

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：82611

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25871174

研究課題名(和文) 神経変性疾患における神経ネットワーク発達の早期病態解析

研究課題名(英文) In vivo imaging of neuronal network development in neurodegenerative diseases

研究代表者

畑中 悠佑 (Hatanaka, Yusuke)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第四部・科研費研究員

研究者番号：50581899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ヒトの病態を忠実に反映した脊髄小脳失調症1型(SCA1)ノックインマウスを使用した。In vivo 2光子イメージング法を用いた解析の結果、顕著な神経症状が現れない神経回路網の発達段階からすでに、SCA1マウスのシナプスは不安定化しており、この不安定化は成熟後も継続した。成熟後には、スパインの数や形態にも明確な異常が現れた。通常、シナプスは神経回路網の成熟とともに安定化することから、SCA1を含む晩発性神経変性疾患では、潜在的に神経発達そのものに障害を受けており、これが後に、シナプスの数や形態異常、そして神経症状となって現れることが示唆される。

研究成果の概要(英文)：The increasing prevalence of age-associated neurodegenerative diseases due to the elongation of human life span is a growing serious health problem all over the world. Accumulating evidence indicates that the neurological symptoms of neurodegenerative diseases are caused by neuronal dysfunction prior to neuronal death. However, the synaptic mechanisms causing the neuronal dysfunction remain unclear, despite its importance for therapeutic intervention. In the present study, we employed in vivo two-photon imaging to analyze synaptic development throughout the neurodegenerative process in living animals, using a knock-in mouse model of spinocerebellar ataxia type 1, one of the polyglutamine diseases, which faithfully replicates human pathological features. We demonstrated that abnormal synaptic instability and synaptic protein expression became evident at a very early stage of the disease process, and surprisingly, that the synaptic impairments presented even during synaptic development.

研究分野：神経科学

キーワード：樹状突起スパイン In vivoイメージング 神経変性疾患 脊髄小脳失調症 ポリグルタミン病

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病・パーキンソン病・ポリグルタミン病などの神経変性疾患は、ミスフォールド蛋白質の凝集・蓄積により、神経細胞死が引き起こされるとされる。しかしながら、神経症状を発症する時点では顕著な細胞死は認められず、細胞死や蛋白質凝集に対し、神経の機能障害が先行するはずであるが、いまだその実体解明には至っていない。

脊髄小脳失調症 1 型 (SCA1) は原因遺伝子 *ATXN1* 内の CAG リピートの異常伸長により引き起こされるポリグルタミン病であり、運動失調の他にも記憶・学習能の異常が表れる神経変性疾患である。しかしながら、記憶・学習を司る大脳皮質や海馬では細胞死が確認されないことから、神経回路の構成不全ではなく、個々の神経細胞の機能異常が原因であると考えられる。一方、小脳においては細胞死が認められる。そのため、SCA1 の大脳皮質や海馬は、細胞死に依存しないシナプス機能異常の研究対象として適しているといえる。ところで、神経回路が成熟した後にポリグルタミンを伸長させた *ataxin1* を神経細胞特異的に発現させても、SCA1 病態を反映する表現型は得られない。このことから、本研究では、神経発達過程における変異型 *ataxin1* の発現が惹起するシナプス機能異常が、後の SCA1 病態を引き起こすと考え、これを検証する。

2. 研究の目的

本研究では、SCA1 モデルマウスを用い、神経発達過程を通じて、大脳皮質・海馬における樹状突起スパインの動態・形態異常を解析することで、SCA1 の presymptomatic なシナプス病態を解明する。

3. 研究の方法

本研究では、*in vivo* 2 光子イメージング法を用いることで、生きたままの個体における、樹状突起スパイン (後シナプス構造) の数、形態、そして動態の非侵襲観測を可能とした。樹状突起スパインは、神経細胞のみならず、複雑な脳内環境によって調節されており、神経機能・神経疾患の評価法として *in vivo* 2 光子イメージングは極めて有用な手段といえる。また、本研究では、単一遺伝子疾患であるポリグルタミン病を神経変性疾患のモデルとし、ヒトの病態を忠実に反映した SCA1 ノックイン (Knock-in: KI) マウスを使用した。ヒトと同様に SCA1 KI マウスでは、小脳依存性の運動失調の他にも、大脳辺縁系における記憶・学習能の障害が起こるが、小脳に比べ、大脳皮質や海馬では神経細胞死は起こらない。細胞死に先行する神経機能障害の解明を目的とする本研究では、この大脳皮質・海馬に焦点を定め、Thy1-YFP H-line との交配により神経細胞を特異的に可視化し、大脳皮質の樹状突起スパインの観察を行った。

4. 研究成果

SCA1 KI マウスでは、顕著な神経症状が現れない神経回路網の発達段階 (4 週齢) からすでに、大脳皮質樹状突起スパインの麻酔下 1 時間当たりの生成・消滅速度が異常に亢進しており、この異常亢進は成熟後も継続した (図 1)。また、幼若型スパインであるフィロポディアの生成・消滅速度も亢進していた。撮影後、一度麻酔から回復させ、2 日後に再び麻酔下で観察してみても、やはりスパインの生成・消滅速度は亢進していた。つまり、麻酔下 / 非麻酔下いずれの状況でもスパインの動態に異常が認められるといえる。このとき、Homer や Shank スーパーファミリーなどの、シナプスの足場タンパク質の発現が減少していた。成熟後に初めて、SCA1 KI マウスはスパインの数や形態に明確な異常を示し、進行的なスパインの減少と形態異常を呈するようになった (図 2)。海馬においても、SCA1 KI マウスの樹状突起スパインは、成熟とともに顕著な形態異常・密度減少を示した。通常、スパインの生成・消滅速度 (すなわちシナプス不安定性) は神経回路網の成熟とともに低下し、シナプスが安定化する。このことから、SCA1 を含む晩発性神経変性疾患では、潜在的に神経発達そのものに障害を受けており、これが後に、スパインの数や形態異常、そして神経症状となって現れることが示唆される。また、発達過程でシナプスが異常に不安定化する際に、スパインの消滅速度が生成速度をわずかに上回るため、成熟後のスパインの減少が引き起こされると考えられる。

