



ムーンショット目標 2

2050年までに、超早期に疾患の予測・予防をすることができる
社会を実現

実施状況報告書

2022年度版

臓器連関の包括的理解に基づく認知症

関連疾患の克服に向けて

高橋 良輔

京都大学 大学院医学研究科

 **MOONSHOT**
RESEARCH & DEVELOPMENT PROGRAM



研究開発プロジェクト概要

新規イメージング・計測・操作技術の開発などにより、脳と全身臓器ネットワークの機能とその破綻を分子・細胞・個体レベルで解明します。それにより、2050年には、認知症関連疾患の超早期の発症予測法と予防法を開発し、先制医療を享受できる社会の実現を目指します。

https://www.jst.go.jp/moonshot/program/goal2/24_takahashi.html

課題推進者一覧

課題推進者	所属	役職
山中 宏二	名古屋大学 環境医学研究所	教授
樋口 真人	量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門	部長
富田 泰輔	東京大学 大学院薬学系研究科	教授
斉藤 貴志	名古屋市立大学 大学院医学研究科	教授
佐藤 荘	東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科	教授
古川 貴久	大阪大学 蛋白質研究所	教授
日比野 浩	大阪大学 大学院医学系研究科	教授
津田 誠	九州大学 大学院薬学研究院	教授
眞木 崇州	京都大学 大学院医学研究科	講師
望月 直樹	国立循環器病研究センター研究所 細胞生物学部	部長
久保田 義顕	慶應義塾大学 医学部	教授
水谷 清人	神戸大学 大学院医学研究科	特命准教授
松本 理器	神戸大学 大学院医学研究科	教授
山門 穂高	京都大学 医学部附属病院	特定准教授
服部 信孝	順天堂大学 大学院医学研究科	教授
三宅 幸子	順天堂大学 大学院医学研究科	教授
松井 秀彰	新潟大学 脳研究所	教授
木下 允	大阪大学 大学院医学系研究科	特任講師
日置 寛之	順天堂大学 大学院医学研究科	教授
仁田 亮	神戸大学 大学院医学研究科	教授
大塚 稔久	山梨大学 大学院総合研究部	教授
渡部 文子	東京慈恵会医科大学 医学部	教授
丸岡 久人	東京大学 大学院医学系研究科	助教
花房 洋	名古屋大学 大学院理学研究科	准教授

課題推進者	所属	役職
本田 直樹	広島大学 大学院統合生命科学研究科	教授
小島 諒介	京都大学 大学院医学研究科	講師
松田 孟留	東京大学 大学院情報理工学系研究科	准教授
岡田 随象	大阪大学 大学院医学系研究科	教授
近藤 洋平	自然科学研究機構 生命創成探究センター	助教
中岡 慎治	北海道大学 大学院先端生命科学研究院	准教授
武藤 香織	東京大学 医科学研究所	教授

1. 当該年度における研究開発プロジェクトの実施概要

(1) 研究開発プロジェクトの概要

新規イメージング・計測・操作技術の開発などにより、脳と全身臓器ネットワークの機能とその破綻を分子・細胞・個体レベルで解明する。それにより、2050年には、認知症関連疾患の超早期の発症予測法と予防法を開発し、先制医療を享受できる社会の実現を目指す。

(2) 研究開発プロジェクトの実施状況

R5年度は中間評価を迎える節目の年として、3年目のマイルストーンの達成に向けた具体的なプロジェクト推進に努めた。また、R4年度評価フィードバックを受け、特に「認知症未病状態の解明にむけて生物学研究者と数理解析研究者が有機的に連携し、これまで得られたプレリナリーなデータセットをもとに数理解析を遂行しPDCAサイクルを回すこと」「生物学研究者と数理研究者とが積極的に交流し、新たなアイデアが生まれる環境をさらに促進すること」「異常タンパク蓄積とそれに伴う発症の予兆となる生体反応を認知症の未病と定義し、それをさまざまなモダリティのデータから予測可能であることを示すPOCを得ること」の3本柱を重視した形で研究を推進した。

開発項目1ではアルツハイマー病における脳-臓器連関の研究を進めた。モデルマウスを用いた網羅的なデータ・生体パラメータ収集を進めるとともに、ヒト未病コホートを運営し画像データや体液資料を収集した。さらに収集したデータを用いたAI・数理研究者との連携を開始した。

開発項目2では血管性認知症および混合型認知症における脳-臓器連関の研究を進めた。アルツハイマー病モデルマウスと血管性認知症モデルマウス、そして混合型認知症のモデルマウスを用い、イメージング画像を含めたデータ取得を進めた。さらに一部のデータを用いてAI・数理グループとの共同によるデータ解析を開始した。ヒトデータに関しては「ながはまコホート」の大規模ゲノム解析結果を用いて軽度認知障害の予測モデルを構築した。

開発項目3ではパーキンソン病関連疾患における脳-臓器連関の研究を進めた。前駆期パーキンソン病モデルマウスおよびアルファシヌクレイン伝播モデルマウスを用いて、複数臓器の複数タイムポイントにおける遺伝子発現データや生体パラメータを収集した。また、発症前駆状態であるレム睡眠行動異常症コホート、およびパーキンソン病コホートを用いて、血中のアルファシヌクレインシードの解析を行い、炎症マーカーとの相関について検討・報告した。

開発項目4ではネットワークの変容を超早期に発見可能とする新規イメージング・計測・操作技術の開発・応用をテーマに研究を進めた。アルツハイマー病モデルマウスや前駆期パーキンソン病モデルマウスを各施設に導入した。さらに各課題推進者が専門とする革新的基盤技術を病態モデルへ適応するための準備を進め、実験系の構築と一部データの収集に成功した。特に経時的行動解析データに関しては数理グループと連携し、行動特徴量から野生型とアルツハイマーモデルを判別するプロトコルの構築に成功した。

