

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24590370

研究課題名(和文) 転写因子 Nrf1 による神経変性疾患の治療に向けた分子基盤解析

研究課題名(英文) Role of Nrf1 activation in progressive neurodegeneration

研究代表者

大歳 維知子(西島維知子)(NISHIJIMA, Ichiko)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・講師

研究者番号：70600394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：筋萎縮性側索硬化症(ALS)等の神経変性疾患の病因の一つとして、プロテアソームの機能不全が考えられているが、詳細は未だに不明である。本研究課題では、プロテアソームのサブユニットタンパク質の転写を促進する因子Nrf1をALSのモデル動物であるヒト変異SOD1遺伝子の遺伝子発現(Tg)マウスに導入し、Nrf1の活性化が神経変性の進行に及ぼす影響を検討した。Nrf1Tgマウスとヒト変異SOD1Tgマウスとを交配したDouble-Tgマウスは、運動失調の発症は変異SOD1-Tgマウスと同様であったが、発症から死亡に至る期間の短縮の傾向が観察され、Nrf1の活性化が病態に関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease of motor neurons. Although defective ubiquitin-proteasome system is associated with neurodegenerative diseases commonly, the underlying molecular mechanisms are still unknown. To understand defense mechanisms using ubiquitin-proteasome system against progressive degeneration of neurons, we have analyzed Nrf1 activation in neurodegenerative disease condition using the compound transgenic mice carrying Nrf1 and mutant human SOD1 genes. The compound transgenic mice overexpressed Nrf1 and mutant human SOD1 have similar onset of neurodegeneration to mutant SOD1 transgenic mice. However, their degenerative progression was faster than mutant SOD1 transgenic mice. Our data indicate that Nrf1 activation may contribute acceleration of neurodegenerative disorders.

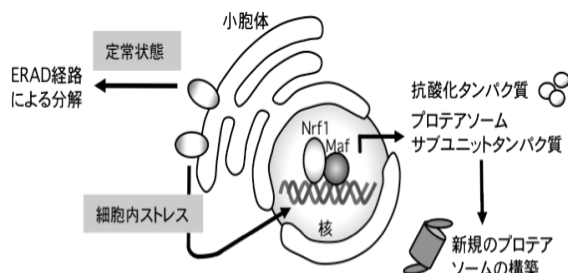
研究分野：神経科学

キーワード：脳神経疾患 発現制御 モデル動物

1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症(ALS)などの神経変性疾患は、神経細胞への変性タンパク質の過剰な蓄積という共通な症状を持つ。そのため、原因の一つとしてタンパク質分解経路のユビキチン・プロテアソーム経路の異常が示唆されてきた。また、近年神経変性症状の進行と酸化ストレスとの関連についても研究が進められているが、詳細な機序は未だに明らかになっていない。

最近、生体防御関連遺伝子の発現を制御する転写因子 Nrf1 (NF-E2-related factor1)の神経特異的遺伝子欠損マウスが神経変性を示すことを発見した。また、Nrf1 とヘテロ二量体を形成し生体制御系遺伝子群の発現調節に必須の Maf 遺伝子の遺伝子欠損マウスも神経変性を持つことを明らかになってきた。さらに、複数のグループから Nrf1/Maf 転写因子複合体が酸化ストレス応答遺伝子群の他に 26S プロテアソームのサブユニットタンパク質の転写を制御し、プロテアソーム活性の補充させるという結果が立て続けに報告された(下図)。



