

新潟大学脳研究所  
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」  
共同利用・共同研究報告書

## 統合的マルチオミクス解析による神経筋変性疾患の病態解明

研究代表者 間野 達雄<sup>1)</sup>  
研究分担者 宮下 哲典<sup>2)</sup>, 原 範和<sup>2)</sup>, 池内 健<sup>2)</sup>, 橋本 唯史<sup>1)</sup>

1) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部

2) 新潟大学脳研究所 遺伝子機能解析学分野

### 研究要旨

本研究では、アルツハイマー病（AD）における進行中の病態を解析する新しい手段として、脳脊髄液（CSF）由来エクソソーム／細胞外小胞（EV）を網羅的に解析し、公共シングル核トランスクリプトーム（snRNA-seq）データとの統合解析を行なった。AD 患者の CSF-EV ではプロテアソーム関連タンパク質が多数有意に増加していた。さらに公共シングル核トランスクリプトームデータと統合し、増加タンパク質セットが興奮性神経細胞の一部に由来すること、さらにはこれらの神経細胞は特定のマーカーを発現していることを見出した。EV プロテオーム解析は、死後脳では捉えにくい代償的防御反応や細胞選択的病態抵抗性を映し出し、AD 病態の有力な解析基盤となることが示唆された。

### A. 研究目的

本研究の目的は第一に、末梢血 EV から得られる情報が CSF-EV、ひいては脳組織における病態進行の指標となり得るかを検証した。第二に、CSF-EV の網羅的プロテオーム解析を通じて、AD 病態のどの分子経路あるいは細胞種が最も顕著に変動するかを同定し、新規バイオマーカーや治療標的候補を抽出することである。特に神経由来 EV マーカーが未確立である現状を踏まえ、EV タンパク質の組織特異性評価と、質量分析データを脳組織シングルセルトランスクリプトームと統合することで、EV の起源推定精度を高めることに挑戦した。

### B. 研究方法（倫理面への配慮を含む）

本研究は、ヒト由来の試料・情報を用いるため、被験者のインフォームド・コンセントを得て、個人情報保護に十分配慮して実施する。また、各研究機関の倫理委員会の承認を得て行った。EV 精製については原理の異なる複数の手法を比

較した。純度を重視した結果、TIM4 磁気アフィニティ捕捉（MagCapture®）法を採用した。CSF-EV のプロテオームデータについて非認知症群と AD 群との比較を行い、病態と正の相関・負の相関を有意に示すタンパク質群を同定、gene ontology 解析を行なった。また、変化のあったタンパク質群について、公共シングル核トランスクリプトームデータとの統合を行い、AD の特徴を有する CSF-EV (AD-EV) がどのような細胞群のトランスクリプトームを反映しているのかについて検討した。データ解析から得られた結果について剖検脳組織のパラフィン切片を用いた免疫染色により確認を行なった。

### C. 研究結果

CSF-EV では1318種中157タンパク質がADで増加、84種が減少した。増加群に顕著だったGOカテゴリは「プロテアソーム」、タンパク質品質管理経路の活性化を示唆した。またAUC解析により、増

加タンパク質セットは興奮性神経細胞のサブセットと高い相関を示し、AD-EV が特定サブセットのニューロンに由来することが判明した。このような特徴を有する神経細胞群のマーカーを同定し、免疫染色において同神経細胞群がリン酸化タウ蓄積を抑制していることが確認された。これらの知見は、EV が特定の神経細胞集団の代謝状態やストレス応答を反映し得ることを実証するものである。

#### **D. 考察**

本研究は、CSF-EV プロテオーム解析とシングルセル情報の統合により、AD における細胞種特異的応答を CSF-EV レベルで捉え得ることを示した。プロテアソーム関連タンパク質の増加は、異常タンパク質除去を介した代償的防御反応と解釈でき、AD-EV マーカーが陽性であった神経細胞においてタウ蓄積が抑制されていた事実は、プロテアソーム活性の高さが病態抵抗性を与える可能性を示唆する。一方、血漿 EV では脳特異マーカーが極めて少なく、脳由来情報を抽出するには表面マーカーを用いた濃縮が必要であろうと考えられた。

#### **E. 結論**

本研究は、TIM4 アフィニティ法で精製した CSF エクソソームの網羅的プロテオームと snRNA-seq データを統合し、AD ではプロテアソーム関連タンパク質を豊富に含む興奮性ニューロン由来 EV が選択的に増加することを示した。CSF-EV の解析により特定の神経細胞に由来する病態を解析することが可能であることが示され、病態モニタリングと治療標的探索を同時に実現し得る有望なプラットフォームであることが示唆された。

#### **F. 研究発表（上記課題名に関するもの）**

##### **1. 論文発表**

該当事項なし

##### **2. 学会発表**

該当事項なし

#### **G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）**

該当事項なし