開発項目5では数理モデルとAI・機械学習を用いた臓器間ネットワークの解明およびヒトデータとの統合によるリスク予見法の創出をテーマに研究を進めた。引き続き既存データベースを活用した研究を進めるとともに、今後本プロジェクト内で収集が想定される多臓器シングルセルデータに対する解析手法を開発した。ゲノムコホート由来の情報を遺伝統計解析手法で

解析し、未病状態から疾患発症を予測するアルゴリズムの構築と実証を行った。他グループとの協働としては、パーキンソン病モデルマウスの腸管から取得したシングルセル RNA データに対して情報・数理解析手法を適用し、発症前状態で変化していると考えられる分子状態に関するデータマイニングを実施した。

開発項目6では ELSI に配慮した新規医療の共同開発を目指して研究を進めた。R4 年度は個人情報保護法および研究倫理指針の改正に準じて対応が必要な事項を整理し、臨床グループと連携して情報共有・実施状況ヒアリングを行った。さらに患者・市民参画を組み込んだ研究開発に向けて、市民対象の試行的な意識調査を実施し、年代ごとの認知症に対するイメージや超早期予測・予防に関する認識を明らかにした。このような試行調査によりベースラインを把握し、今後詳細に探索すべき論点を定めた。

(3) プロジェクトマネジメントの実施状況

代表機関である京都大学に構築した PM 支援体制チーム・ムーンショット事務局（認知症克服プロジェクト）の体制を充実化し、研究開発の進捗管理や研究開発機関間の連携などの様々な PM 活動を支援し、PM が効果的・効率的にプロジェクトマネジメントを実施できる環境を整えた。特に主要な運営会議として、R4 年 4 月 28 日に課題推進者全員が集う R4 年度運営会議を実施し、R4 年 9 月 2 日～3 日に 2 日間にわたって進捗報告会議を行った。今年度の会議では、特に 3 年目の中間評価段階で「マイルストーンの達成度等を勘案してステージゲートの開発課題の整理や再編成を検討し、課題推進者の最適化を行う」旨を再度周知し、課題推進者個人だけではなく当プロジェクトひいては目標 2 全体の存続・発展のためにマイルストーンを意識した効率的な研究活動を推進させた。プロジェクト内での協働としては、順天堂大学および国立循環器病センターに構築した共通イメージングプラットフォームの利用促進、若手研究者のトレーニングと最先端イメージング技術の普及・新規計測技術開発支援、そして若手の医学生物学研究者への数理科学研究能力育成体制の確立を通じて各推進者が十全なパフォーマンスを発揮できるよう支援した。また、戦略推進会議・ガバニング委員会・祖父江 PD・ムーンショット目標 2 アドバイザーの先生方の御助言も踏まえ、また追加予算に関する御高配も頂き、プロジェクト推進のために研究計画の追加変更を柔軟に行った。

研究成果の展開については、運営会議にて学会発表・論文発表・プレスリリース・知財登録等に関する認識を共有し、その後 JST との共同プレスを含む複数のプレスリリースを行った。広報、アウトリーチに関しては代表機関である京都大学学術研究支援室の支援を受け、with コロナ・post コロナを意識した時代に即した国民へのアウトリーチ活動を行った。特に PM 支援体制チーム副代表が中心となって、R3 年度に解説したホームページのさらなる内容拡充に努めた。また、R3 年度に京都大学で行ったアカデミックデイズのようにプロジェクトについて社会に分かりやすく説明する双方向コミュニケーション活動（国民との科学・技術対話）の機会を R4 年度にも活用した。

2. 当該年度の研究開発プロジェクトの実施内容

(1) 研究開発項目1:アルツハイマー病における脳-臓器連関の研究

研究開発課題1:脳-末梢臓器連関に着目したアルツハイマー病における臓器間ネットワークの解明とヒトへのトランスレーションによるリスク予見法の創出

当該年度実施内容:

- ・ アルツハイマー病 (AD) モデルマウス (App^{NL-G-F} マウス) の発症前から前駆期、発症に至る時系列の血清中炎症マーカー24種の網羅的発現解析の結果、発症前から一部の因子の変動を認めた。数理解析の結果、発症前 (2ヶ月齢) のデータから疾患群であることを70%以上の確率で予見できた。グリア細胞 RNAseq から見出した鍵分子を標的とした実験的治療や代謝学的介入を進めている。さらに、免疫・炎症・代謝関連因子の変化を網羅的に同定するため、グループ内連携により、3, 4.5, 6ヶ月齢の野生型および App^{NL-G-F} マウスの血漿の採取を行い、リポミクス解析が完了した (山中)。
- ・ 昨年度に引き続き、病態進行に伴って変化するミエロイド系細胞の多様性の検討のために AD マウス (App^{NL-G-F} マウス) から経時的に末梢組織 (骨、脾臓、血液、リンパ節) 及び脳を回収し、FACS 解析を行った。さらにミエロイド細胞をソーティングによって回収しマイクロアレイを実施しインフォマティクス解析により疾患予測マーカーの選出を行った。血液中ミエロイド系細胞の病態進行に伴って起こる変化の解析を行うために、シングルセル解析用のライブラリの作製を行った。(佐藤)
- ・ 野生型および AD マウスに対して麻酔誘導性低体温ストレスの繰り返し負荷および高リン負荷を実施し、脳における $A\beta$ およびタウのリン酸化が増加することを見出した。また、末梢血における経時的網羅的プロテオミクス解析に着手した。これまでに 3, 4.5, 6ヶ月齢の時点での野生型および App^{NL-G-F} マウスの血漿のサンプリングが完了し、外部委託による測定も完了した。(斉藤)
- ・ *in vivo* において凝集性を高めたタウを発現させるモデルを樹立し、AD continuum モデルとして $A\beta$ 蓄積が生じているマウスに発現誘導を開始した (日置との連携)。また $A\beta$ 依存性タウ蓄積病態の進展に関与するミクログリア内シグナル経路を明らかにした。さらに、脳内 $A\beta$ 蓄積の血液バイオマーカー関連分子 APP669-711 の産生機構を明らかとした。(富田)
- ・ 前臨床アルツハイマー病モデル動物 (変異タウマウス) において、前年度に定めた方法に基づいて画像・体液等のデータを収集し、脳組織に関しては RNAseq データの取得を完了した。臓器間ネットワーク検証のため、各臓器の検体収集も実施中である。RNAseq からタウ病態における炎症性ミクログリアの鍵分子を見出し、同分子を制御する治療薬の投与により、モデルマウスの病態が抑制されることが示唆された。(樋口)
- ・ 前年度に立ち上げたヒト認知症「未病」多施設コホート (Multicenter Alliance for Brain Biomarkers; MABB) を利用した画像データと体液試料の収集を実施し、未病状態の被験者データ・サンプルの収集を加速すべく体制を強化した。参加施設は 18 施設に増加した。タウ病変 PET 画像の AI 解析法開発、 α シヌクレイン病変 PET の臨床応用、タウ病変 PET 画像と相関する血漿中リン酸化タウ計測法の開発など、認知症の中核病理・混合病理を解析する上で重要性の高い技術の開発が順調に進展した。(樋口)

