

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02152

研究課題名(和文) 神経細胞の生存を支えるレトログレードシグナルの解明に関する細胞工学研究

研究課題名(英文) Research on retrograde signalling for neuronal survival

研究代表者

久恒 辰博 (Hisatsune, Tatsuhiro)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：10238298

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病などの認知症において、最終的には神経細胞死が誘導されることで、脳組織が萎縮して認知機能が破綻する。神経細胞死の誘導を食い止めるシグナル系を、特定することが出来れば、脳の萎縮が緩和され、症状の進行を抑制することが出来る。本研究では、神経伝達機能を阻害できる特殊なマウスを用いてアルツハイマー病における神経細胞死を再現することができるモデルマウス系を構築することが出来た。そして、遺伝子発現解析を実施して、オートファジー不全を介して神経細胞死に関わる複数の遺伝子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国において超高齢化社会が進行し、認知症患者が増加し続けている。アルツハイマー病などの認知症において、認知機能が破綻することで社会生活が営めなくなることが家族や社会にとっての大きな負担となっている。認知症では、最終的には神経細胞死が誘導されることで認知機能の破綻が生じる。本研究では、神経細胞死の誘導を食い止めるシグナル系を明らかにすることにより、認知症の症状進行を食い止める新しい治療法の開発に結び付ける。本研究では、神経細胞の機能を阻害する特殊なマウスを用いて、アルツハイマー病における神経細胞死誘導に関する新しい知見を得ることが出来た。

研究成果の概要(英文)：In Alzheimer's disease, cell death of neurons is final step leading to atrophy of brain tissue and cognitive dysfunction. Identification of a signaling pathway to stop the induction of neuronal death would alleviate brain atrophy and inhibit the progression of symptoms. In this study, we developed a mouse model system that can reproduce the neuronal death in Alzheimer's disease, using special mice that can inhibit neurotransmission function of particular neuronal cell type. By RNA-seq gene expression analysis, we identified several genes involved in neuronal cell death related to autophagy failure.

研究分野：老化生命科学

キーワード：神経細胞死

1．研究開始当初の背景

アルツハイマー病などの認知症において、最終的には神経細胞死が誘導されることで、認知機能が破綻する。細胞死の誘導を食い止めることができるシグナル系を、もし特定することが出来れば、神経変性が緩和でき、症状の進行を抑制することが出来ると考えられる。我々は、神経細胞の神経伝達機能を特異的に阻害することができる遺伝子組み換えマウスを用いて、神経細胞死に関する研究を行う中で、神経の伝達方向に対して逆行する(神経終末から細胞体の方へと向かう)生存シグナルの存在を認めていた。本研究では、この一連のシグナルをレトログレード生存シグナルとして定義し、その正体を明らかにする研究を行った。この推定上の逆行性シグナルがどのような方法により神経細胞の末端から細胞体の中心部位へと伝達され、どのようなメカニズムを介して細胞死を防いでいるのかについて、各種の実験方法を用いて明らかにすることを試みた。

2．研究の目的

神経細胞の細胞死は、どのようなレトログレード生存シグナルによって抑制することができるのか。本研究では、神経細胞における細胞死の誘導を、最終段階で食い止めることができる、このレトログレード生存シグナルの正体を明らかにすることを目指した。本研究の最終目標は神経細胞の生存を支えるレトログレードシグナルの正体を明らかにすることであるが、研究手段として新生ニューロンの神経伝達機能を阻害できる遺伝子組み換えマウスを用いて、アルツハイマー病モデルマウスとの交配実験を実施した。

3．研究の方法

複数のアルツハイマー病モデルマウスを用いて、神経細胞死を再現するマウスモデルの構築を行った。その際、神経伝達機能を阻害することにより、神経軸索末端から細胞体へと至る逆行性のシグナルを阻害することにより神経細胞の生存に影響があるかどうかを調査した。これらのモデルマウスの実験と、遺伝子発現解析の手法・オートファジー制御の観点・遺伝子発現を制御するウイルスベクター実験を組み合わせることにより、本研究で定義した推定上のレトログレード生存シグナルの正体を明らかにする研究を実施した。

アルツハイマー病などで神経細胞が死滅する場合、これまでは過度な神経興奮によって神経細胞死が誘導されているのではないかと考えられてきたが、本研究においては、「うまく神経信号を出力できていないためにレトログレードシグナルが正常に機能できず、神経細胞死が誘導されている」とする研究仮説に基づいた研究を実施した。本研究の成果は、ニューロンの細胞死を防ぐ仕組みの解明につながると期待される。

4．研究成果

レトログレード生存シグナルに関するアルツハイマー病モデルマウス研究

アルツハイマー病モデルマウスを用いて神経細胞死に関する研究を実施した。モデルマウスとして、アルツハイマー病の原因遺伝子を発現する2種類のモデルマウス(App/Psen 導入マウスと tau-変異マウス)を用いて、記憶を司る海馬に存在する特殊なニューロンである新生ニュー

ーロン (New Born Neuron: NBN) の生存と細胞死に関する研究を行った。ニューロンの神経伝達機能を阻害してレトログレードシグナルを遮るために特定のニューロンに特異的にシナプス放出を阻害することができる組み換えマウスを用いた。神経細胞死の有無を評価するために細胞数を計測する実験を行った。表に示すような結果となった。

