

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15006

研究課題名(和文) Elucidation of in vivo protective effects of huntingtin-associated protein 1 against motor neuron degeneration.

研究課題名(英文) Elucidation of in vivo protective effects of huntingtin-associated protein 1 against motor neuron degeneration.

研究代表者

Md・Nabiul Islam (ISLAM, Md.Nabiul)

山口大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80759671

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ハンチンチン関連タンパク質1(HAP1)は、in vitroの実験系において神経変性に対する保護因子であることが示唆されている。本研究では、野生型マウスとHAP1-TGマウスを用いて、脊髄、脳幹、およびそれらに関連する筋肉におけるHAP1の時空間的発現を調べた。その結果、HAP1は感覚ニューロンと自律神経ニューロンには豊富に発現しているが、運動ニューロンとそれに関連する筋肉には全く発現が見られなかった。このことから、運動ニューロンはHAP1の保護機能を欠いているために神経変性を起こしやすいことが示唆された。本成果は、運動ニューロン疾患の新たな診断法や治療法の開発に繋がることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

The outcome of our study may lead to create a motor neuron-degeneration-resistant-mice model in near future and will shed light on yet-to-be-uncovered new diagnostic or therapeutic applications for motor neuron diseases including ALS, Hirayama disease, spinal muscular atrophy and SBMA.

研究成果の概要(英文)：Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is a neural huntingtin interactor and being considered as a protective factor against neurodegenerative apoptosis in vitro. Here, we examined the spatio-temporal expression of HAP1 in spinal cord, brain stem and their associated muscles, using wild-type mice and motor-neuron-specific HAP1-TG mice that we genetically engineered using Cre-LoxP technology in our laboratory. HAP1 is abundantly expressed in the spinal sensory and autonomic neurons but completely lacking in motor neurons and their associated muscles, suggesting that the motor neurons due to lack of HAP1-protectivity, are more vulnerable to neurodegeneration. The outcome of our study may shed light on yet-to-be-uncovered new diagnostic or therapeutic applications for motor neuron diseases.

研究分野：Neuroanatomy

キーワード：Motor neuron Autonomic neuron Neurodegeneration Neuroprotection

## 1 . 研究開始当初の背景

Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is a neural huntingtin interactor and being considered as a protective factor against neurodegenerative apoptosis *in vitro*. In normal rodent brains, HAP1 is localized to the stigmoid body (STB) that was originally identified in our previous study as a neuronal inclusion (Shinoda et al.1992, J.Comp.Neurol 322:360-376). We have showed that the STB/HAP1 can bind with the causal agents of several neurodegenerative diseases and suppresses apoptosis and cell death *in vitro* (Takeshita et al. 2006, Human Mol Genet 15:2298-2312). Taken together, HAP1 has been considered as a protective factor against neurodegeneration. Motor neuron disease (MND) represents a group of neurodegenerative diseases, including like amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and spinal bulbar and muscular atrophy (SBMA), that primarily affect the motor neurons resulting progressive paralysis and death (Rezina and Roos, 2013 Neurol Clin 31:219-239). To date, it is not clearly known why only motor neurons are the main target for neurodegeneration in MNDs. With a view to uncover a new diagnostic or therapeutic applications for motor neuron disorders, the key question to investigate in this study is, whether HAP1 can protect the motor neurons from neurodegeneration *in vivo*.

## 2 . 研究の目的

The purpose of this study is to clarify the *in vivo* protective effects of HAP1 against motor neuron degeneration. To achieve the goal, we set out to examine the spatio-temporal expression of HAP1 in the motor neurons of spinal cord, in brain stem as well as in motor neuron-associated muscles of facial expression and thigh region. Another purpose was to investigate the differences in motor function behavior test battery between wild-type mice and motor-neuron-specific HAP1- transgenic (TG) mice that we genetically engineered using Cre-LoxP technology in our laboratory.

## 3 . 研究の方法

We have examined wild-type and genetically-modified mice in our present study. We have employed Polymerase chain reaction, Western blotting, immunohistochemistry, rodent behavior technique and neuroanatomical analyses methods. We have also used light-, fluorescence- and electron microscopy.

## 4 . 研究成果

Since I used transgenic and HAP1-Knockout mice in the present study, I examined the HAP1 expression in mouse spinal cord and brain stem and their associated muscles. It was found that there were no species differences in the expression of HAP1 in rodents. To clarify the ontogeny of HAP1-immunoreaction in the motor neurons, I examined the complete profile of the HAP1-expression in the mouse spinal cord and brain stem of embryonic and neonatal stages. Our results confirmed that HAP1-expression is present in the sensory and autonomic neurons but absent in motor neurons and their associated muscles of rodent spinal cord, brain stem and their associated muscles, suggesting that the spinal/brain stem motoneurons and their associated muscles are, due to lack of

putative HAP1 protectivity, more vulnerable to neurodegeneration.