課題推進者: 山中宏二 (名古屋大学)、樋口真人 (量子科学研究機構)、富田泰輔 (東京大

学)、齊藤貴志(名古屋市立大学)、佐藤荘(東京医科歯科大学)

研究開発課題2: 脳-感覚器連関に着目したアルツハイマー病における臓器間ネットワークの解明と非侵襲的センシング・介入基盤技術の開発

当該年度実施内容:

- ・ 脳-視覚連関の解明のため、認知症モデル動物として *App^{NL-G-F}* マウスを用いて感覚器バイオマーカー同定に向けた検討を進め、*App^{NL-G-F}* マウスの視運動性応答(OKR)の異常を見出した。また、データベースを構築し数理解析を行う目的で、*App^{NL-G-F}* および対照マウスの大脳皮質視覚野(V1)ならびに網膜から単離した神経細胞核を用いた snRNA-seq 解析を開始した。(古川)
- ・ *App^{NL-G-F}* マウスを用いて脳-聴覚(内耳)連関について多角的に検討するため、複数の特殊聴覚機能評価法をマウス用に整備・最適化した。また、感覚器バイオマーカー候補を探索するため、内耳細胞外液のタンパク質の解析を開始した。さらに、聴覚介入法の提案に向けた予備実験として、野生型マウスを用いて前倒して開始し、音により、AD で早期に障害される扁桃体などが活性化することを確認した。(日比野)
- ・ 脳-皮膚感覚連関の検討のため、*App^{NL-G-F}* マウスを用いて感覚器バイオマーカー同定に向け、各種モダリティの皮膚感覚刺激に対する応答性や、脳や脊髄でのミクログリアを含む脳内免疫系細胞の組織学的変化に関するデータを取得した。さらに、*App^{NL-G-F}* マウスの経時的な脳および脊髄ミクログリアのシングルセル解析を実施し、早期において神経障害性疼痛モデルにおける痛みからの緩解に関与するミクログリア亜種と類似したサブセットを同定した。(津田)

課題推進者: 古川貴久(大阪大学)、日比野浩(大阪大学)、津田誠(九州大学)

(2) 研究開発項目2: 血管性認知症および混合型認知症における脳-臓器連関の研究

研究開発課題 3: 神経グリア血管単位-リンパ管系に着目した血管性認知症および混合型認知症における臓器間ネットワークの解明とヒトへのトランスレーションによるリスク予見法の創出

当該年度実施内容:

望月 PI: 遺伝子異常によりアルツハイマー病のアミロイド β ($A\beta$) の蓄積が、遺伝子異常が原因となる生成系の増加と排出系のバランスの崩れによると考えて、研究を進めた。排出系について、特に脳脊髄液(CSF)と脳間質液(ISF)の交通を可視化すべく、成体でも脈管変化を描出できる透明魚(*Danio rerio*)と、脳の深部まで生きたまま生体観察が可能なマウスでの脈管構造の解析を着手した。さらに、血管性認知症と混合型認知症のモデルマウスの AI・数理グループとの協働により臓器間ネットワークの検証に必要な生体パラメータについての討議を行うべく、京都大学眞木グループとのイメージング画像取得を優先した。透明化による脈管の3次元画像の取得を優先し、この蓄積により数理Gとの相談のためのデータを蓄積した。久保田 PI: 中枢神経系の組織は主に神経、グリア、血管・リンパ管細胞により構成され、その細胞間相互作用が恒常性維持に必須で有り、その破綻がさまざまな病態の引き金となる。こ

の多細胞システムに焦点を当て、さまざまな遺伝子改変マウスの解析を通じ、神経変性疾患発症・進行に関わる脈管の構造・機能変化を解明する。今年度は、昨年度の研究にひきつづき、脳リンパ経路の静脈への最終合流地点であるリンパ静脈弁の蛍光可視化と特異的な遺伝子ノックアウトを可能にする遺伝子改変マウス(Itga9-CreERT2 マウス)を作成する。その発現効率を indicator マウス(CAG-LSL-GFP)と交配し、Cre 発現細胞に GFP を光らせ、リンパ静脈弁を明瞭に可視化した。さらには、神経変性疾患モデル(Nrros ノックアウトマウス)の神経グリア血管単位の構造変化を可視化し、その微細な変化を数理モデル化することで、次年度以降の機能的な解析へとつなげた。また、AD モデルマウスの血管・リンパ管関連分子の発現を、前年度までに確立したイメージング技術により、経時的に解析した。

