Nagai, Miho Murata (~Sep.9, 2108), Yuji Saitoh (Sep. 10, 2018~), 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 from patients with and without preceding presence of sleep disturbance in neurocognitive disorders.

We found that L-DOPA treatment reduced pathological changes in model mice of Parkinson's disease. We also found that SIDT2, a component of RNautophagy, paly some role in the degradation of neurodegeneration-related mRNAs.

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.