以上の知見を元に、Nrf1 がプロテアソーム活性の代償作用をはじめとするタンパク質分解経路を制御し、神経変性の抑制に作用しているという仮説を立てるに至った。

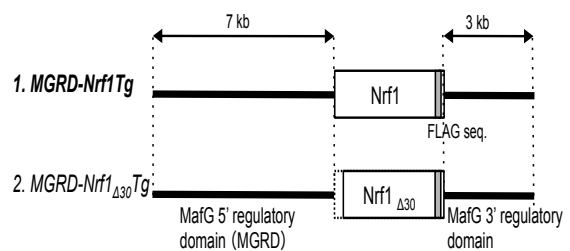
2. 研究の目的

本研究課題では、上記の知見を元に、筋萎縮性側索硬化症モデル動物であるヒト変異 SOD1 遺伝子発現マウスに Nrf1 遺伝子を導入し、Nrf1 の活性化がユビキチン・プロテアソーム経路の活性化を介して神経変性の軽減

に貢献するかを検討することを目的とした。さらに、治療薬としての可能性を探索することを将来的な目的とした。

3. 研究の方法

ヒト変異 SOD1 遺伝子発現マウスと、Nrf1 過剰発現マウスを交配し、Double-Tg マウスを作製する。本研究に使用する Nrf1 過剰発現マウスの Nrf1 の発現を生体における発現動態により近づけるために、Nrf1 とヘテロ二量体を形成する転写因子 MafG 遺伝子の遺伝子発現制御領域 (MafG regulatory domain; MGRD)に Nrf1 cDNA と FLAG 配列、polyA 配列を連結した MGRD-Nrf1 トランスジェニックマウス (MGRD-Nrf1Tg マウス, 下図 No.1) を使用することとした。

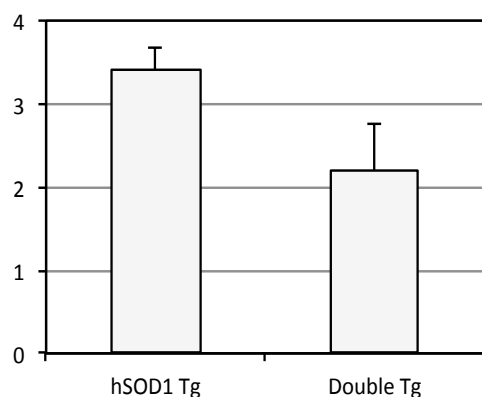


作製した Double-Tg マウスは、体重測定を定期的に行い、発達・生育状態、並びに同マウスの体重を測定して筋肉重量の低下を解析する。運動失調の程度は、歩行動作やクラスピング (マウス尻尾を吊るした時の足の折り曲げ行動) 等により測定する。

4. 研究成果

申請者らは、H46R ヒト変異 SOD1-Tg マウスを東北大学医学部神経内科青木正志教授から供与いただき、MGRD-Nrf1Tg マウスと交配して Double-Tg マウスを作製し、変異 SOD1-Tg マウスで観察される神経変性が回復するかを経時的に観察した。変異 SOD1-Tg マウスは、繁殖率が低く、無事に誕生・生育したマウスも、生後 22 週頃より下肢を引きずる動作が観察され、動けなくなり、約 25-27 週に死亡した。下肢の運動異常を観察してから、死亡するまでの平

均 3.4 週であった。MGRD-Nrf1Tg マウスは、繁殖率や生存月齢等において正常コントロールマウスと比べて有意な差は観察されなかった。Double-Tg マウスでは、変異 SOD1-Tg マウスと同様に繁殖率が低い傾向があり、誕生し無事に生育したマウス時期（生後 22 週前後）に下肢症状が観察された。しかし、特筆すべきことに、下肢の運動失調症状の発症から、死亡するまでの期間が平均 2.2 週と変異 SOD1-Tg マウスより短縮し、神経変性症状の悪化が観察された（下図）。



この結果は、Nrf1 の活性化により神経変性の抑制に作用するという仮説と反対の結果であり、Nrf1 の活性化が一旦発症した神経変性症状をより悪化させるという新しい発見に結びついた。本研究結果をふまえて、Double-Tg マウスにおけるユビキチン・プロテアソーム経路の活性化をはじめとするより詳細な解析を進めると共に、計画を変更して Nrf1 ヘテロ遺伝子欠損 (Nrf1^{+/-}) マウスと H46R ヒト変異 SOD1-Tg マウスを交配し、Nrf1 遺伝子発現量の減少による神経変性の軽減を試みている。

