

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24年 5月12日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790268

研究課題名（和文） 含セレン蛋白質合成破綻による神経変性疾患モデルマウスの創出

研究課題名（英文） Generation of disease models for neurodegenerative disorders by deleting selenoprotein synthesis

研究代表者

鈴木 隆史 (SUZUKI TAKAFUMI)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：70508308

研究成果の概要（和文）：抗酸化酵素の中心的役割を担う含セレン蛋白質の合成破綻によって神経変性疾患モデルマウスの創出に成功した。含セレン蛋白質合成が破綻した神経組織では転写因子 Nrf2 が活性化することが明らかとなった。また、Nrf2 と含セレン蛋白質の両者の欠失は神経変性を重篤化することが明らかになった。以上の研究成果は、含セレン蛋白質群が神経組織の恒常性維持に必須であり、またその破綻に対して Nrf2 が保護的に働くことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We generated disease models for neurodegenerative disorders by deleting selenoproteins, a major member of antioxidant enzymes. We have found that transcriptional factor Nrf2 activate in the selenoprotein-deficient neuronal tissue. In the absence of Nrf2, selenoprotein deficiency in neuronal tissue cause severe degenerative phenotype. These results reveal that selenoproteins are essential for maintaining homeostasis of neuronal tissue, and that Nrf2 has cytoprotective role against loss of selenoproteins.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：含セレン蛋白質、SeCys-tRNA、酸化ストレス、抗酸化酵素、Nrf2、神経変性

1. 研究開始当初の背景

我が国は高齢化社会を迎えつつあり、社会的にも、また、医療面でも多くの課題を抱えている。基礎医学研究の立場からは、特に、老化に伴い発症頻度が増す神経変性疾患であるアルツハイマー病やパーキンソン病などの原因究明と治療法開発が急務である。こうした神経疾患の

原因として、活性酸素種との関わりに注目が集まっている。しかしながら、活性酸素種を消去するグルタチオン（GSH）系やチオレドキシン（TRX）系に関わる酵素群は、個々の酵素を単独欠損させても他の酵素群によって代償されることが多く、その生理的重要性の検証は停滞している。GSH・TRX系の機能発現に重要な役割を担うGSHペル

オキシダーゼ (GPX) や TRX 還元酵素 (TR) は活性中心にセレノシステイン (SeCys) の形でセレンを含む酵素であり、統合的に含セレン蛋白質とよばれる。この含セレン蛋白質群の合成には SeCys-tRNA が必須であり、この tRNA 欠損は含セレン蛋白質の合成を破綻させ、GSH 系と TRX 系の両方の機能低下を引き起こす。

本研究課題の着想は、研究代表者らが報告したマクロファージおよび肝細胞における SeCys-tRNA 遺伝子破壊マウスの解析に基づいている (Suzuki *et al*, 2008)。この研究により、SeCys-tRNA 遺伝子の条件付き部分破壊により、個体レベルで含セレン蛋白質の合成破綻状態を創出することが可能であること、さらに、この第 1 ライン防衛線の破綻状態に対して、Nrf2 経路が活性化して第 2 ライン防衛線を形成し、代償的に働くことが明らかになった。この含セレン蛋白質に注目した解析に基づき、研究代表者らは新しい生体防御機構の解析方法開発が可能になると考えた。

研究代表者らは、上記の成果をさらに発展させるためには、特に、新しい疾患モデル系を開発する必要があると痛感しており、その目的で活性酸素種の関与が示唆されている神経系疾患について、取り組むことを計画した。このような背景と目的で本研究課題を提案するに至ったが、高齢化社会を迎える時期に当たって、本研究課題で採用するようなアプローチの重要性は増しているものと考えた。

2. 研究の目的

本研究課題では、高齢化社会において最重要課題の一つとなっている神経変性疾患の予防と発症メカニズムの理解を最終目的とする。このために、まず酸化ストレスに起因する神経変性疾患モデルマウス創出を目的とした。次に、このマウスの解析により、酸化ストレス応答系 Keap1-Nrf2 システムによる神経保護作用の有用性の実証を試みた。さらに、この変性疾患モデルの解析から、神経変性を引き起こす新規の酸化ストレス応答経路を見だし、疾患発症メカニズムの理解を目指した。

