

平成 28 年 5 月 13 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860655

研究課題名(和文)細胞内分解システムの活性化によるレビー小体病の治療戦略

研究課題名(英文) Treatment strategy of Lewy body disease by activation of intracellular degradation system

研究代表者

三木 康生 (Miki, Yasuo)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30709142

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：レビー小体病(パーキンソン病、レビー小体型認知症)では、異常シヌクレイン(α -syn)の蓄積が神経細胞の機能不全を引き起こすことから病因の一つと考えられている。本研究では異常 α -synの蓄積を防止、または軽減することでレビー小体病の症状を改善する方法を模索した。特に脳内の代謝を活性化する細胞内分解システム(オートファジー)に着目し、以下の知見を得た。

パーキンソン病モデルマウスにおいて、トレハロース短期投与が脳内オートファジーを効率的に活性化し、不溶性 α -synが減少した。これは、孤発性シヌクレイノパチーの病態解明にむすびつくと同時に、治療への標的につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The accumulation of mis-folded and/or abnormally modified proteins is a major characteristic of many neurodegenerative diseases. In Lewy body disease (LBD), insoluble α -synuclein is widely deposited in the presynaptic terminals as well as in the neuronal cytoplasm in distinct brain regions. The autophagy-lysosome system is an efficient degradation pathway for abnormal molecules within cells. We investigated the effect of trehalose on abnormal aggregation of α -synuclein in a model of LBD. Trehalose treatment induced autophagy and reduced level of detergent-insoluble α -synuclein, although an apparent alteration was not observed in abnormal aggregation of α -synuclein. These results indicate that the oral intake of trehalose can be a promising treatment for prevention of accumulation of abnormal α -synuclein, especially before aggregation formation.

研究分野：神経内科

キーワード：レビー小体病 α -シヌクレイン オートファジー トレハロース Becl1n1

1. 研究開始当初の背景

約20年前に家族性パーキンソン病の原因遺伝子としてシヌクレイン (α -syn) が同定された。本来 α -syn はシナプス末端に局在するタンパク質であり、神経伝達物質の貯蔵および放出の調節に関与することが示唆されている。一方、レビー小体病 (パーキンソン病、レビー小体型認知症) では、 α -syn の異常蓄積が神経細胞の胞体および神経突起に認められ、さらにタンパク質分解酵素に耐性を示す異常 α -syn が軸索末端に多量に蓄積している。これらの知見から、異常 α -syn の蓄積が神経細胞の機能不全を引き起こし、レビー小体病の病因の一つであると考えられている。

2. 研究の目的

以上の背景を踏まえ、本研究では「異常 α -syn の蓄積を防止、または軽減することでレビー小体病の症状を改善する方法を模索した。特に脳内の代謝を活性化する細胞内分解システム (オートファジー) に着目した。

3. 研究の方法

家族性の点突然変異 (A53T) を導入した α -syn トランスジェニックマウスを用いた。さらにヒトの脳内オートファジーを検討するために、レビー小体病 (パーキンソン病およびレビー小体型認知症) 剖検例を用いた。本研究における動物実験計画は、弘前大学動物実験委員会により承認され、弘前大学実験動物に関する指針に遵って行った。遺伝子組み換え動物使用に当たっての拡散防止処理を踏まえ、組み換え DNA 実験の弘前大学動物倫理委員会の承認を得ている。本研究に使用するヒト剖検脳は本研究室に保管、または新潟大学脳研究所から入手しており、いずれも

書類による倫理上の審査を経て、使用しており問題はない。

4. 研究成果

天然二糖のトレハロースもしくはマルトースを投与したマウス脳内を比較し、以下の結果を報告した。

- (1) オートファジーを調節する分子の一つ Beclin1 の15番目セリン残基をリン酸化することで、オートファジーの活性化がはじまることを見出した
- (2) トレハロース短期投与 (1週間の給水投与) が脳内オートファジーを効率的に活性化した。
- (3) 複数のシャペロン分子 (HSP90、SIGMAR1) が発現亢進した。
- (4) 脳全体の α -syn 量には変化がなかったが、Triton X-100 に不溶性の α -syn が減少した [Biochem Biophys Res Com, 2015]。

