

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K19669

研究課題名(和文) 脂肪酸組成制御による神経新生の分子基盤解明と健康な脳の発達・維持への応用

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular basis of neurogenesis by regulation of fatty acid composition

研究代表者

大野 博(OHNO, Hiroshi)

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：20847909

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、中枢神経特異的Elovl6欠損(BKO)マウスで認められる神経新生の低下メカニズムを分子レベルで明らかにすることを目的とした。神経幹細胞を対象に脂質メタボローム解析をおこなったところ、BKO由来の神経幹細胞では、細胞膜におけるナノドメインの構成に重要な脂質が大きく変動しており、特定の脂質分子種の阻害剤により自己複製能が回復した。またナノドメインの分画を評価したところ、BKO由来の神経幹細胞ではナノドメインの分画が変化しており、脂質分子種の阻害剤により分画が正常化した。したがって、Elovl6は細胞膜のナノドメインの構成を制御することでシグナル伝達の再構成を担う可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知機能の低下は現代社会における大きな問題の1つである。本研究において神経新生の制御メカニズムを分子レベルで明らかにすることは、認知機能の低下に対する脂質の質の重要性を明らかにしたという点で意義がある。さらに、脂肪酸組成の制御による認知機能維持機構の解明は、これまで特定の神経やその受容体を標的とした精神・神経疾患の治療とは大きく異なり、より広範で副作用の少ない新規治療法の開発に貢献できる可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to elucidate the molecular mechanisms underlying the impaired neurogenesis found in CNS-specific Elovl6-deficient (BK0) mice. Lipid metabolomics analysis of neural stem cells revealed that BK0-derived neural stem cells contain significant differences in lipids, which are important for the composition of nanodomains in the plasma membrane, and that inhibitors of specific lipid molecules restored their self-renewal capacity. In addition, when the fractionation of nanodomains was assessed, the fractionation of nanodomains was altered in BK0-derived neural stem cells and was restored to normal by inhibitors of lipid species. Thus, the results suggest that Elovl6 may be responsible for signal transduction reconstitution by regulating the organization of plasma membrane nanodomains.

研究分野：脂質代謝

キーワード：脂肪酸 スフィンゴ脂質 神経幹細胞

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の脳では、生涯にわたって神経新生が起こることが知られており、記憶・学習や情動行動、脳損傷後の修復・再生などに非常に重要である。神経新生は加齢やストレスにより減少し、神経新生の低下は、うつ病やアルツハイマー型認知症などの精神・神経疾患に深く関与することが知られている。脳は脂質を豊富に含む組織であり、乾燥重量の約6割を占めている。脂質の主要成分である脂肪酸は、生体膜の構成成分、エネルギー源、脂質メディエーターの前駆体としての機能を持ち、あらゆる生命現象に関与する。リン脂質、リソリン脂質、スフィンゴ脂質等の脂肪酸分子種が脳機能に重要であること、必須脂肪酸である PUFA が神経新生や脳機能に重要性であることなどは報告されており、脂肪酸は脳機能に関しても深く関与している。しかしながら、非必須脂肪酸である飽和・一価不飽和脂肪酸に関する研究は、極長鎖飽和脂肪酸の蓄積により神経変性が生じる副腎白質ジストロフィーやニーマンピック病 C 型などに限られており、非必須脂肪酸の脳における役割は不明な点が多い。Elovl6 は炭素数 (C) 12-16 の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とし、C18 の長鎖脂肪酸を合成するリポジェニック酵素である。Elovl6 は脂質を豊富に含む組織で高発現しており、脳においても高い発現が認められる。研究代表者はこれまでに Elovl6 の欠損により、空間学習・恐怖記憶の障害や神経新生の低下を呈することを明らかにしている。近年、一価不飽和脂肪酸の蓄積がアルツハイマー病モデルマウスで認められるという報告があり、神経新生における非必須脂肪酸の役割を明らかにすることは、健康な脳の発達、老化に伴う脳機能低下の予防、精神・神経疾患の予防・治療に非常に重要であり、Elovl6 による非必須脂肪酸の組成制御は新規予防法・治療法の開発に貢献できると考えられる。

2. 研究の目的

脳の発達・機能に重要である神経新生に焦点を当て、Elovl6 による神経新生の制御メカニズムを分子レベルで解明することを目的とした。

3. 研究の方法

Elovl6 flox マウスと Nestin-Cre マウスの交配により中枢神経特異的 Elovl6 欠損マウスを作製し、解析をおこなった。

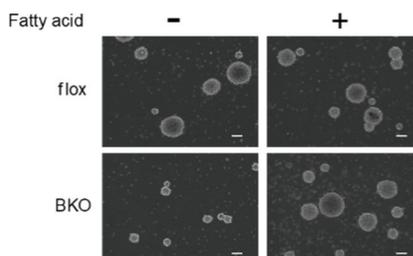
胎生 14.5 日の胎仔前脳より神経幹/前駆細胞(NSPC)を対象とし、トランスクリプトーム解析やリピドミクス解析をおこない、Elovl6 の欠損により強く変動が認められるような遺伝子群や脂質分子種を抽出した。