3. 研究の方法

神経組織特異的な含セレン蛋白質群合成破綻マウスを作製し、活性酸素種と神経変性疾患との関連性を明らかにすることを目的とした。また、Nrf2 欠損マウスとの交配によって Nrf2 による恒常性維持における重要性の検討を行った。

4. 研究成果

(1) 神経組織特異的な含セレン蛋白質群合成破綻マウス作製

神経特異的 SeCys-tRNA 遺伝子破壊マウスを作製し神経変性疾患モデルマウス創出を試みた。その結果、作製されたマウスは生後体重増加が観察されず運動失調が観察され生後 3 週以内に致死に至った。ウエスタンブロット解析により、このマウスの脳組織において含セレン蛋白質 GPx1 の発現が著しく低下していることを確認した。以上の研究成果は、含セレン蛋白質群が神経組織において恒常性維持に必須な防御機構であることを明らかにした。

(2) Nrf2 による代償機構の存在

作製された神経特異的 SeCys-tRNA 遺伝子破壊マウスでは転写因子 Nrf2 の蓄積およびその標的遺伝子の活性化が観察されたことから、酸化ストレス応答系 Keap1-Nrf2 システムによる代償機構の存在が予想された。以上の研究成果は、含セレン蛋白質群が神経組織において恒常性維持に必須な防御機構であり、またその防御機構の破綻状態に対して Keap1-Nrf2 システムが保護的に働いていることを示唆する。すなわち、セレン欠乏予防や Nrf2 誘導剤の摂取が酸化ストレスに起因する神経変性疾患の予防に有効であることを支持する。

(3) SeCys-tRNA および Nrf2 の二重欠損マウス作製

含セレン蛋白質合成破綻に対して Nrf2 による代償機構が存在することが予想された。そこで、Nrf2 遺伝子欠損マウスと交配し、SeCys-tRNA および Nrf2 の二重欠損マウスを作製したところ、SeCys-tRNA 単独欠損マウスと比較して早期に死亡し、特に小脳部位の変性が進行することが明らかになった。以上の研究成果は、含セレン蛋白質群が神経組織において恒常性維持に必須な防御機構であり、またその防御機構の破綻状態に対して Nrf2 が保護的に働いていることを強く示唆する。特に、小脳における両者の生体防御系の重要性が明らかになったことは、脊髄小脳変性症などの難病治療につながることを示唆しており、セレン欠乏予防や Nrf2 誘導剤の摂取が酸化ストレスに起因する神経変性疾患の予防に有効であることを支持する。

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 5 件)

1、Suzuki T, Maher J, Yamamoto M. Select heterozygous keap1 mutations have a

- dominant-negative effect on wild-type Keap1 *in vivo*. *Cancer Res.* 71, 986-996 (2011) (査読あり)
- 2、Kawatani Y, Suzuki T, Shimizu R, Kelly VP, Yamamoto M. Nrf2 and selenoproteins are essential for maintaining oxidative homeostasis in erythrocytes and protecting against hemolytic anemia. *Blood* 117, 986-996 (2011) (査読あり)
 - 3、Taguchi K, Maher JM, Suzuki T, Kawatani Y, Motohashi H, Yamamoto M. Genetic analysis of cytoprotective functions supported by graded expression of Keap1. *Mol Cell Biol.* 30, 3016-3026 (2010) (査読あり)
 - 4、Shibata T, Saito S, Kokubu A, Suzuki T, Yamamoto M and Hirohashi S. Global downstream pathway analysis reveals a dependence of oncogenic NRF2 mutation on the mTOR growth signaling pathway. *Cancer Research* 70, 9095-9105 (2010) (査読あり)
 - 5、Sato H, Moriguchi T, Taguchi K, Takai J, Maher JM, Suzuki T, Winnard PT Jr, Raman V, Ebina M, Nukiwa T, Yamamoto M. Nrf2-deficiency creates a responsive microenvironment for metastasis to the lung. *Carcinogenesis*. 31, 1833-1843 (2010) (査読あり)
- [学会発表] (計 15 件)
- 1、大越明、鈴木隆史、小林俊光、山本雅之 4NQO 誘発舌がんにおける Keap1-Nrf2 系の役割 第 147 回日本耳鼻咽喉科学会宮城県地方部会学術講演会 2012 年 3 月 18 日 仙台
 - 2、鈴木隆史、山本雅之 トランスジェニックマウスを用いた Keap1-Nrf2 システムの機能解析 東北大学 Network Medicine GCOE 冬の合宿 2012 2012 年 2 月 4-5 日 秋保
 - 3、大越明、鈴木隆史、西島維知子、山本雅之 含セレン蛋白質と Nrf2 による酸化ストレス防御機構の脳発達時期における役割 第 34 回日本分子生物学会年会 2011 年 12 月 13-16 日 横浜
 - 4、Takafumi Suzuki, Jonathan Maher, Masayuki Yamamoto. Select heterozygous Keap1 mutations have a dominant-negative effect on wild-type Keap1 *in vivo*. 16th World Congress on Advances in Oncology and 14th International Symposium on Molecular Medicine. October 6-8, 2011, Rhodes Island, Greece
 - 5、山本雅之、鈴木隆史、田口恵子、本橋