4-week-old

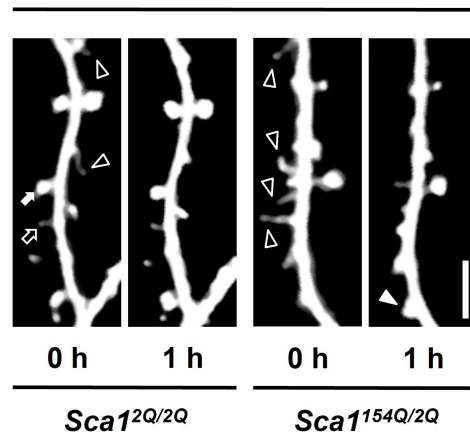


図 1 樹状突起スパインの *in vivo* イメージング

野生型 (*Sca1*^{2Q/2Q}) と SCA1 KI マウス (*Sca1*^{154Q/2Q}) の樹状突起スパインおよびフィロポディアの、1 時間当たりの動態。樹状突起スパインを矢印 (白) で、フィロポディアを矢印 (黒抜き) で示す。消滅するスパインまたはフィロポディアを矢頭 (黒抜き)、生成するスパインを矢頭 (白) で示す。

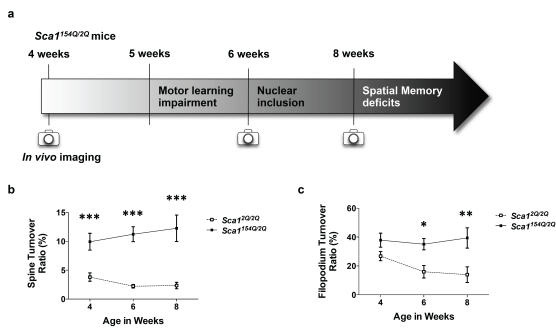


図2 SCA1 KI マウスの加齢依存的な症状とシナプス不安定性

(a) SCA1 KI マウスの加齢依存的な症状. 5 週齢にならないと, 運動学習障害は現れない. (b) 樹状突起スパインの加齢依存的な安定化と, SCA1 KI マウスにおけるその異常不安定性. 症状の現れる前段階である 4 週齢から, SCA1 KI マウスのスパインは異常な不安定性を示している. (c) フィロポディウムの加齢依存的な安定化と, SCA1 KI マウスにおけるその異常不安定性.

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)

- Hatanaka Y, Wada K, Kabuta T (2015) Abnormal instability, excess density, and aberrant morphology of dendritic spines in prenatally testosterone-exposed mice. Neurochem Int [Epub ahead of print] (査読あり) <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197018615000698>
- Hatanaka Y, Hojo Y, Mukai H, Murakami G, Komatsuzaki Y, Kim J, Ikeda M, Hiragushi A, Kimoto T, Kawato S (2014) Rapid increase of spines by dihydrotestosterone and testosterone in hippocampal neurons: Dependence on synaptic androgen receptor and kinase networks. Brain research [Epub ahead of print] (査読あり) <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899314016801>
- Saitoh Y, Fujikake N, Okamoto Y, Popiel HA, Hatanaka Y, Ueyama M, Suzuki M, Gaumer S, Murata M, Wada K, Nagai Y (2014) P62 Plays a Protective Role in the Autophagic Degradation of Polyglutamine Protein Oligomers in Polyglutamine Disease Model Flies.

The Journal of biological chemistry
290(3):1442-1453 (査読あり)
<http://www.jbc.org/content/290/3/1442.long>

- Yoshiya M, Komatsuzaki Y, Hojo Y, Ikeda M, Mukai H, Hatanaka Y, Murakami G, Kawata M, Kimoto T, Kawato S (2013) Corticosterone rapidly increases thorns of CA3 neurons via synaptic/extranuclear glucocorticoid receptor in rat hippocampus. Front Neural Circuits 7:191. (査読あり) <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncir.2013.00191/abstract>

[学会発表](計3件)

- In vivo イメージングによって見えてきた神経変性疾患の発達障害としての側面, 畑中 悠佑, 第 12 回神経科学研究会 2014 年 10 月 25 日 (東京)
- 神経変性疾患モデルマウスを用いたシナプス発達異常の in vivo イメージング, 畑中 悠佑, 平成 25 年度包括脳ネットワーク 夏のワークショップ 2013 年 8 月 29 日 (名古屋)
- INCREASED DENDRITIC SPINE DYNAMICS IS AN EARLY FEATURE IN A SCA1 MODEL MOUSE, 畑中 悠佑, 2012 Cold Spring Harbor Asia Conference "NEURAL CIRCUIT BASIS OF BEHAVIOR & ITS DISORDERS" 2012 年 11 月 5 日 (中国, 上海)

[図書](計1件)

- 認知症・うつ病とシナプス異常 認知症におけるシナプス病態, 畑中悠佑, 和田圭司, 永井義隆, Dement Jpn 27(2) 128-135 2013 年 5 月

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

畑中 悠佑 (HATANAKA, Yusuke)

独立行政法人

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

科研費研究員

研究者番号：50581899