トランスクリプトームや脂質メタボローム解析から抽出した因子に対して薬理的・遺伝子工学的介入により、Elovl6 欠損により認められる自己複製能の低下のような表現型の回復が認められるかどうかを検討した。

4. 研究成果

胎生 14.5 日より調製した胎仔前脳由来の神経幹細胞/前駆細胞(NSPC)を培養した結果、BKO 由来の NSPC では、自己複製能が低下し、特定の脂質を補充することにより、自己複製能の回復が認められた。また、NSPC をサンプルとしてトランスクリプトーム解析をおこなったところ、自己複製能に重要な因子の遺伝子発現が BKO 由来の NSPC で有意に低下することを明らかにし、それらの遺伝子は特定の脂質の補充で回復した。また、脂質メタボローム解析をおこなったところ、Elovl6 の欠損は、特に細胞膜のマイクロドメインの構成に重要な脂質分子種が特に大きく変動していることを明らかにした。特定の脂肪酸分子種の合成酵素を inhibitor による阻害や、レンチウイルスによるノックダウンをすることで、BKO 由来の NSPC の自己複製能の低下が回復した。以上の結果より、Elovl6 の欠損は、特定の脂肪酸分子種の組成を制御することで、神経幹細胞の自己複製能を制御している可能性が示唆された。また、トランスクリプトーム解析から抽出した遺伝子は、細胞膜のマイクロドメインに局在していることが既に報告されている。そこで、ショ糖密度勾配遠心法を用いてマイクロドメインの画分の評価をおこなった。その結果、Elovl6 欠損由来の NSPC はマイクロドメインの画分がコントロールと異なる位置に検出されることが明らかとなり、Elovl6 の欠損は細胞膜マイクロドメインの構成に影響をおよぼすことが示唆された。この画分の変化は特定の脂肪酸や、脂質分子種の合成酵素の阻害剤を添加することでコントロールと同程度まで回復した。また、NSPC の多能性に関する評価をおこなった。Elovl6 欠損由来の NSPC はニューロンの割合はコントロールと有意な差は認められなかったが、突起伸長の亢進が認められた。さらに、アストロサイトへの分化が亢進していることが明らかとなった。したがって、Elovl6 は細胞膜マイクロドメインの構成を制御するこ

**特定の脂肪酸補充による
BKO由来NSPCの自己複製能の回復**



とで、NSPCの自己複製能と分化能を制御している可能性が示唆された。今後、マイクロドメインの変化がどのように自己複製能や分化能を制御しているのかを、オルガネラレベルでの解析を通して分子レベルで明らかにしたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakagawa Yoshimi, Wang Yunong, Han Song-iee, Okuda Kanako, Oishi Asayo, Yagishita Yuka, Kumagai Kae, Ohno Hiroshi, Osaki Yoshinori, Mizunoe Yuhei, Araki Masaya, Murayama Yuki, Iwasaki Hitoshi, Konishi Morichika, Itoh Nobuyuki, Matsuzaka Takashi, Sone Hirohito, Yamada Nobuhiro, Shimano Hitoshi | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Enterohepatic Transcription Factor CREB3L3 Protects Atherosclerosis via SREBP Competitive Inhibition | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology | 6. 最初と最後の頁 949 ~ 971 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2020.11.004 | 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 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Nakagawa Yoshimi, Kumagai Kae, Han Song iee, Mizunoe Yuhei, Araki Masaya, Mizuno Seiya, Ohno Hiroshi, Matsuo Kazuya, Yamada Yasunari, Kim Jun dal, Miyamoto Takafumi, Sekiya Motohiro, Konishi Morichika, Itoh Nobuyuki, Matsuzaka Takashi, Takahashi Satoru, Sone Hirohito, Shimano Hitoshi | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 Starvation induced transcription factor CREBH negatively governs body growth by controlling GH signaling | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The FASEB Journal | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202002784rr | 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 Okajima Y, Matsuzaka T, Miyazaki S, Motomura Ki, Ohno H, Sharma R, Shimura T, Istiqamah N, Han SI, Mizunoe Y, Osaki Y, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Sone H, Miyamoto T, Aita Y, Takeuchi Y, Sekiya M, Yahagi N, Nakagawa Y, Tomita T, Shimano H | 4. 巻 1868 |
| 2. 論文標題 Morphological and functional adaptation of pancreatic islet blood vessels to insulin resistance is impaired in diabetic db/db mice | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease | 6. 最初と最後の頁 166339 ~ 166339 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbadis.2022.166339 | 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 - |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 大野博、松坂賢、本村香織、志村拓哉、水之江雄平、宮本崇史、関谷元博、中川嘉、林昭夫、島野仁 |
| 2. 発表標題 脂肪酸伸長酵素 Elovl6による 神経幹細胞の自己複製能制御機構解明 |
| 3. 学会等名 第94回日本生化学大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| 筑波大学 内分泌代謝・糖尿病内科 https://www.u-tsuba-endocrinology.jp/ 筑波大学 脂質生物学/代謝学/内分泌学 https://sites.google.com/view/matsuzakalab-tsuba/home |
|---|

| 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 |
|---------|---------------------------|-----------------------|----|
|---------|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|