

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14574

研究課題名(和文)筋萎縮性側索硬化症のミトコンドリア病態と治療薬開発

研究課題名(英文) Drug development improving mitochondrial pathology in Amyotrophic lateral sclerosis

研究代表者

福永 浩司 (Fukunaga, Kohji)

東北大学・薬学研究科・教授

研究者番号：90136721

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：マウスの横行大動脈狭窄モデルの心筋におけるSigma-1Rの発現低下とSigma-1R作用薬SA4503の改善効果を調べた。心不全の進行に平行してSigma-1Rの心筋での発現は著しく低下した。SA4503(0.1-1mg/kg)の経口投与は用量依存性にSigma-1R発現とミトコンドリアATP産生能を回復させ、心機能を改善した。Sigma-1R発現低下は脳神経細胞でも観察され、SA4503の慢性投与は低下した脳機能も改善した。今後は、Sigma-1R(E102Q)変異マウスの脊髄運動神経および中枢神経でのミトコンドリア障害を解析し、ミトコンドリア治療薬の効果を動物モデルで検証する。

研究成果の概要(英文)：We have been demonstrated that sigma-1 receptor (E102Q) mutation in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients triggers mitochondrial injury in neuro2A cells. Sigma-1R(E102Q) is accumulated in the mitochondria and reduces ATP production. We here investigated downregulation of sigma-1R and effects of SA4503, a sigma-1 R agonist in transverse aortic constriction (TAC) model mice. Those mice exhibited heart failure with reduced sigma-1R levels in heart. The oral administration of SA4503 (0.1-1mg/kg) dose-dependently restored the reduced sigma-1R and ATP production in heart, thereby improving heart functions. Notably, the reduced sigma-1R was also observed in the central nervous system. Then, SA4503 treatments also improved impaired brain functions. We are now preparing sigma-1R(E102Q) mutant mice to investigate effects of mitochondrial function improvers including pyruvate, aminolevulinic acid and SA4503.

研究分野：神経薬理学

キーワード：筋萎縮性側索硬化症 Sigma-1受容体 ミトコンドリア SA4503

### 1. 研究開始当初の背景

ALS患者の10%は家族性であり、そのうちの20%はSOD1(superoxide dismutase 1)遺伝子の変異によって起こり、4-5%はTDP-43(TAR DNA-binding protein-43)とFUS(fused in sarcoma)の遺伝子に原因がある。またUBQLN2(Ubiquilin2)やC9ORF72(chromosome 9 open reading frame 72)も頻度の高いALS原因遺伝子である。これら以外にも16以上の原因遺伝子が同定されている。2011年Al-Saifらは若年性に発症するALS家系でSigma-1Rの変異(pE102Q変異;Sigma-1RE102Q)を同定し、変異Sigma-1Rを発現した運動神経が変性することを報告した。私達は、Sigma-1Rが心筋細胞の筋小胞体に高発現し、そのアゴニストが心肥大に伴う心筋細胞死を抑制すること(Am J Physiol Circ Physiol, 2010, Biochem Biophys Acta, 2013)、Sigma-1Rがミトコンドリアの形態維持と伸展に関わること(J Biol Chem, 2012)を明らかにした。

### 2. 研究の目的

これまでに家族性ALSの原因遺伝子であるSigma-1受容体(R)変異体がミトコンドリア障害を惹起するメカニズムを明らかにした。本研究では、1) TDP-43の核外漏出とミトコンドリアおよびプロテオソーム障害との関係を明らかにする。2) ピルビン酸、アミノレブリン酸、Sigma-1RアゴニストSA4503などのミトコンドリア保護薬の薬効を解析し、臨床応用に向けた非臨床POCを取得する。

### 3. 研究の方法

Neuro2A神経芽腫細胞にSigma-1R(E102Q)を過剰発現し、ミトコンドリア及びプロテオソーム障害機序を解析する。心筋障害モデル横行大動脈狭窄マウスを用いてミトコンドリア障害に対するミトコンドリア保護薬の薬効をin vivoで確認するため、心筋ミトコンドリア障害に対するピルビン酸、アミノレブリン酸、SA4503の改善効果を検討する。以上の実験によりALSモデル細胞と動物モデルに対するミトコンドリア修復治療薬の非臨床POCを取得する。