In addition to spinal cord and brain stem, we have also examined the HAP1 expression in a cognitively important brain region, the retrosplenial-retrohippocampal area of brain in light of the relationship between neurodegenerative diseases. Here, HAP1-immunoreactive (ir) cells were classified into five groups: (1) a distinct retrosplenial cell cluster exclusive to the superficial layers of the granular cortex, (2) a thin line of cells in layers IV/V of the "subiculum-backing cortex," (3) cells associated with the medial entorhinal-subicular corner, (4) pericallosal cells, and (5) sporadic, widely-disseminated HAP1-immunoreactive cells. HAP1 may play an important role in protecting these cortical structures and functions for higher nervous activity by increasing the threshold to neurodegeneration and decreasing vulnerability to stress or aging.

Finally, to examine the protective functions of HAP1 from against neurodegeneration in vivo, we have generated motor neuron specific HAP1-transgenic (TG) mice. A motor function-related behavioral test battery comparison between aged-wild type and aged-HAP1-TG mice, which includes locomotor activity test, hang test, paw print analysis, rotarod and grip strength test, is under process.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Greggory Wroblewski, Md. Nabiul Islam, Akie Yanai, Mir Rubayet Jahan, Koh-hei Masumoto, Koh Shinoda	4. 巻 394
2. 論文標題 Distribution of HAP1-immunoreactive Cells in the Retrosplenial-retrohippocampal Area of Adult Rat Brain and Its Application to a Refined Neuroanatomical Understanding of the Region	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 109 ~ 126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2018.10.029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mir Rubayet Jahan, Md. Nabiul Islam, Md. Zahirul Islam Khan, Akie Yanai, Koh Shinoda	4. 巻 1
2. 論文標題 Morphometry and expression of immunoglobulins-containing plasma cells in the Harderian gland of Birds	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Adv Biotechnol Exp Ther	6. 最初と最後の頁 55-60
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5455/jabet.2018.d10	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Mohammad Rafiqul Islam, Md. Anwar Jahid, Md Zahirul Islam Khan and Md. Nabiul Islam	4. 巻 2
2. 論文標題 Prophylactic effects of vitamin E and coriander (Coriandrum sativum) extract on lead-induced testicular damage in Swiss albino mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Adv Biotechnol Exp Ther	6. 最初と最後の頁 31-35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5455/jabet.2018.d22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Md. Nabiul Islam, Yukio Takeshita, Mir Rubayet Jahan, Akie Yanai, Koh-hei Masumoto, and Koh Shinoda	4. 巻 33(1)
2. 論文標題 Distribution of HAP1-immunoreactive cells in the spinal cord is suggestive of its protective roles against neurodegeneration in vivo	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 1b1-872.4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Abul Khair, Md Abdul Awal, Md Zahirul Islam Khan, Md Rafiqul Islam, Mir Rubayet Jahan, Md Nabiul Islam	4. 巻 2 (3)
2. 論文標題 Comparable preventive effects of laboratory-grown spirulina and market spirulina against arsenic-induced alterations in the liver of adult rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Adv Biotechnol Exp Ther	6. 最初と最後の頁 146-152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.5455/jabet.2019.d38">https://doi.org/10.5455/jabet.2019.d38</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Md Nabiul Islam, Yuya Sakimoto, Mir Rubayet Jahan, Mako Ishida, Abu Md Mamun Tarif, Kanako Nozaki, Koh-hei Masumoto, Akie Yanai, Dai Mitsushima, Koh Shinoda	4. 巻 In press
