

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25290027

研究課題名(和文) 脂質代謝の選択的制御による高次脳機能発現調節

研究課題名(英文) Regulation of higher brain function by lipid metabolism

研究代表者

和田 圭司 (Wada, Keiji)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所疾病研究第四部・部長

研究者番号：70250222

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：オートファジー、ユビキチンシステムに着目し、脂質代謝と高次脳機能との関連を明らかにすることを目的とした。そのため、(1) LAMP-2システムの機能解明、(2) UCH-L1と脳機能発達の関連性解明、(3) 食環境と脳機能、脳機能発達の関連性解明、をめざした。その結果、LAMP-2システムが蛋白質だけでなく核酸などの代謝にかかる重要な系であること、UCH-L1の発現を欠くgracile axonal dystrophyマウスでは前頭野皮質の樹状突起スパインの成熟遅延の可能性があること、授乳期母体マウスの高脂肪食摂取が産仔同部の樹状突起スパインの成熟性に影響することを見いだした。

研究成果の概要(英文)：We aimed to elucidate the relationship between lipid metabolism and brain function in the mouse. To achieve the goal, we focus on LAMP-2 protein, a member of the autophagy system, and UCH-L1, a deubiquitinating enzyme in the ubiquitin system. We also studied the effect of diet on the mouse brain function.

We observed that the LAMP-2 system was involved in various metabolism including nucleic acids, and that a mouse strain without UCH-L1 expression showed a delay of dendritic spine maturation in brain cortex. We also observed that maternal high fat intake at the lactation period resulted in the suppression of dendritic spine maturation.

研究分野：病態神経科学

キーワード：脂質 高脂肪食 マウス オートファジー 酸化ストレス 生活習慣 母体 ユビキチン

1. 研究開始当初の背景

蛋白質、核酸、脂質は生体を構成する重要な分子である。その合成、分解を始めとする代謝制御を正しく行うことは生命機能の維持に必須である。しかし、脂質については、その制御の詳細は蛋白質や核酸ほどには把握されていない。

我々はオートファジー系の構成因子である LAMP2 の研究を行ってきたが、本研究開始前に、LAMP2 システムがこれまで考えられていた蛋白質だけでなく、脂質、核酸の代謝に関わる可能性を発見した。

他方、我々は神経変性を呈する gracile axonal dystrophy マウスの原因遺伝子が UCH-L1 であることを報告して以来 (Nat Genet, 1999) 脱ユビキチン化酵素研究を積み重ねてきたが、新たに記憶学習、脂質代謝にも脱ユビキチン化酵素が関わることを見いだした (Eur J Neurosci, 2008; Neurochem Int, 2010)。

生活習慣は生体の恒常性に重要であり、健康増進を考える上で不可欠な要因となっている。特に食習慣は生活習慣の中心に位置しており、栄養学的観点からも生体機能、脳機能との関連を追及する必要がある。

以上、オートファジーシステム、ユビキチンシステムはこれまで考えられていたよりも広範に生体分子の制御を担い、脂質代謝の面からも生体の恒常性に関わる可能性が高まったこと、食環境と脳機能の関連を神経科学的に追求する必要性が高まったことから本研究を提案し、実施するに至った。

2. 研究の目的

脂質代謝を制御するシステムと高次脳機能との関連、さらに、その神経回路学的基盤を明らかにすることを目的とした。そのため、(1) LAMP-2 システムの機能解明、(2) UCH-L1 と脳機能発達の関連性解明、(3) 食環境と脳機能、脳機能発達の関連性解明、を行うことにした。

3. 研究の方法

(1) LAMP-2 システムの機能解明

LAMP-2 のプライスバリエーションである LAMP-2A, LAMP-2B, LAMP-2C について細胞内過剰発現系を構築し、脂質代謝との関連を生化学的に解析した。

LAMP-2 のプライスバリエーションと結合する因子の解析を行い、LAMP-2 システムの構成要素を生化学的に解析した。

(2) UCH-L1 と脳機能発達の関連性解明

gracile axonal dystrophy マウスを使用し、幼若期の樹状突起スパインの機能形態を二光子レーザー顕微鏡等を使用し、解析した。

(3) 食環境と脳機能

摂餌中の不飽和脂肪酸の構成比がマウスの脳機能に及ぼす影響を恐怖条件付け反応で行動科学的に解析した。

母体マウスに高脂肪食を負荷し、産仔のスパイン形態に及ぼす影響を二光子レーザー顕微鏡等を使用し、解析した。さらに、高脂肪食負荷期間を特定し、産仔のスパイン形態に最も影響する時期の特定を試みた。

4. 研究成果

(1) LAMP-2 システムの機能解明

LAMP-2 のプライスバリエーションである LAMP-2A, LAMP-2B, LAMP-2C についてこれまで、LAMP-2A は chaperone-mediated autophagy に関わることが示されている。今回、LAMP-2C が RNA など核酸のリソソームにおける分解に重要な役割を果たしていることを見いだした。LAMP-2B に関しては、タンパク質、核酸、などの代謝との関連で機能を有するかどうか検討している。

LAMP-2 のプライスバリエーションと結合する因子の解析を行い、LAMP-2 システムの構成要素を生化学的に同定することを試みた。

(2) UCH-L1 と脳機能発達の関連性解明

UCH-L1 の発現を欠く gracile axonal dystrophy マウスでは、対照マウスと比し、幼若期前頭野皮質のスパインの成熟遅延を示唆する結果を得た。

