

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 14 日現在

機関番号：83903

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22603017

研究課題名（和文）ケミカルジェネティクスを用いた加齢性感覚器障害の発症メカニズム解析

研究課題名（英文）Analysis of age-related sensory organ defects using Chemical Biology

研究代表者

津田玲生（TSUDA LEO）

国立長寿医療研究センター・創薬モデル動物開発研究 PT・プロジェクトリーダー

研究者番号：30333355

研究成果の概要（和文）：感覚細胞は音や光等の外部からの刺激を絶えず受けているが、個体の一生を通して安定して維持されている。このシステムの破綻によって難聴や視覚障害等のさまざまな疾患が引き起こされると考えられているが、詳しいメカニズムは明らかになっていない。我々は、ショウジョウバエで加齢性難聴のモデルを確立することに成功し、感覚細胞がアポトーシスから逃れるため、アポトーシス関連遺伝子の発現を抑制していることを明らかにした。このシステムは簡便かつ定量的な解析が可能であることから、新たな薬剤スクリーニング系としての検討を行なった。

研究成果の概要（英文）：The survival of sensory neurons is essential for the long-term maintenance of sensory function, and defects in sensory cells survival lead to the onset of age-related sensory defects such as hearing loss or retinitis pigmentosa. In this study we have shown that there seems to be a mechanism, which represses the expression of apoptotic genes, under stress signalling of *Drosophila* sensory organs. We expect that the mechanism for maintaining photoreceptor cells will lead to the comprehensive understanding of sensory defects, such as age-related hearing disorders.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：ケミカルバイオロジー

キーワード：難聴、ショウジョウバエ、感覚器、ケミカルバイオロジー、ストレス応答、転写抑制、加齢

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会に移行しつつある我が国においては、高齢者の疾患に対する対策が求められている。感覚細胞は個体の生涯を通して

安定して維持されるが、老人性難聴や加齢性黄斑変性等のような感覚細胞の変性を伴う疾患が多く知られている。この中で OASD (Ocular albinism with late-onset

sensorineural deafness)は40歳代になり突然聴覚が低下する疾患として知られている。OASDの原因因子としては、さまざまな転写因子と複合体を形成して転写リプレッサーとして働く TBL1 が知られているが、TBL1がどのように感覚細胞の生存維持に働いているのかは全く解っていない。

2. 研究の目的

本研究では、TBL1のショウジョウバエホモログである *ebi* に注目して、感覚細胞の生存維持に於ける機能を明らかにすることにより、OASD疾患の発症メカニズムを理解したい。さらに、確立したシステムは加齢性感覚器障害を研究するモデルとして期待されることから、この系を用いて感覚器障害に対する新たな治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

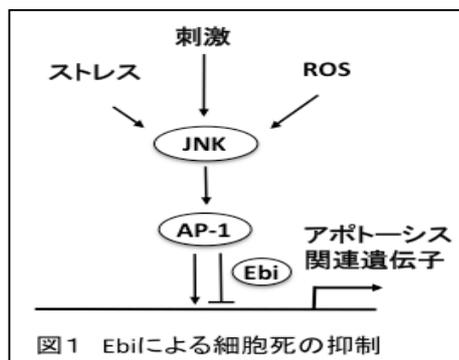
Ebi の機能を欠損した複眼光受容細胞の生存維持を経時的に観察する。また、遺伝学的あるいは生化学的な解析を行なうことにより感覚細胞の生存維持に関与する因子を検討する。これらのシステムを確立することにより、発症抑制薬の検討を行なう。さらに、マウスによる OASD 解析モデルを確立することにより哺乳動物まで作用効果のある薬剤の迅速な同定法を確立する。

4. 研究成果

加齢性感覚器障害の発症には長い時間がかかることから、本研究では短時間で加齢性感覚器障害を観察できるショウジョウバエとマウス解析系を確立した。これらのモデルは加齢性感覚器障害を短時間で経時的かつ定量的に解析できることから、化合物を用いたケミカルジェネティクスによる研究アプローチで発症メカニズム解明を試みた。

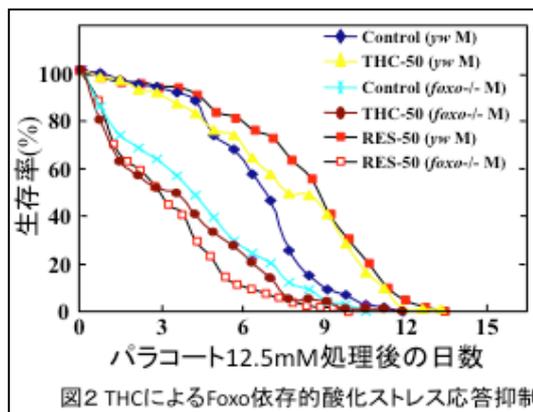
解析の結果、ショウジョウバエ光受容細胞ではストレス応答を抑制するメカニズムの存在を明らかにすることに成功した (Lim et al.