眞木 PI:認知症発症・進行に関わる神経グリア血管単位-リンパ管系の構造・機能変化や未病期を含む脳-臓器間ネットワークの破綻機序の解析を行うための体制を推進し、解析を開始した。アルツハイマー病(AD)モデルマウス、血管性認知症モデルマウス(慢性脳低灌流モデルマウス)と混合性認知症モデルマウス(AD モデルマウス×慢性脳低灌流)を用いて、血管・リンパ管系を含む脳内外の各細胞種の形質・相互作用の超早期変容を計測できる新規解析技術(単一細胞・単一核 RNAseq 解析など)、イメージング技術(可視化マウスを用いた高解像度三次元イメージングなど)の至適条件検討を行った(血管系グループ、AD グループ、基盤技術開発グループとの協働)。臓器間ネットワークの検証に必要な生体パラメータの収集を、AI・数理研究に則した形で行い、一部の解析を開始した(AI・数理グループとの協働)。さらに、AI・数理研究グループと連携し、「ながはまコホート」のゲノム情報と大規模疾患ゲノム解析結果を用いて、軽度認知障害を未病段階から予測できるモデル(polygenic risk score, PRS)を構築し、多彩な臨床因子との相互作用や臨床アウトカムとの関連を検証するためのデータ収集を継続し、解析を進めた。上記を遂行するために必要となる、多施設にまたがる多数の課題推進者による密な連携体制を継続した。

課題推進者:望月直樹(国立循環器病研究センター)久保田義顕(慶応義塾大学)、眞木崇州(京都大学)

研究開発課題 4:免疫系に着目した血管性認知症および混合型認知症における臓器間ネットワークの解明

当該年度実施内容:

水谷 PI:神経細胞死の可逆的過程から不可逆的過程への移行に関与する候補分子の作用機構を、野生型マウスや各種遺伝子欠損マウス由来の神経細胞-アストロサイトの二者共培養系を用いて解析した。

松本 PI:神経変性過程に付随して観察される T 細胞を中心とした免疫変容の解明という視点から認知症における脳・血管・末梢リンパ組織間ネットワーク異常の解析を進めた。

課題推進者:水谷清人(神戸大学)、松本理器(神戸大学)

(3) 研究開発項目 3:パーキンソン病関連疾患における脳-臓器連関の研究

研究開発課 5: パーキンソン病前駆期モデル動物を活用した臓器間ネットワークの解明とヒトへのトランスレーションによるリスク予見法の創出

当該年度実施内容:

服部 PI:

- ・コントロールおよびパーキンソン病患者の RT-QuIC 法を用いて血清 α -シヌクレインシードを検出し、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症で異なる可能性を見出し、Nature Medicine 誌にアクセプトされた。
- ・血液 α -シヌクレイン RT-QuIC における凝集形成速度と血液中の炎症マーカーの相関について、パーキンソン病および多系統萎縮症の患者について検討した。
- ・パーキンソン病および多系統萎縮症の前駆期であるレム睡眠行動異常症をリクルートした J-PPMI コホートより、神経機能画像マーカーで層別化を行い、病態の進展様式を見出し Parkinsonism and related disorders 誌へ投稿した。
- ・MIBG シンチグラフィで甲状腺への取り込み低下を見出し、便秘などの全身臓器との関連について見出し、Annals of Neurology 誌へ報告をした。

山門 PI:

パーキンソン病発症前駆期モデル・ α シヌクレイン伝播モデルを用いて、3, 6, 9 か月齢の複数臓器の単一細胞遺伝子発現、蛋白発現、行動解析についてデータを取得した。

課題推進者: 服部信孝(順天堂大学)、山門穂高(京都大学)

研究開発課題 6: 腸管免疫に着目したパーキンソン病における臓器間ネットワークの解明

当該年度実施内容:

三宅 PI:

(1) 腸管免疫に着目したパーキンソン病 (PD) マウスモデルの解析に関しては、マウスモデルの樹立をめざし、腸管もしくは線条体に α シヌクレイン (α S) フィブリルを投与する 2 種のマウスモデルを検討した。線条体投与モデルに関しては、 α S フィブリルの投与後 6 週目で、線条体のみならず、扁桃体や黒質へのリン酸化 α S の沈着が認められたため、昨年度モデル化の樹立に成功したと考えられる。本年度は本モデルを用いて経口非吸収性抗生剤投与により腸内細菌を変化させたところ、 α S の伝搬が増強されることがわかった。一方で、腸管投与モデルについては、投与 6 ヶ月においても迷走神経背側運動核、線条体および扁桃体へのリン酸化 α S の沈着が認められず、このモデルの確立は困難と判断し、アデノウイルスベクターを用いた α S 発現系によるモデルの確立を開始した。

(2) パーキンソン病患者における α シヌクレイン特異的 T 細胞の同定に関しては、パーキンソン病 (PD) 患者 27 例、多系統萎縮症 (MSA) 患者 26 例、レム睡眠行動異常症 (RBD) 患者 18 例、健常者 14 例の血液検体を用いて、 α S 特異的 T 細胞の検出を行った。PD 患者では、 α S 配列のうち、C 末端の 129 番目セリンにリン酸化が付与されたペプチド (p-S129 α S ペプチド) に特異性をもつ Th17 細胞が健常者より有意に多く存在するを見いだした。また、こ

のような p-S129 α S 特異的 Th17 細胞は Yahr3 以上の重傷 PD 患者に多く存在し、Yahr2 以下の PD 患者や、PD 前駆病変として位置づけられる RBD 患者では、検出率が低かった。 α S 刺激を受けた樹状細胞の Th17 応答誘導能を評価する実験系では、樹状細胞が、高濃度の α S 凝集体や 129 番目セリンにリン酸化修飾が付与された α S 凝集体に曝露されることで、活性化共刺激分子発現が上昇し、IL-23 等の Th17 誘導に重要なサイトカインの産生が亢進することが明らかとなった。つまり、樹状細胞が α S 凝集体刺激を受けることで、活性化し、ナイーブ CD4T 細胞を Th17 細胞へと分化させる能力をもつ可能性が示唆された。また、高濃度の α S 凝集体や、リン酸化 α S 凝集体刺激を受けた樹状細胞では、小胞体ストレス応答の IRE1-XBP1 経路を介して産生されるスプライシング型 XBP1 発現が上昇していた。IRE1-XBP1 経路の阻害剤を用いた実験では、IRE1-XBP1 経路が樹状細胞の活性化や IL-23 産生に関与していることが示された。最後に、PD と他のシヌクレイノパチー疾患における α S 特異的 T 細胞応答の相違を検討するため、MSA 患者における α S 特異的 T 細胞応答を PD と比較した。興味深いことに、MSA では、PD と比較して、p-S129 α S 特異的 Th17 細胞の検出率が低かった。MSA 患者の末梢 α S 凝集体は、樹状細胞に添加した際の IL-23 産生誘導能が PD 患者の末梢 α S 凝集体と比較して低いことが明らかとなり、血中を循環する α S 凝集体の質的/量的違いが、 α S 特異的 Th17 応答を変化させている可能性が見いだされた。