本申請研究に用いた H46R ヒト変異 SOD1-Tg マウス・MGRD-Nrf1Tg マウスの遺伝的バックグラウンドは C57BL/6J であるが、Nrf1^{+/-}マウスのみミックス近交系であったため、現状のままでは遺伝的バックグラウンドの違いにより結果が比較出来ず、新たに

C57BL/6J の遺伝的バックグラウンドを有する Nrf1^{+/-}マウスと交配を進めている。

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. Takayanagi Y, Yoshida M, Takashima A, Takanami K, Yoshida S, Nishimori K, Nishijima I, Sakamoto H, Yamagata T, Onaka T. Activation of Supraoptic Oxytocin Neurons by Secretin Facilitates Social Recognition. *Biol Psychiatry*. 2016 *in press*. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.11.021. 査読有り
2. Kimura T, Nishizawa K, Oguma A, Nishimura Y, Sakasegawa Y, Teruya K, Nishijima I, Doh-ura K. Secretin receptor involvement in prion-infected cells and animals. *FEBS Lett*. 2015, 589:2011-8. doi: 10.1016/j.febslet.2015.05.039. 査読有り
3. Motoike IN, Matsumoto M, Danjoh I, Katsuoka F, Kojima K, Nariai N, Sato Y, Yamaguchi-Kabata Y, Ito S, Kudo H, Nishijima I, Nishikawa S, Pan X, Saito R, Saito S, Saito T, Shiota M, Tsuda K, Yokozawa J, Igarashi K, Minegishi N, Tanabe O, Fuse N, Nagasaki M, Kinoshita K, Yasuda J, Yamamoto M. Validation of multiple single nucleotide variation calls by additional exome analysis with a semiconductor sequencer to supplement data of whole-genome sequencing of a human population. *BMC Genomics*. 2014 15:673. doi: 10.1186/1471-2164-15-673. 査読有り
4. 西島 維知子
脳の発達における神経ペプチドセクレチンの役割 日本生物学的精神医学会誌 23巻4号 特集2:動物モデルから見た発達障害研究 P. 287-291, 2012. 査読有り
5. 西島 維知子
セクレチン *Clinical Neuroscience* 30巻2号「ニューロペプチド-update」P.216-217, 2012. 査読有り

[学会発表] (計 4 件)

1. Nishijima I, Bahram Khosravi, Naoko Minegishi. The effects of secretin in postnatal cerebellar development. The 38th

Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. July 28-31, Abstract P. 218, 2015. 神戸国際会議場・神戸国際展示場、兵庫県神戸市

2. 西島 維知子
セクレチン変異マウスと環境要因から探る自閉症の発症機構第 55 回小児神経学会学術集会シンポジウム 1:自閉症の神経科学的研究、2013 年 5 月 30 日 (招待講演) iichiko 総合文化センター・大分オアシスタワーホテル、大分県大分市
3. Nishijima I. The neuroprotective role of secretin in neuronal and psychological development. 34th Annual Meeting of Japanese Society of Biological Psychiatry. September 28-30, Abstract P.154, 2012. 神戸国際会議場、兵庫県神戸市
4. Nishijima I, Katsuoka F, Kato S, Hirotsu Y, Aoki M, Yamamoto M. Loss of small Maf transcriptional factors leads to progressive neurodegeneration. The 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. September 18-21, Abstract P. 218, 2012. 名古屋国際会議場、愛知県名古屋市

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大歳(西島) 維知子 (NISHIJIMA, Ichiko)
東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・講師
研究者番号：70600394

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

勝岡 史城 (KATSUOKA, Fumiki)
東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・准教授

研究者番号：30447255

青木正志 (AOKI, Masashi)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70302148