- ほづみ マウス遺伝学解析に基盤とする Keap1-Nrf2 システムの解明 第 70 回日本癌学会学術総会・名古屋国際会議場 2011 年 10 月 3-5 日 名古屋
- 6、高屋快、鈴木隆史、山本雅之 Keap1 による多様なストレス感知機構の実証 第 84 回日本生化学会 2011 年 9 月 21-24 日 京都
 - 7、高屋快、鈴木隆史、本橋ほづみ、山本雅之 Keap1 による多様なストレス感知機構 新学術領域研究「活性酸素シグナル」第 6 回班会議 2011 年 5 月 14-15 日 昭和薬科大学
 - 8、Masayuki Yamamoto, Hirofumi Kurokawa, Takafumi Suzuki, Keiko Taguchi, Hozumi Motohashi. THE NRF2-KEAP1 STRESS RESPONSE PATHWAY: MOLECULAR BASIS OF ADAPTIVE RESPONSES AND PATHOGENESIS. SOT's 50th Annual Meeting, March 6-10, 2011, at the Walter E. Washington Convention Center in Washington, D.C.
 - 9、Takafumi Suzuki Complementary Contribution of Nrf2 Gene Battery and Selenoproteins to Antioxidative Stress Response. Seminar of School of Biochemistry and Immunology Trinity College Dublin. 2011 年 1 月 27 日 Dublin, Ireland.
 - 10、大越明、鈴木隆史、山本雅之 酸化ストレスによる神経疾患病態形成における Keap1-Nrf2 系の役割の解明 第 4 回リトリート大学院生研究発表会 2011 年 1 月 15 日 東北大学・片平さくらホール
 - 11、高屋快、鈴木隆史、山本雅之 マルチストレスセンサー-Keap1 の生理的機能解析 第 4 回リトリート大学院生研究発表会 2011 年 1 月 15 日 東北大学・片平さくらホール
 - 12、Takafumi Suzuki, Yukie Kawatani, Akira Okoshi, Vincent Kelly, Masayuki Yamamoto. Deletion of selenocysteine tRNA gene results in compensatory gene induction of cytoprotective enzymes by Nrf2. 9th international Symposium on Selenium in Biology and Medicine Selenium 2010. 2010 年 5 月 31-6 月 4 日 京都
 - 13、Masayuki Yamamoto, Takafumi Suzuki, Yukie Kawatani, and Vincent Kelly Complementary contribution of Nrf2 gene battery and selenoproteins to antioxidative stress response. 9th international Symposium on Selenium in Biology and Medicine Selenium 2010. 2010 年 5 月 31-6 月 4 日 京都
 - 14、Mariko Takayama, Takafumi Suzuki, Kai Takaya, Ryuhei Okuyama and Masayuki Yamamoto. Cytoprotective systems of skin

by selenoproteins and Nrf2. 9th international Symposium on Selenium in Biology and Medicine Selenium 2010. 2010年5月31-6月4日 京都

15、Yukie Kawatani, Takafumi Suzuki, Vincent Kelly, and Masayuki Yamamoto. Hematopoietic deficiency of Nrf2 and selenoproteins leads to severe defects in erythrocytes and lymphocytes. 9th international Symposium on Selenium in Biology and Medicine Selenium 2010. 2010年5月31-6月4日 京都

[その他]

ホームページ

<http://dmbc.med.tohoku.ac.jp/official/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 隆史 (SUZUKI TAKAFUMI)
東北大学・医学系研究科・助教
研究者番号：70508308

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：