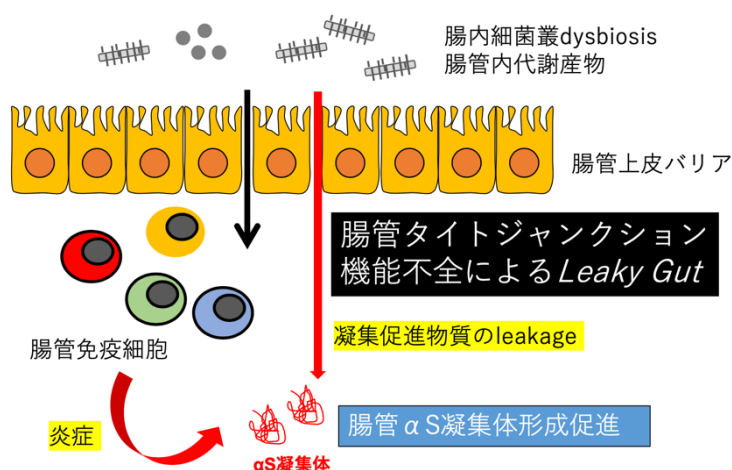
松井 PI:

モデル動物を用いた腸管環境-パーキンソン病理予測モデルの確立を進めた。また腸管環境からパーキンソン病理にいたる個体レベルの分子病態を解析した。

木下 PI:

本研究課題では、パーキンソン病発症前駆期モデルにおいて、腸管免疫に着目した脳-臓器連関の分子病態を解明し、脳-臓器連関への非侵襲的ネットワーク制御法の基盤を開発するため、パーキンソン病最初期病変における α シヌクレイン凝集メカニズムを腸管バリア機能に着眼し検証することを主眼としている。令和 4 年度は、腸管においてパーキンソン病最初期病変における α シヌクレイン凝集を認めるパーキンソン病発症前駆期モデルを活用し、超早期における腸管神経叢での変化を網羅的遺伝子発現解析を駆使し Bulk RNA sequence 法と、snRNA sequence 法を数理的に融合することで解明した。特にこれら数理的解析においては数理グループとの連携を通して課題推進者間での共同研究を推進している。

PDの最初期病変における α S 凝集メカニズムを解明し、
発症前病態の解明、発症予測・予防につなげる



(4) 研究開発項目4:ネットワークの変容を超早期に発見可能とする新規イメージング・計測・操作技術の開発・応用

研究開発課題 7:臓器間ネットワークの変容を早期に観測可能な新規イメージング技術の開発とその応用による臓器間ネットワークの解明

当該年度実施内容:

仁田 PI:高橋 PM グループと議論の上、 α -Synuclein の野生型およびパーキンソン患者に認める A53T 変異型の *in vitro* 蛋白質発現・精製系に加え、疾患特異的 α -Synuclein seed、特に A53T パーキンソン病モデルマウスから抽出した α -Synuclein Oligomer を構造解析や iPS 神経細胞へ導入するための材料として用いることとし、Oligomer 抗体を利用したマウス脳からの調整を開始した。また、パーキンソン患者由来 iPS 細胞を興奮性ニューロンへ分化し、クライオ電子線トモグラフィー用試料作製手法の整備を行っている。さらに、クライオ電子線トモグラフィー時の技術整備、特に電子顕微鏡グリッド上の細胞の配置を制御できる技術の確認、クライオ FIB-SEM を用いた試料の菲薄化手法の整備、そして立体構造解釈のための Deep learning などを用いたセグメンテーション手法の整備を行った。

日置 PI:神経ネットワーク構造の超早期変化を高い空間解像度で捉えるイメージング技術群の開発を目指し、①標識技術の開発、②観察技術の開発、③グループ内連携の推進に取り組んだ。ウイルスベクター、透明化法、蛍光増感法などについて成果を論文発表した。また、未病で生じている構造変化を検出する全脳分子マッピングの技術開発に着手し、数理グループとの連携体制を構築した。

課題推進者:仁田亮(神戸大学)、日置寛之(順天堂大学)

研究開発課題 8:臓器間ネットワークの変容を早期に検出可能な新規分子・バイオマーカーの探索とその応用によるリスク予見法の創出

当該年度実施内容:

大塚 PI:神経変性疾患モデルマウスと ALFA-tag CAST/ELKS ノックインマウスの交配が進んでいる。令和4年度に樹立したシナプス情報取得プロトコールに基づき、シナプス情報プロテオームのモデルとして海馬初代培養におけるビオチン標識プロテオームデータを取得した。さらに、脳神経組織におけるビオチン標識を完了し、解析を進めている。

花房 PI:臓器間ネットワークの検証に必要なバイオマーカーやイメージング技術について検討するため、エクソソームを含む細胞外分泌小胞(EVs)のイメージングやガラスデバイスを用いた回収法について検討を行った。さらに初代培養神経細胞—アストロサイト共培養系を用いた、 α シヌクレインの拡散・凝集様式を解析する系を立ち上げた。

丸岡 PI:当該年度は大脳皮質と網膜の神経細胞、免疫細胞、脈管からそれぞれ個別に *in vivo* イメージングを行う技術を開発・高度化した。特に網膜での *in vivo* イメージング技術の開