### 4. 研究成果

Sigma-1受容体(R)(E102Q)変異体がミトコンドリア障害を惹起するメカニズムをNeuro2A細胞で明らかにした。Sigma-1R(E102Q)はミトコンドリアに集積して、ATP産生を障害した。次に、マウスの横行大動脈狭窄モデルの心筋におけるSigma-1Rの発現低下とSigma-1R作用薬SA4503の改善効果を調べた。心筋肥大を伴う心不全の進行に平行してSigma-1Rの心筋での発現は著しく低下した。SA4503(0.1-1mg/kg)の経口投与は用量依存性にSigma-1R発現とミトコンドリアATP産生能を回復させ、心機能を改善した。これらのSigma-1R発現低下は脳神経細胞で

も観察され、SA4503の慢性投与は低下した脳機能も改善した。現在、Sigma-1R遺伝子改変マウスを作成中である。Sigma-1R(E102Q)変異マウスの脊髄運動神経および中枢神経でのミトコンドリア障害を解析し、ミトコンドリア治療薬(ピルビン酸、アミノレブリン酸、SA4503)の効果を動物モデルで検証する。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計14件)

1. Moriguchi S, Fukunaga K. Memantine improves cognitive function via KATP channel inhibition. Nihon Yakurigaku Zasshi 査読なし 150(5):228-233. (2017) doi: 10.1254/fpj.150.228.
2. Yabuki Y, Jing X, Fukunaga K. The T-type calcium channel enhancer SAK3 inhibits neuronal death following transient brain ischemia via nicotinic acetylcholine receptor stimulation. Neurochem Int 査読有 108:272-281. (2017) doi: 10.1016/j.neuint.2017.04.015.
3. Noreen H, Yabuki Y, Fukunaga K. Novel spiroimidazopyridine derivative SAK3 improves methimazole-induced cognitive deficits in mice. Neurochem Int 査読有 108:91-99. (2017) doi: 10.1016/j.neuint.2017.03.001.
4. Shioda N, Yabuki Y, Wang Y, Uchigashima M, Hikida T, Sasaoka T, Mori H, Watanabe M, Sasahara M, Fukunaga K. Endocytosis following dopamine D2 receptor activation is critical for neuronal activity and dendritic spine formation via Rabex-5/PDGFR signaling in striatopallidal medium spiny neurons. Mol Psychiatry 査読有 22(8):1205-1222. (2017) doi: 10.1038/mp.2016.200.
5. Fukunaga K and Moriguchi S. Stimulation of the Sigma-1 Receptor and the Effects on Neurogenesis and Depressive Behaviors in Mice. Adv Exp Med Biol 査読有 964:201-211. (2017) doi: 10.1007/978-3-319-50174-1\_14.
6. Matsuo K, Yabuki Y, Fukunaga K. Combined l-citrulline and glutathione administration prevents neuronal cell death following transient brain ischemia. Brain Res 査読有 1663:123-131. (2017) doi:

