

## 孤発性アルツハイマー病の発症メカニズム解明とバイオマーカー開発

森原剛史

大阪大学医学研究科 認知症プレシジョン医療開発学寄附講座

### 【研究の背景】

アルツハイマー病の克服に向けて多大な努力がされているにもかかわらず、いまだに効果的な診断・治療法はない。なぜだろうか？ その原因として「疾患が複雑」「疾患が不均一」「使いやすいバイオマーカーがない」がよく挙げられている。これらの問題を本研究は克服していく。

複雑な発症メカニズムを理解するため、我々はアルツハイマー病の中心病理である A $\beta$  病理の出現しやすさがインブレットマウス間で大きく異なることに注目した。マウスの背景遺伝子の影響を効率的に解析する独自の複合的 omics を考案し A $\beta$  蓄積量規程遺伝子産物として KLC1vE を同定した (PNAS 2014)。この KLC1vE は細胞実験で A $\beta$  産生にかかわっていること、ヒト剖検脳でもアルツハイマー病で高値であることなどを次々確認した (PNAS 2014, BioEssay 2015)。複雑な孤発性アルツハイマー病の発症メカニズムの一端を明らかにしつつある (Human Genetics 2018)。

### 【目 的】

アルツハイマー病の新規発症分子メカニズムの同定と解明。この新規分子メカニズムを基盤とした層別化バイオマーカーの開発。血液疾患バイオマーカー実現に向けての研究。

### 【方 法】

コンジェニック化はスピードコンジェニック法を用いる。置換する KLC1 領域を狭めるために KLC1 領域にはマーカーを追加し TaqMan 法で判別する。

血液 KLC1vE mRNA は以前に報告 (PNAS 2014) した方法で測定する。検体は阪大精神科で収集済みのものを用いる。

IMR は当教室に設置済みの装置を用いる。検体は阪大精神科で収集済みのものを用いる。

### 【結 果】

#### ■KLC1 領域に注目したコンジェニックマウスの作成

KLC1 領域を C57BL/6 から DBA/2 由来に置換したコンジェニック化は終了できた。

#### ■アルツハイマー病リスク遺伝子による KLC1 のスプライシング制御を複数の方法で確認

異なる複数の細胞 (HeLa, HEK, SY5Y) でもリスク遺伝子による KLC1 スプライシングの制御が確認された。共同研究者とともにミニジーンを用いた系でもリスク遺伝子による KLC1 スプライシングの制御が確認された。

#### ■血液 KLC1vE mRNA に着目した「層別化バイオマーカー」

知財の関係があるため概要のみを記載する。あらたに収集解析した 73 検体でも、以前のわれわれの報告 (PNAS 2014 v111 p2638) と同様にアルツハイマー患者で血液 KLC1vE mRNA は高値 ( $p=0.0077$ ) であった。精度を向上させるため、KLC1vE と密接に関連するターゲット分子を 2 つ追加したところ、AUC が向上した (未発表)。

## ■IMR を用いた「疾患バイオマーカー」

IMR は大変敏感な装置であるため、種々の技術的問題を解決する必要があることが分かった。まずは環境磁場対策や解析ソフトの改良がおこなわれた。微量な血液 A $\beta$  等を安定的に定量するための工夫がすすんでいる。

これらの結果の一部は、老年精神医学会シンポジウム(2019年6月8日)、International Taiwanese Congress of Neurology (2019年5月4日 招待講演)、Alzheimer's Association international conference(2019年7月16日)、第2回 Neurology and Psychiatry Research Forum(2019年9月8日)、第1回 産業科学研究所懇話会(2019年1月26日)、6th Asian College of Neuropsychopharmacology(2019年10月13日 シンポジウム招待)、第20回ゲノム・オミックス連携推進セミナー(東北メディカルメガバンク機構)(2019年10月25日招待講演)で発表した。

## 【考 察】

1年間という短い期間のため進行途上の研究もあるが、進捗はおおむね順調である。ただし、IMR については想定以上に技術的問題点を見つける結果となった。

コンジェニックマウスについては今後繁殖と加齢を行い、KLC1 と A $\beta$  病理の関係を評価していく。きわめて説得力の高いアルツハイマー病の新たな発症分子メカニズムの証明が期待される。

血液 KLC1vE mRNA に着目した「層別化バイオマーカー」については、さらに多くの検体での検討を継続する。今後はデジタル PCR による絶対定量を開発も視野に入れる。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究の成果は認知症の疾患概念や診断基準を再整理し、分子レベルで特徴づけられた疾患サブグループを見つけ出すことにつながる。疾患サブグループの特徴をとらえたバイオマーカーの開発も含まれる。これらにより疾患サブグループごとに合理的かつ効果的な治療法の開発が可能になっていく。

## 【参考・引用文献】

Integrated analysis of human genetic association study and mouse transcriptome suggests LBH and SHF genes as novel susceptible genes for amyloid- $\beta$  accumulation in Alzheimer's disease.

Yamaguchi Y, Morihara T, et. al.

Hum Genet. 2018 137(6-7):521-533.

Atlas stumbled: kinesin light chain-1 variant E triggers a vicious cycle of axonal transport disruption and amyloid- $\beta$  generation in Alzheimer's disease.

Gan KJ, Morihara T, Silverman MA.

Bioessays. 2015 37(2):131-41.

Transcriptome analysis of distinct mouse strains reveals kinesin light chain-1 splicing as an amyloid- $\beta$  accumulation modifier.

Morihara T, et. al

Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 111(7):2638-43.