2. 論文標題 Androgen Affects the Dynamics of Intrinsic Plasticity of Pyramidal Neurons in the CA1 Hippocampal Subfield in Adolescent Male Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2020.05.025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Md. Nabiul Islam, Gregory Wroblewski, Mir Rubayet Jahan, Naoya Kamimura, Emi Miyasato, Shogo Togawa, Ayako Nakai, Akie Yanai, Koh-hei Masumoto, Abu Md Mamun Tarif, Koh Shinoda.
2. 発表標題 Novel utility of HAP1-immunoreactivity in areal and laminar demarcation of the retrosplenial-retrohippocampal area in adult rat brain.
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 篠田晃、藤永竜太郎、Md. Nabiul Islam、升本宏平、宮本隼伍、柳井章江
2. 発表標題 STB/HAP1 のユビキチン - プロテアソ - ム系阻害型細胞死に対する特異的神経細胞保護効果.
3. 学会等名 日本解剖学会第73回中国・四国支部学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Md. Nabiul Islam, Yua Sakimoto, Naoya Kamimura, Ayako Nakai, Koh-hei Masumoto, Akie Yanai, Dai Mitsushima and Koh Shinoda
2. 発表標題 Effects of testosterone on androgen receptor expression and the dynamics of intrinsic plasticity in CA1 pyramidal neurons of male rat.
3. 学会等名 日本解剖学会第73回中国・四国支部学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柳井章江, 藤永竜太郎, Md. Nabiul Islam, 升本宏平, 篠田晃
2. 発表標題 正常細胞に存在するSTB/HAP1による中心体周囲物質PCM1の局在変化
3. 学会等名 第19回ORIGIN 神経科学研究会 夏のワークショップ2018 in 淡路
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 篠田 晃, 藤永竜太郎, Md. Nabiul Islam, 米澤恒成, 升本宏平, 柳井章江
2. 発表標題 STB/HAP1の神経細胞保護について
3. 学会等名 第19回ORIGIN 神経科学研究会 夏のワークショップ2018 in 淡路
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柳井章江, 藤永竜太郎, Md. Nabiul Islam, 篠田晃
2. 発表標題 培養細胞およびマウス脳内におけるHap1によるPCM1およびhuntingtinの形態解析
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第74回学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Abu Md Mamun Tarif, Md Nabiul Islam, Emi Miyasato, Takumi Nakashima, Kanako Nozaki, Akie Yanai, Koh-hei Masumoto and Koh Shinoda
2. 発表標題 Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is a novel immunohistochemical marker for myenteric neurons in the mouse.
3. 学会等名 日本解剖学会 第 74 回中国・四国支部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前田 直樹、Islam Md Nabiul、Jahan Mir Rubayet、野崎 香菜子、升本 宏平、柳井 章江、篠田 晃
2. 発表標題 Expression of Huntingtin-associated protein 1 in the mouse dorsal root ganglia and its neurochemical characterization.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 升本 宏平、米澤 恒成、Islam Md Nabiul、柳井 章江、野崎 香菜子、篠田 晃
2. 発表標題 Home cellsの胎生期脳内移動とHAP1-KOマウスにおけるGnRH陽性細胞の脳内移動
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳井 章江、Islam Md Nabiul、Jahan Mir Rubayet、野崎 香菜子、升本 宏平、篠田 晃
2. 発表標題 HAP1A及び1Bが中心体関連物質PCM1に与える影響。
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野崎 香菜子、藤永 竜太郎、中島 拓海、Islam Md Nabiul、升本 宏平、篠田 晃
2. 発表標題 ハンチントン病関連遺伝子HAP1の細胞死抑制機構についての検討。
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tarif Abu MD Mamun, Islam Md Nabiul, Jahan Mir Rubayet, Nozaki Kanako, Masumoto Koh-hei, Yanai Akie, Shinoda Koh
2. 発表標題 Expression and immunohistochemical characterization of HAP1-immunoreactive cells in the enteric nervous system of adult mouse.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jahan Mir Rubayet, Islam Md Nabiul, Tarif Abu MD Mamun, Nozaki Kanako, Masumoto Koh-hei, Yanai Akie, Shinoda Koh
2. 発表標題 . Distribution of androgen receptor and estrogen receptor alpha in the mouse preoptico-hypothalamic area with special emphasis on SDN, SCN and TDN.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Islam Md Nabiul , Sakimoto Yuya , Jahan Mir Rubayet , Tarif Abu Md Mamun , Nozaki Kanako , Masumoto Koh-hei , Yanai Akie , Mitsushima Dai , Shinoda Koh.
2. 発表標題 Effects of androgen and anti-androgen on the intrinsic plasticity of CA1 pyramidal neurons of male rat.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 宮里 衣望、Islam Md Nabiul、野崎 香菜子、Jahan Mir Rubayet、升本 宏平、篠田 晃
2. 発表標題 マウス交連前海馬の組織化学的細胞構築。
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飯田 真帆、升本 宏平、Islam Md Nabiul、野崎 香菜子、柳井 章江、篠田 晃
2. 発表標題 マウス胎生-新生仔期におけるHOME cellと一次嗅覚系Calbindin陽性細胞との関係。
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中島 拓海、野崎 香菜子、藤永 竜太郎、Islam Md Nabiul、升本 宏平、柳井 章江、篠田 晃
2. 発表標題 プロテアソーム活性阻害によるマウス脳内HAP1陽性構造の変化。
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----