表： 複数のアルツハイマー病モデルマウスにおける神経細胞死の状況

導入した 遺伝子変異	新生ニューロン (正常)	細胞死 無 / 有	新生ニューロン (神経伝達阻害)	細胞死 無 / 有
変異の導入無し	Control マウス	無	NBN マウス	無
App/Psen 変異	App/Psen マウス	無	NBN-App/Psen	有
Tau-変異	Tau-変異 マウス	有 ^(*)	NBN-Tau-変異マウス	有
App/Psen-tau 2重変異	App/Psen-tau 2重 変異導入マウス	有	NBN-App/Psen Tau-変異マウス	有

脚注： (*) 新生ニューロン以外では、神経細胞死が生じている可能性がある。

アルツハイマー病モデルマウスにおける遺伝子発現解析

本研究では、特異抗体を付加した磁気ビーズを用いて新生ニューロンを回収する方法を用いて上記のマウスのNBNにおける遺伝子発現に関する解析を実施した。その結果、神経細胞死並びにオートファジー不全に関連する複数のシグナル系分子の発現誘導を確認することができた。

アルツハイマー病モデルマウスにおけるオートファジー研究

アルツハイマー病患者では顕著なニューロン細胞死がおこり、そして海馬が委縮していくことが知られている。この過程におけるオートファジー不全の可能性を探るために、マーカー分子を用いた実験などを実施した。そして、この過程に神経炎症が寄与していることを突き止めることが出来た。

アルツハイマー病モデルマウスにおけるウイルスベクター研究

アルツハイマー病モデルマウスを用いて、神経炎症に関わるレセプター分子の発現を抑制するウイルスベクターの用いた実験を実施した。レセプター分子の発現を抑制することにより、神経炎症が緩和され、モデルマウスにおける認知機能低下が抑制されることが分かった。

まとめと考察

アルツハイマー病において、最終的には神経細胞死が誘導され認知機能が破綻する。もし、神経細胞死が認知機能の破綻にとっての直接の原因であるとするならば、この最終段階の神経細胞死に標的を絞った治療法開発の可能性はある。しかしこの最終標的に絞った薬物開発などの前例はない。本研究で、神経機能を阻害できる特殊なマウスを用いてアルツハイマー病における神経細胞死を再現することができるモデルマウス系を構築することが出来た。今後、このモデルマウス系を用いて神経細胞死の誘導を食い止めるシグナル系を特定し、神経細胞死を防ぎ、認知機能の破綻を回避する新しい治療法の開発に道を開いていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hisatsune Tatsuhiko	4. 巻 2
2. 論文標題 Critical Roles of Glial Neuroinflammation in Age-Related Memory Decline	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Aging Mechanisms II: Longevity, Metabolism, and Brain Aging	6. 最初と最後の頁 279 ~ 288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-16-7977-3_17	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 Luo Shan, Tamada Ami, Saikawa Yuichi, Wang Yifei, Yu Qing, Hisatsune Tatsuhiko	4. 巻 15
2. 論文標題 P2Y1R silencing in Astrocytes Protected Neuroinflammation and Cognitive Decline in a Mouse Model of Alzheimer's Disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Aging and Disease	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) 10.14336/ad.2023.1006	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 Li Haowei, Tamura Risako, Hayashi Daiki, Asai Hiroataka, Koga Junya, Ando Shota, Yokota Sayumi, Kaneko Jun, Sakurai Keisuke, Sumiyoshi Akira, Yamamoto Tadashi, Hikishima Keigo, Tanaka Kazumasa Z., McHugh Thomas J., Hisatsune Tatsuhiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Silencing dentate newborn neurons alters excitatory/inhibitory balance and impairs behavioral inhibition and flexibility	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Science Advances	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) 10.1126/sciadv.adk4741	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 Luo Shan, Wang Yifei, Hisatsune Tatsuhiko	4. 巻 20
2. 論文標題 P2Y1 receptor in Alzheimer's disease	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Neural Regeneration Research	6. 最初と最後の頁 440 ~ 453
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/NRR.NRR-D-23-02103	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5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Haowei Li, 古賀 淳也, 安藤 翔太, 浅井 裕貴, 新谷 哲平, 城村 直寛, 金子 順, 横田 紗弓, 峯 秀人, Qiong Ding, 住吉 晃, 山本 雅, 疋島 圭吾, 田中 和正, Thomas J. McHugh, 久恒 辰博
2. 発表標題 Transgenic blockade of neurotransmitter release in hippocampal newborn neurons leads to impaired cognitive flexibility
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 大貴, 峯 秀人, 古賀 淳也, Haowei Li, 久恒 辰博
2. 発表標題 Mechanism of reduction in the number of newborn neurons in NBN-TetX mice
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田村 理佐子, 林 大貴, 雷 晨旭, Haowei Li, 久恒 辰博
2. 発表標題 Stage-specific reduction of hippocampal neurogenesis in APPswe/PS1deltaE9 Alzheimer 's Disease model mice
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 雷 晨旭, 久恒 辰博
2. 発表標題 The effects of anserine treatment on tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久恒 辰博
2. 発表標題 イミダゾールジペプチドによる健康寿命延伸の可能性
3. 学会等名 日本栄養食糧学会（招待講演）
4. 発表年 2022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
研究分担者	鈴木 邦律 (Suzuki Kuninori) (20373194)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授 (12601)	
研究分担者	関 真秀 (Seki Masahide) (90749326)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・特任准教授 (12601)	

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
---------	---------