発に注力し、対物レンズやマウス固定方法などの諸条件を最適化することにより、当該イメージング技術の開発に成功した。またこれまでに得られたイメージングデータを解析するためのプログラムを多数作成し、ミクログリア突起の動態を定量することなどに成功した。

渡部 PI: 昨年度に引き続き、超早期の機能変容を捉えるための技術基盤の開発のために、野生型マウスを用いて扁桃体などの脳領域から電気生理学的記録を実施して基礎的データを収集した。また、行動学的変容を超早期に捉える行動タスクを検証するために、新規行動実験システムの最適化を進め、経時的行動オミックスデータ取得のための実験系を構築した。

これらの実験系を用いて、アルツハイマー病モデルマウス AppNL-G-F マウスでの電気生理学的解析と行動学的解析を進めた。電気生理学的解析では、前回の領域会議におけるアドバイザーからの提案を受け、A β プラークを蛍光色素で可視化するための実験条件を最適化した。予備的結果として、まず十分にプラークが凝集した 11-12 カ月齢を用いたマウス扁桃体では、周囲の A β プラークの有無によってシナプス機能に差がある傾向が認められた。行動学的解析では、3 カ月齢と 6 カ月齢の行動オミックスデータを取得し、3 カ月齢の時点で、不安様行動、社会性行動、観察恐怖学習に変化がある傾向が認められた。

さらに、数理グループの本田グループと連携して、経時的行動オミックスデータの数理解析を行った。行動実験で取得した行動特徴量を用いて数理モデルを学習したところ、3 カ月齢での行動特徴量と雌雄から約 90%の予測精度で、野生型と AppNL-G-F マウスを判別することに成功した。

課題推進者: 大塚稔久(山梨大学)、花房洋(名古屋大学)、丸岡久人(東京大学)、渡部文子(東京慈恵会医科大学)

(5) 研究開発項目 5: AI・数理研究による臓器間ネットワークの解明

研究開発課題 9: 数理モデルと AI・機械学習を用いた臓器間ネットワークの解明、およびヒトデータとの統合によるリスク予見法の創出

当該年度実施内容:

本田 PI

既存データベースを活用した研究として、昨年度より開発を進める多次元行動データからアミロイド β の蓄積量を推定する機械学習モデルの論文を投稿した。さらに、ムーンショットの実験課題研究者と連携し、モデルを拡張して多時点マウス行動実験データから野生型かアルツハイマー病モデルかの予測可能性を示した。また、ヒト公開データベースを利用し、スプライシングの多様度を機械学習することにより、アルツハイマー病か健常かを診断することに成功した。異なるモダリティデータの統合アルゴリズムを発展させ、実データで既存手法に対する優位性を示した。さらに、ムーンショットで想定される多臓器シングルセルデータに対する解析手法を開発した。

岡田 PI

遺伝統計解析手法を用いてゲノムコホート由来のオミックス情報・臨床情報を縦断・横断的に解析し、認知症関連の発症や臨床アウトカムに関わるバイオマーカーの同定を行う。日本人集団地域住民コホートを対象に既存の認知症関連形質の大規模ゲノム解析結果を活用した、

未病状態から疾患発症を予測する予測アルゴリズムの構築と実証を行った。ヒトゲノム配列全領域の遺伝的リスクを統合する polygenic risk score (PRS) の解析手法開発を進め、日本人集団における同類交配の存在を PRS を用いて実証した。

近藤 PI

当該年度のマイルストーンである「生化学・生物物理学モデルの構築」の達成のため、既存のモデルを深層学習器に組み込む際に有用な微分可能シミュレーター技術である Neural Ordinary Differential Equation (Neural ODE) を利用し技術開発を進めた。具体的には、化学反応や個体群動態の数理モデルに頻出する多項式による非線形項を効率的に学習するために、微分可能なカテゴリー変数のサンプリングとシミュレーションの組み合わせた手法を提案した。さらに、Tau/Amyloid PET データの解析を念頭に、プリオン様伝播モデルの精緻化およびそのパラメータ/状態推定手法の開発を進めている。

小島 PI

臓器連関ダイナミクスをデータから推定するために、本研究課題では「遺伝子・薬剤・疾患ネットワーク解析技術の臓器間ネットワークへの応用」と「深層時系列モデルの生体時系列データへの応用」の二つのアプローチを行う。「遺伝子・薬剤・疾患ネットワーク解析技術の臓器間ネットワークへの応用」では、これまでの研究で多く用いられてきた遺伝子、薬剤、疾患の関係性からネットワークを構築する技術を臓器間ネットワークへと応用するために、今年度までに、次年度以降の実データへの適用に向けた従来技術・新技術の基盤構築を行った。「深層時系列モデルの生体時系列データへの応用」では、深層状態空間モデルを利用することで、欠損を補間しつつ、状態や支配方程式を推定観測された現象の要約・数式的な理解を目指す。これに向けて本年度では、従来技術の整理および生体データに特化した新規手法の開発を行う。また、実験系研究グループと協力し、ターゲットとする実験データ候補を決め、これらの手法の適用を開始する。

松田 PI

本研究開発課題では、数理モデルと AI・機械学習を用いた臓器間ネットワークの解明、およびヒトデータとの統合によるリスク予見法の創出に向けて、(1)脳-臓器データ解析のための基礎数理の整備、(2)脳-臓器データの数理モデルの構築、(3)脳-臓器データ解析のためのアルゴリズムの開発と応用を行う。当該年度は、ムーンショット内の実験グループと連携しながら(2)の数理モデルの構築および(3)のアルゴリズム開発に取り組んだ。