ヒト培養細胞および患者検体を用いて、以下の結果を報告した。

- (5) 細胞内の小胞体関連分解を活性化すると細胞内凝集物の形成が有意に抑制された [Neurobiol Dis 2014]。
- (6) ヒトレビー小体病の患者脳内ではオートファゴソーム形成を調節する分子群の異常を見出した [Brain Pathol 2015]。

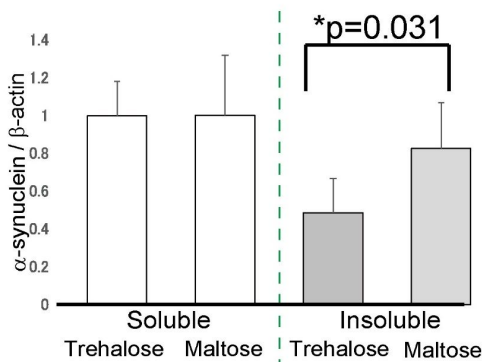


図1 トレハロースもしくはマルトース投与における α -syn への効果 トレハロースまたはマルトースを給水投与（1週間）した。脳内の α -syn 量を定量した。トレハロース投与マウスでは不溶性の α -syn が減少する。

申請者は『細胞内分解システムの活性化』による神経変性疾患の病態改善を目標に研究を進め、計画予定どおり研究は進行した。天然二糖トレハロースは培養細胞およびマウス脳内において効率的にオートファジーを誘導した。しかし、異常凝集に対する効果は限定的であった。

その理由として、今回用いたレビー小体病モデルマウスにあると考えている。つまりこのモデルマウスの脳内では、生後1日から既に異常凝集が認められることが知られている。トレハロースの給水投与は生後8週から始めており、既に凝集した分子に対してトレハロースはあまり効果を発揮できない可能性がある。

現在までに、米国、英国など複数のグループから、トレハロースは神経変性疾患の病態改善に有効との報告がなされている。申請者が今回報告した結果もまたトレハロースが病態改善に有効であると同時に、そのメカニズムの一端を明らかにした。

さらに、患者検体を用いて、早期のオート

ファジー誘導を調節する分子群の異常を併せて報告した。これらの結果は孤発性シヌクレイノパチーの病態解明にむすびつくと同時に治療への標的ともなりえる可能性を秘めている。

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14件）

Ito M, Nakamura K, Mori F, Miki Y, Tanji K, Wakabayashi K, Novel eosinophilic neuronal cytoplasmic inclusions in the external cuneate nucleus of humans, *Neuropathology*, 査読有, 2016

DOI: 10.1111/neup.12292.

Tanji K, Miki Y, Maruyama A, Mori F, Mimura J, Itoh K, Kamitani T, Wakabayashi K, The role of NUB1 in α -synuclein degradation in Lewy body disease model mice, *Biochem Biophys Res Commun*, 査読有, 470, 2016, 635-642

DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.01.093.

Nakamura K, Mori F, Tanji K, Miki Y, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Yamada M, Wakabayashi K, α -Synuclein pathology in the cranial and spinal nerves in Lewy body disease, *Neuropathology*, 査読有, 2015

DOI: 10.1111/neup.12269.

Mori F, Miki Y, Tanji K, Kakita A, Takahashi H, Utsumi J, Sasaki H, Wakabayashi K, Sortilin-related receptor CNS expressed 2 (SorCS2) is localized to Bunina bodies in amyotrophic lateral sclerosis, *Neurosci Lett*, 査読有, 608, 2015, 6-11.

DOI: 10.1016/j.neulet.2015.09.030.

Nakamura K, Mori F, Kon T, Tanji K, Miki Y, Tomiyama M, Kurotaki H, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Yamada M, Wakabayashi K, Accumulation of phosphorylated α -synuclein in subpial and periventricular astrocytes in multiple system atrophy of long duration, *Neuropathology*, 査読有, 36, 2016 157-167

DOI: 10.1111/neup.12243.

Mori F, Tanji K, Miki Y, Toyoshima Y, Yoshida M, Kakita A, Takahashi H, Utsumi J, Sasaki H, Wakabayashi K, G protein-coupled receptor 26 immunoreactivity in intranuclear inclusions associated with polyglutamine and intranuclear

inclusion body diseases, Neuropathology, 査読有, 36, 2016, 50-55

DOI: 10.1111/neup.12237.