PLOS ONE, 7: e37028, 2012)。このとき、感覚細胞で働く転写コリプレッサーである *Ebi*



と、ストレス応答の下流で機能するAP-1転写因子が共役してアポトーシス関連遺伝子発現を抑制していることを見いだしている (図1)。

これに先行する研究で、ショウジョウバエに対する寿命延長効果を示す天然物をスクリーニングした結果、ポリフェノールの一種であるテトラヒドロクルクミン(THC)を見いだした。THCはショウジョウバエに対してFoxo依存的に酸化ストレス応答の抑制および寿命延長効果を示すことから特異的な経路で機能している可能性が示唆された (Xiang et al. Aging, 3: 1098-1109, 2011) (図2)。



*Ebi*は酸化ストレス応答の下流で機能している可能性が予想されたことから、THCをショウジョウバエ感覚器障害のモデルに適用して解析したところ、THCにより感覚器の変性が抑制されることが観察された (投稿準備中)。このように、ショウジョウバエの解析系は加

齡性感覚器に対する薬剤効果を検定する系としても優れていることが示されている。

以上の結果から、Ebiは感覚器をアポトーシスによる変性から守る役割を持ち、THCは酸化ストレス応答を抑制することによりEbiの変異における感覚器障害を抑制している可能性が予想された。そこで、THCの作用を哺乳動物であるマウスの内耳有毛細胞で検討するため、ショウジョウバエにおける結果を参考にして、マウスOASDモデルの作成を行なった。TBL1の機能を内耳有毛細胞特異的に阻害した結果、騒音曝露後に聴力が著しく低下する騒音性難聴の表現型が観察された(未発表)。騒音性難聴は加齢性難聴のモデルとして考えられていることから、本研究システムは加齢性感覚器障害をショウジョウバエとマウスで解析する有効な解析手段になることが予想される。今後はTHCの作用をこのシステムで検討していきたい。

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3件)

- ① 林 永美, 林 茂生, 津田玲生 Ebi/AP-1 suppresses pro-apoptotic gene expression and permits long-term survival of *Drosophila* sensory neurons. ***PLOS ONE* 7: e37028 (2012).**
- ② Xiang, L., 中村由貴子, 林 永美, 山崎泰豊, 能瀬-黒川 由美子, 丸山 和佳子, 大澤 俊彦, 松浦 彰, 津田玲生 Tetrahydrocurcumin extends life span and inhibits the oxidative stress response by regulating the FOXO forkhead transcription factor. ***Aging* 3: 1098-1109 (2011).**
- ③ 山崎泰豊, 林 永美, 林 茂生, 津田玲生 Robust specification of sensory neurons

by dual functions of *Charlatan*, a *Drosophila* NRSF/REST-like repressor of *extramacrochaetae* and *hairy*. ***Genes to Cell* 16, 896-909 (2011).**

[学会発表] (計6件)

- ① Lim YM, Omata Y, Yamasaki Y, Tsuda L. Molecular study of age-related hearing disorders. 54th *Drosophila* Research Conference, April 2013, Washington DC, USA
- ② Tsuda L., Omata Y., Yamasaki Y., Lim YM. Chemical Genetic approach to evaluate the toxicity of Amyloid-beta using *Drosophila*. 11th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases (AD/PD 2013). March 2013, Florence, Italy
- ③ Lim, YM, Yamasaki, Y., Tsuda L., Post-translational modification of *Charlatan*, a *Drosophila* NRSF/REST-like repressor, is required for neuron specific genes expression. British Society for Developmental Biology, British Society for Cell Biology and Japanese Society of Developmental Biologists Joint meeting, Birmingham, UK, 2012
- ④ Tsuda L., Yamasaki, Y., Lim, YM. Molecular study of age-related sensorineural hearing loss using *Drosophila*. Exciting Biology Series" Cellular Development: Biology at the interface" sponsored by Developmental Cell, Kobe, Japan, 2011
- ⑤ Lim Y., Tsuda, L. Molecular study of age-related sensorineural hearing loss using *Drosophila*. 52th *Drosophila* Research Conference, San Diego, 2011

⑥ Tsuda, L., Lim Y. Molecular study of age-related sensorineural hearing loss using *Drosophila*. CSH symposium Molecular Genetics of Aging, CSH, NY, 2010.

〔図書〕（計1件）

津田玲生、林 永美、「G1 期抑制因子による感覚細胞の長期生存維持メカニズム解析」、ヒトと医学のステージへ拡大する細胞周期、実験医学（増刊）31, 235-243, 羊土社（2013）.

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：トランスジェニック非ヒト動物の確立
および認知症の治療薬スクリーニング法確立

発明者：津田玲生、林 永美

権利者：ヒューマンサイエンス振興財団

種類：特許願

番号：特願 2011-85642

出願年月日：2011 年 4 月 7 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

URL:

<http://www.ncgg.go.jp/camd/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

津田 玲生 (TSUDA LEO)

国立長寿医療研究センター・創薬モデル動物開発研究 PT・プロジェクトリーダー

研究者番号：3 0 3 3 3 3 5 5

(2) 研究分担者

林 永美 (LIM YOUNG-MI)

国立長寿医療研究センター・創薬モデル動物開発研究 PT・研究員

研究者番号：6 0 4 2 1 8 9 8

(3) 連携研究者

なし。