(3) 食環境と脳機能

摂餌中のオメガ3とオメガ6の構成比(オメガ3/オメガ6)がマウスの不安様行動の程度と逆相関することを見いだした。また、摂餌中のオメガ3とオメガ6の構成比は脳内のオメガ3とオメガ6の構成比に反映されることを見いだした。さらに、オメガ3とオメガ6の構成比と不安様行動の間をつなぐ分子機序としてカンナビノイド受容体に関わることを見いだした。

これまでの研究から、妊娠前～離乳までの雌マウスの高脂肪食摂取により、通常食摂餌の産仔脳でも酸化脂質の蓄積、海馬新生ニューロン数の減少、樹状突起の分枝不全、BDNF 低値が出現することを見いだしている (FASEB J 2009; Neurochem Int 2010)。今回新たに、前頭野における樹状突起スパイン形成のターンオーバーを二光子レーザー顕微鏡で解析したところ、妊娠前～離乳まで高脂肪食摂取した母体マウスの産仔脳では、産仔が通常食摂餌の場合でもスパインターンオーバーが亢進していること、つまり樹状突起スパインの成熟遅延が存在することを見いだした。

さらに、母体マウスの高脂肪食負荷について、授乳期だけの高脂肪食負荷であっても、産仔で樹状突起スパインの成熟遅延が観察

された。さらに、授乳期に抗酸化剤を内服すると、樹状突起スパインの成熟遅延が軽減する結果を得た。産仔樹状突起スパインの成熟性に影響する critical period として授乳期が示唆される結果となった。

引用文献

Saigoh, K., Wang, Y.-L., Suh, J.G., Yamanishi, T., Sakai, Y., Kiyosawa, H., Harada, T., Ichihara, N., Wakana, S., Kikuchi, T. and Wada, K., Intragenic deletion in the gene encoding ubiquitin carboxy-terminal hydrolase in gad mouse. *Nature Genet.*, 23, 47-51, 1999

Sakurai, M., Sekiguchi, M., Zushida, K., Yamada, K., Nagamine, S., Kabuta, T. Wada, K. Reduction of memory in passive avoidance learning, exploratory behavior and synaptic plasticity in mice with a spontaneous deletion in the ubiquitin C-terminal hydrolase L1 gene. *Eur. J. Neurosci.*, 27, 691-701, 2008

Tozuka, Y., Wada, E., Wada, K. Diet-induced obesity in female mice leads to peroxidized lipid accumulations and impairment of hippocampal neurogenesis during the early life of their offspring. *FASEB J.*, 23, 1920-1934, 2009.

Nagamine, S. Kabuta, T., Furuta, A., Yamamoto, K., Takahashi, A., Wada, K. Deficiency of ubiquitin carboxy-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1) leads to vulnerability to lipid peroxidation. *Neurochem. Int.* 57, 102-110, 2010.

Tozuka, Y., Kumon, M., Wada, E., Onodera, M., Mochizuki, H., Wada, K. Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring. *Neurochem. Int.* 57, 235-247, 2010.

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4件)

Fujiwara, Y., Furuta, K., Kikuchi, H., Aizawa, S., Hatanaka, Y., Konya, C.,

Uchida, K., Yoshimura, A., Tamai, Y., Wada, K., Kabuta, T. Discovery of a novel type of autophagy targeting RNA. *Autophagy*, 9, 403-409, 2013. doi: 10.4161/auto.24880.

Yamada, D., Takeo, J., Koppensteiner, P., Wada, K., Sekiguchi, M. Modulation of fear memory by dietary polyunsaturated fatty acids via cannabinoid receptors. *Neuropsychopharmacol.*, 39, 1852-1860, 2014. doi: 10.1038/npp.2014.32.

Fujiwara, Y., Hase, K., Wada, K., Kabuta, T. An RNautophagy/DNautophagy receptor, LAMP2C, possesses an arginine-rich motif that mediates RNA/DNA-binding. *Biochem Biophys Res Commun.*, 460, 281-286, 2015. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.03.025.

Hatanaka, Y., Wada, K., Kabuta, T. Maternal high-fat diet leads to persistent synaptic instability in mouse offspring via oxidative stress during lactation. *Neurochem. Int.*, in press. doi: 10.1016/j.neuint.2016.03.008.

[学会発表](計6件)

藤原悠紀, 和田圭司, 株田智弘: 脳におけるRNAを標的とした新規オートファジー経路. *Neuro2013*. 京都: 20130620 - 20130623

Fujiwara Y, Wada K, Kabuta T: Direct Uptake and Degradation of RNA by Lysosome. *EMBO Conference: Autophagy: molecular mechanism, physiology and pathology*. Hurtigruten MS Trollfjord, Norway: 20130505 - 20130509

山田大輔, 竹尾仁良, 和田圭司, 関口正幸: 恐怖記憶は脳内のオメガ 3/オメガ 6 多価不飽和脂肪酸のバランスにより修飾される. *Neuro2013*. 京都: 20130620 - 20130623

Suzuki M, Fujikake N, Wada K, Nagai Y: High-nutrient diet aggravates protein isfolding-related neurodegeneration in *Drosophila*. *New Frontier of Molecular Neuropathology 2014*. Tokyo: 20140316 - 20140317

株田智弘, 畑中悠佑, 和田圭司: 精神疾患の病因に関する物質・因子の解析: テストステロンおよびリソソーム分解との関連性について. 第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学会合同年会. 奈良: 20140929 - 20141001

和田圭司: Therapeutic strategies for brain disorders as systemic diseases. 第 58 回日本神経化学会大会. 大宮: 20150911 - 20150913

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r4/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 圭司 (WADA, Keiji)

国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部・部長

研究者番号: 70250222

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

関口 正幸 (SEKIGUCHI, Masayuki)

国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部・室長

研究者番号: 80260339

株田 智弘 (KABUTA, Tomohiro)

国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部・室長

研究者番号: 70535765