Tanji K, Miki Y, Maruyama A, Mimura J, Matsumiya T, Mori F, Imaizumi T, Itoh K, Wakabayashi K, Trehalose intake induces chaperone molecules along with autophagy in a mouse model of Lewy body disease, Biochem Biophys Res Commun, 査読有, 465, 2015, 746-752

DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.08.076.

Miki Y, Tanji K, Mori F, Utsumi J, Sasaki H, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K, Alteration of Upstream Autophagy-Related Proteins (ULK1, ULK2, Beclin1, VPS34 and AMBRA1) in Lewy Body Disease, Brain Pathol, 査読有, 36, 2016, 157-67

DOI: 10.1111/bpa.12297

Kon T, Miki Y, Tanji K, Mori F, Tomiyama M, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Utsumi J, Sasaki H, Wakabayashi K, Localization of nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3 (NR4A3) in Lewy body disease and multiple system atrophy, Neuropathology, 査読有, 35, 2015, 503-509

DOI: 10.1111/neup.12210

Miki Y, Tanji K, Mori F, Sakamoto N, Wakabayashi K, An autopsy case of refractory epilepsy due to unilateral polymicrogyria in a 65-year-old man: Histogenesis of four-layered polymicrogyric cortex, Neuropathology, 査読有, 35, 2015, 569-574

DOI: 10.1111/neup.12219

Nakamura K, Mori F, Kon T, Tanji K, Miki Y, Tomiyama M, Kurotaki H, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Yamada M, Wakabayashi K, Filamentous aggregations of phosphorylated α -synuclein in Schwann cells (Schwann cell cytoplasmic inclusions) in multiple system atrophy, Acta Neuropathol Commun, 査読有, 3, 2015, 29

DOI: 10.1186/s40478-015-0208-0.

Nakamura K, Mori F, Tanji K, Miki Y, Yamada M, Kakita A, Takahashi H, Utsumi J, Sasaki H, Wakabayashi K, Isopentenyl diphosphate isomerase, a cholesterol synthesizing enzyme, is localized in Lewy bodies, Neuropathology, 査読有, 35, 2015, 432-440

DOI: 10.1111/neup.12204.

Miki Y, Tanji K, Mori F, Wakabayashi K. Sigma-1 receptor is involved in degradation of intranuclear

inclusions in a cellular model of Huntington's disease, Neurobiol Dis, 査読有, 74, 2015, 25-31

DOI: 10.1016/j.nbd.2014.11.005.

Tanji K, Odagiri S, Miki Y, Maruyama A, Nikaide Y, Mimura J, Mori F, Warabi E, Yanagawa T, Ueno S, Itoh K, Wakabayashi K, p62 Deficiency Enhances α -Synuclein Pathology in Mice, Brain Pathol, 査読有, 25, 2015, 552-564

DOI: 10.1111/bpa.12214.

〔学会発表〕(計5件)

三木康生、Sigma-1 receptor の蓄積は種々の神経変性疾患の核内封入体に共通する、第55回日本神経病理学会総会学術研究会、2014年6月6日、学術総合センター(東京都・千代田区)

三木康生、Incipient Pick disease の1剖検例、第55回日本神経病理学会総会学術研究会、2014年6月7日、学術総合センター(東京都・千代田区)

MIKI Yasuo、Involvement of the sigma-1 receptor in neuronal nuclear aggregate formation in mutant Huntingtin induced cells, XVIII International Congress of Neuropathology, 2014年9月15日, Rio de Janeiro(Brazil)

三木康生、左大脳半球に広範に多小脳回を認め、てんかんの焦点と考えられた1剖検例、第56回日本神経病理学会総会学術研究会、2015年6月4日、九州大学(福岡県・福岡市)

三木康生、オートファジー関連タンパク質(ULK1、ULK2、VPS34、AMBRA1)はレビー小体の形成過程に関与している、第56回日本神経病理学会総会学術研究会、九州大学(福岡県・福岡市)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三木 康生. (MIKI, Yasuo)

弘前大学大学院医学研究科・助教

研究者番号: 30709142