中岡 PI

患者個人の特徴に基づいた疾患発症機構を明らかにするため、本年度(令和4年4月～令和5年3月)は、疾患発症の層別化を可能にする機械学習や数理解析手法をパーキンソン病に関わるデータへ適用する解析に着手した。本年度に進めた課題では、パーキンソン病モデルマウスの腸管上皮から取得した一細胞 RNA-seq データに対して情報・数理解析手法を適用し、発症前状態で変化していると考えられる分子状態に関するデータマイニングを実施した。また、発症に関わる分子レベルでのイベントとその発症に関わるリスクを推定する数理解析手法の有効性を検討するため、一細胞 RNA-seq データに対して開発手法を適用し、得られた結果の妥当性を検討した。

課題推進者: 本田直樹(広島大学)、岡田随象(大阪大学)、近藤洋平(生命創成探究センタ

一)、小島諒介(京都大学)、松田孟留(東京大学)、中岡慎治(北海道大学)

(6) 研究開発項目6: ELSI に配慮した新規医療の共同開発

研究開発課題10: 超早期に認知症関連疾患の予測・予防を可能にする社会実現に向けた ELSI 研究の推進

当該年度実施内容:

本研究開発課題に関連する個人情報保護法および研究倫理指針の改正に準じて倫理面での対応が必要な事項を整理し、臨床グループと連携して「ヒトコホート×ELSI 勉強会」を開催し情報共有するとともに、各コホートの同意取得・オプトアウト実施状況のヒアリングを行った。試料・データの外国への提供、企業によるデータ二次利用に関する説明のあり方の留意点について研究者に周知をはかった。遺伝情報・遺伝的特徴に基づく差別禁止の法規制に関する国際動向と日本の現状を明らかにし、早期のリスク予測や本人への伝達が引き起こしうる社会的不利益を防ぐ手立ての必要性を同定した。

患者・市民参画(PPI)を組み込んだ研究開発を推進するための一歩として、市民対象の試行的な意識調査を実施した。年代ごとの認知症に対するイメージ、超早期予測・予防の研究開発に関する認知度と賛成・許容度を明らかにした。また、革新的な予防介入方法に関する ELSI を「送り手」と「受け手」に分けて抽出し、ELSI 論点の同定を進めた。認知症の超早期予測に関する人々のリスク・ベネフィット認知、どのくらい前に発症予測を知りたいか、新規技術の利用意欲等を調査した。認知症の超早期診断・予防的介入を支持する市民が多い一方で、発症予測を知りたい時期や技術の受容意欲には個人差があること、ベネフィット・リスク認知には年代差があるといった示唆を得た。試行調査によりベースラインを把握し、今後インタビュー調査を通じて詳細に探索が必要な ELSI 論点を定めた。

課題推進者: 武藤香織(東京大学)

3. 当該年度のプロジェクトマネジメント実施内容

(1) 研究開発プロジェクトのガバナンス

進捗状況の把握

代表機関である京都大学に構築した PM 支援体制チーム・ムーンショット事務局(認知症克服プロジェクト)の体制を充実化した。具体的には派遣職員の正規雇用化を行い、さらなる責任と裁量を有するメンバーを増員した。研究者でもある事務局代表が課題推進者と PM との間の重要事項の連絡・調整を研究者の観点から支援し、事務局副代表はデータベース構築・運営担当およびアウトリーチ担当者として同じく研究者の視点からプロジェクト全体を意識したデータ連携・アウトリーチを支える形とした。以上により、研究開発の進捗管理や研究開発機関間の連携などの様々な PM 活動を支援し、PM が効果的・効率的にプロジェクトマネジメントを実施できる環境を整えた。

R4 年 4 月 28 日に課題推進者全員が集う R4 年度運営会議を実施し、その後も運営会議を中心として重要事項の連絡・調整を行い、各グループ統括によりグループ毎の性質に合わせた分科会を行うとともに、R4 年 9 月 2 日～3 日に 2 日間にわたって課題推進者全員が集う進捗

報告会議を行った。

研究開発プロジェクトの展開

従来の個別の臓器・疾患に限定された研究と異なり、本研究開発プログラムは全身の臓器連関を解明するものである。そのため研究の進捗に伴い課題推進者間の研究内容が重複したり、いずれかの課題推進者の研究成果により他の推進者の研究計画の重要性が大きく変化したりする可能性が存在することが当初より予想されていた。この点は既に R3 年度運営会議で周知して協調と競争を促していたが、改めて R4 年度全体会議でも確認した。

特に3年目の中間評価段階で「マイルストーンの達成度等を勘案してステージゲートの開発課題の整理や再編成を検討し、課題推進者の最適化を行う」旨を再度周知し、課題推進者個人だけではなく当プロジェクトひいては目標2全体の存続・発展のためにマイルストーンを意識した効率的な研究活動を推進させた。

ただし研究開発プロジェクト全体の戦略としては、課題推進者を絞り込む方向に動くのではなく、順天堂大学および国立循環器病センターに構築した共通イメージングプラットフォームの利用促進、若手研究者のトレーニングと最先端イメージング技術の普及・新規計測技術開発支援、そして若手の医学生物学研究者への数理科学研究能力育成体制の確立を通じて各推進者が十全なパフォーマンスを発揮できるよう支援した。

また、戦略推進会議・ガバニング委員会・祖父江 PD・ムーンショット目標2アドバイザーの先生方の御助言も踏まえ、また追加予算に関する御高配も頂き、プロジェクト推進のために研究計画の追加変更を柔軟に行った。

(2) 研究成果の展開

研究成果の展開に関わる規則に関してはプロジェクトが進むにつれて成果発表・知財取得の機会が増えることを考慮し、R4 年度運営会議にて再度説明し、学会発表・論文発表・プレスリリース・知財登録等に関する認識を共有した。その後 JST との共同プレスを含む複数のプレスリリースがなされている。

社会実装を含めた目標達成のためには、社会変容に応じたニーズの変化や実装可能なデバイスのシーズを探ることも重要である。医学生物学的技術開発を中心とした学術報告に関しては AI・数理グループが中心となって引き続きデータリサーチシステムの構築を行った。一方で市場調査等は企業の得意とするところでもあり、企業との共同研究を通じて顧客開拓を見据えた戦略を構築した。開発項目2統括である望月統括が代表を務める JST 共創の場プロジェクトは企業との連携や社会実装を含めた出口戦略において重要であり、連携を進めた。