- 10.1016/j.brainres.2017.03.014.
7. Yabuki Y, Matsuo K, Izumi H, Haga H, Yoshida T, Wakamori M, Kakei A, Sakimura K, Fukuda T, Fukunaga K. Pharmacological properties of SAK3, a novel T-type voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channel enhancer. *Neuropharmacology* 査読有 117:1-13. (2017) doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.01.011.
  8. Yabuki Y, Matsuo K, Hirano K, Shinoda Y, Moriguchi S, Fukunaga K. Combined Memantine and Donepezil Treatment Improves Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia-Like Behaviors in Olfactory Bulbectomized Mice. *Pharmacology* 査読有 99(3-4):160-71. (2017) doi: 10.1159/000452839.
  9. Shinoda Y, Tagashira H, Bhuiyan MS, Hasegawa H, Kanai H, Zhang C, Han F, Fukunaga K. Corticosteroids Mediate Heart Failure-Induced Depression through Reduced  $\beta_1$ -Receptor Expression. *PLoS One* 査読有 11(10):e0163992. (2016) doi: 10.1371/journal.pone.0163992.
  10. Huang JY, Tian Y, Wang HJ, Shen H, Wang H, Long S, Liao MH, Liu ZR, Wang ZM, Li D, Tao RR, Cui TT, Moriguchi S, Fukunaga K, Han F, Lu YM. Functional Genomic Analyses Identify Pathways Dysregulated in Animal Model of Autism. *CNS Neurosci Ther* 査読有 22(10):845-53. (2016) doi: 10.1111/cns.12582.
  11. Shinoda Y, Tagashira H, Bhuiyan MS, Hasegawa H, Kanai H, Fukunaga K. Haloperidol aggravates transverse aortic constriction-induced heart failure via mitochondrial dysfunction. *J Pharmacol Sci* 査読有 131(3):172-83. (2016) doi: 10.1016/j.jphs.2016.05.012.
  12. Moriguchi S, Fukunaga K. Stimulation of sigma-1 receptor ameliorates depressive-like behaviors via mitochondrial ATP synthesis in CaMKIV null mice. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 査読なし 147(4): 206-210. (2016) doi: 10.1254/fpj.147.206.
  13. Wang R, Wang ST, Wang YD, Wu G, Du Y, Qian MQ, Liang XG, Elbatreek MH, Yang HY, Liu ZR, Fukunaga K, Liu JX, Lu YM. Stress-responsive heme oxygenase-1 isoenzyme participates in Toll-like receptor 4-induced inflammation during brain ischemia. *Neuroreport* 査読有 13;27(6):445-54. (2016) doi: 10.1097/WNR.0000000000000561.
  14. Hong LJ, Jiang Q, Long S, Wang H, Zhang LD, Tian Y, Wang CK, Cao JJ, Tao RR, Huang JY, Liao MH, Lu YM, Fukunaga K, Zhou NM, Han F. Valproic acid influences MTNR1A intracellular trafficking and signaling in a  $\beta$ -arrestin 2-dependent manner. *Mol Neurobiol* 査読有 53(2): 1237-46. (2016) doi: 10.1007/s12035-014-9085-y.
- [学会発表](計 10 件)
1. The 3rd Japan-Taiwan Bilateral Conference on Protein Phosphatase in Tohoku University, The 8th Japanese Conference on Protein Phosphatase (平成 29 年 11 月 18~20 日、仙台)  
Yasuharu Shinoda, Kohji Fukunaga: Hippocampal sigma-1 receptor reduction is associated with depressive-like behavior in heart failure mice
  2. 生体機能と創薬シンポジウム 2017(平成 29 年 8 月 24~25 日、京都)  
篠田 康晴、福永 浩司: 心不全モデルマウスにみられるうつ様症状に対するシグマ 1 受容体刺激薬の作用効果
  3. 第 28 回霧島神経薬理フォーラム(平成 29 年 8 月 18~20 日、香川)  
篠田 康晴、福永 浩司: 心不全マウスにおけるシグマ 1 受容体の発現低下とうつ様行動
  4. 日本生化学会 東北支部 第 83 回例会・シンポジウム(平成 29 年 5 月 27 日、仙台)  
篠田 康晴、田頭 秀章、福永 浩司: 圧負荷心不全モデルマウスの脳内シグマ 1 受容体の発現低下の機能的意義
  5. 第 26 回日本循環薬理学会(平成 28 年 12 月 2 日、松本)  
篠田 康晴、田頭 秀章、福永 浩司: 圧負荷心肥大モデルマウスのうつ様行動へのシグマ 1 受容体の関与
  6. 第 89 回日本生化学会大会(平成 28 年 9 月 25~27 日、仙台)  
篠田 康晴、田頭 秀章、福永 浩司:

シグマ1受容体発現量の低下と心不全誘導うつ様症状の関連性

7. Protein misfolding in disease-toxic aggregation-prone proteins in aging and age-related diseases: From structure to pathology and spreading (平成28年9月12~16日、Roscoff, France)  
Kohji Fukunaga and Yasuharu Shinoda: Crucial Roles of sigma-1 receptor in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) therapy.
8. 第38回日本生物学的精神医学会・第59回日本神経化学会大会 合同年会(平成28年9月8~10日、福岡)  
篠田 康晴、田頭 秀章、福永 浩司 : ハロペリドールによるシグマ1受容体の阻害は心不全病態を悪化させる
9. 30th CINP WORLD CONGRESS OF NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY (平成28年7月3~5日、ソウル)  
Yasuharu Shinoda, Kohji Fukunaga, Hideaki Tagashira: Haloperidol aggravates heart failure induced by pressure overload in mice through inhibition of sigma1-receptor
10. 第46回日本神経精神薬理学会年会(平成28年7月2~3日、ソウル)  
篠田 康晴、田頭 秀章、福永 浩司 : Haloperidol は 1 受容体の抑制を介しマウスの圧負荷による心不全を増悪する

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
福永 浩司(Kohji Fukunaga)  
東北大学・大学院薬学研究科・教授  
研究者番号：90136721

(2)研究分担者  
矢吹 梯(Yasushi Yabuki)  
東北大学・大学院薬学研究科・助教  
研究者番号：70756121

(3)連携研究者  
( )  
研究者番号：

(4)研究協力者  
( )