事業化戦略としては、公的支援制度等を活用して課題推進者の開発した革新的技術の技術移転やベンチャー事業設立を容易にすることを意識した。特に民間資金を活用することが有効な段階にある研究開発については、受け皿となる民間企業を探索するとともに民間資金を活用するよう努めるため、それを意識した共創の場との連携を進めた。

(3) 広報、アウトリーチ

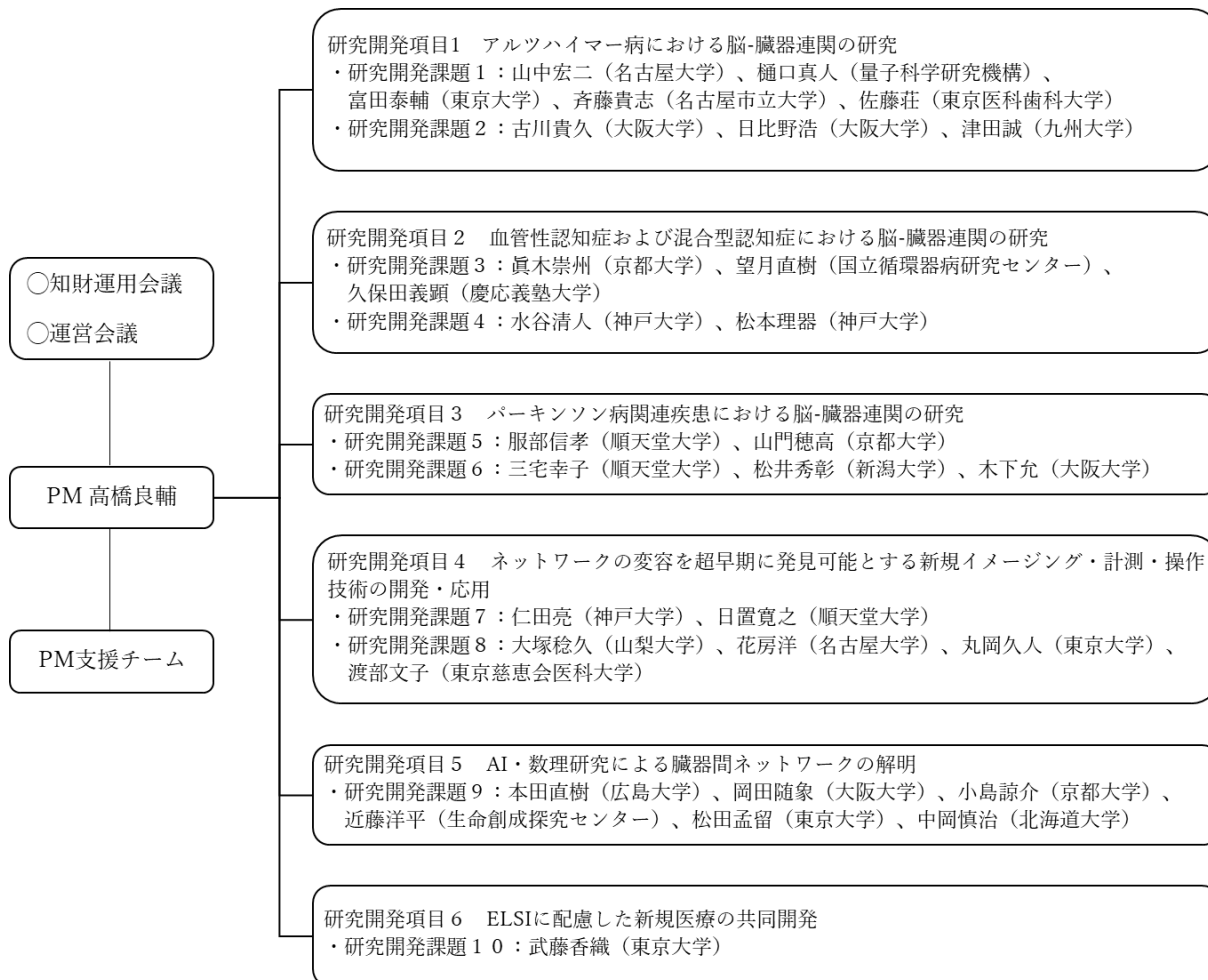
代表機関である京都大学学術研究支援室の支援を受け、with コロナ・post コロナを意識した時代に即した国民へのアウトリーチ活動を行った。特に PM 支援体制チーム副代表

が中心となって、R3 年度に解説したホームページのさらなる内容拡充に努めた。また、R3 年度に京都大学で行ったアカデミックデイズのようにプロジェクトについて社会に分かりやすく説明する双方向コミュニケーション活動（国民との科学・技術対話）の機会を R4 年度にも活用した。

(4) データマネジメントに関する取り組み

データマネジメントプランに基づき、研究データの蓄積と共有を進めた。

4. 当該年度の研究開発プロジェクト推進体制図



5. 当該年度の成果データ集計

知的財産権件数				
	特許		その他産業財産権	
	国内	国際(PCT含む)	国内	国際
未登録件数	0	0	0	0
登録件数	0	0	0	0
合計(出願件数)	0	0	0	0

会議発表数			
	国内	国際	総数
招待講演	66	29	95
口頭発表	32	1	33
ポスター発表	43	8	51
合計	141	38	179

原著論文数(※proceedingsを含む)			
	国内	国際	総数
件数	0	61	61
(うち、査読有)	0	57	57

その他著作物数(総説、書籍など)			
	国内	国際	総数
総説	4	5	9
書籍	1	0	1
その他	0	0	0
合計	5	5	10

受賞件数		
国内	国際	総数
8	5	13

プレスリリース件数
9

報道件数
12

ワークショップ等、アウトリーチ件数
32