

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14597

研究課題名(和文) 実験動物アフリカメダカ：老化が抑制されないその魚は自然にパーキンソン病を発症する

研究課題名(英文) African killifish discloses Parkinson-like phenotypes during aging.

研究代表者

松井 秀彰(Matsui, Hideaki)

新潟大学・研究推進機構・准教授

研究者番号：60710853

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：超短命のアフリカメダカが加齢のみでパーキンソン病になることを示し、パーキンソン病の病態の解析に利用した。アフリカメダカのシヌクレインはヒトシヌクレインに対する伝搬性を持っていた。延髄 脊髄接合部レベルでの神経切断やシヌクレインのKOといった処置を行うと、アフリカメダカのドパミン・ノルアドレナリン神経変性は改善された。

研究成果の概要(英文)：Short-lived african killifish disclosed Parkinson-like phenotypes during aging. By utilizing this fish, we showed that propagation of alpha-synuclein of this fish. Dissection of the nervous system or depletion of alpha-synuclein ameliorated Parkinson-like neurodegeneration in this fish.

研究分野：神経科学

キーワード：パーキンソン病

## 1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病はドパミン・ノルアドレナリン神経細胞死を来す神経変性疾患であり、その発症に加齢が重要なファクターを占めていると考えられている。神経細胞死および凝集体の蓄積を主とするその病変は無症状の間に脊髄や腸管神経等の末梢から開始し、加齢とともに中枢へと広がっていく。健常人でも加齢とともにドパミン神経は減少することから、人は長生きをすれば必ずどこかでパーキンソン病を発症するとも言われる。最大にして最重要のファクターである加齢、これを反映するモデルは本来は二律背反である。なぜなら加齢を待てば、研究者の人生もそれだけ長く費やされるからである。そのためか、パーキンソン病は発見から100年の歴史にもかかわらず、未だによいモデルがない！

## 2. 研究の目的

*Nothobranchius furzeri* は脊椎動物で現在最も(あるいは2番目に)短命である。3~5ヶ月で短い一生を終えるサイクルは内因的なものである。つまりこのサイクルは野生のみならず実験室内でも再現される。さらに加齢に伴い、臓器の萎縮、運動能力の低下、脊柱彎曲、癌の発生頻度の上昇、テロメアの短縮、老化関連酸性-ガラクトシダーゼの上昇など、老化の様々な兆候を示す。

申請者はこの老化が抑制されない魚の中で、加齢以外なら特別な処置なしに、ヒトパーキンソン病に酷似した病変が進んでいくことを見いだした。すなわち *Nothobranchius furzeri* は加齢依存性にドパミン・ノルアドレナリン神経の変性を示し、シヌクレイン陽性の凝集体病変は脊髄・腸管自律神経から中枢神経へ連続的に進展した。これはまさにヒトパーキンソン病病理に瓜二つである。この僥倖とも言えるモデルとの遭遇から、今度はその開発・応用・普及の段階に来ている。な

ぜ病変はヒトで、そして *Nothobranchius furzeri* で脊髄下部、あるいは自律神経から始まるのであろうか？そしていかにして病変の進展を食い止めればよいのであろうか？本研究計画では、その2点に挑戦し、ヒトパーキンソン病の病態の理解を飛躍的に進めること、ならびに *Nothobranchius furzeri* の国内バイオリソースとしての普及・発展を目的とする。

## 3. 研究の方法

3-1. パーキンソン病で見られるシヌクレイン陽性の凝集体は、シヌクレインが神経変性に関与しているという説の証拠の一つである。しかしここではまずそこから疑ってみようと思う。本当にシヌクレインは悪者なのであろうか？これまでは適切なモデル作製が難しかったためその検証は困難であった。今やそれは容易である、*Nothobranchius furzeri* のシヌクレインをTALENシステムを使って遺伝的に除去し、ノルアドレナリン神経・ドパミン神経の変性が改善するかどうかを検証する。

3-2. シヌクレインが主かどうかはともかく、病変が脊髄下部や末梢神経から上行することは明らかである。病原が伝搬しているのか、それとも細胞自律的な細胞死がたまたま下部からおこっているのを見ているのか、それを検証するために脊髄切断を行う。魚類は上部脊髄切断後も長期生存が可能であり、*Nothobranchius furzeri* でも同様であることを既に実験的に確認済みである。1ヶ月齢において脊髄切断処置を行い、凝集体の拡大が阻止できるか、そしてノルアドレナリン神経・ドパミン神経の変性をも阻止できるかどうかを検証する。

3-3. 申請者は腸内における炎症や腸内細菌を制御することで、パーキンソン病の開始を

制御できるのではないかと考える。この仮説はいきなりヒトで検証することは難しい。というのは腸内に異常がある段階では、まだ全く神経症状を発症していないからである。しかし *Nothobranchius furzeri* で検証することは容易である。*Nothobranchius furzeri* において腸内細菌を無菌化あるいは低菌化することで、末梢におけるリソソーム機能の低下を防ぎ、もって加齢により発症するパーキンソン病の病変を改善するかどうか検討する。すでにいくつかの小型魚類で無菌の魚は作製されており、卵を次亜塩素酸で滅菌し、飼育水および餌も滅菌し、なおかつ培養細胞と同じレベルの扱いをすることで無菌化をはかる。餌の滅菌は栄養価の低減につながる危険があり、そのために正常に育たない場合は、完全な無菌ではなく低菌状態を目標とする。マウスと同様に、アンピシリン、バンコマイシン、メトロニダゾール、ネオマイシンの4剤を飼育水に混合することで、低菌状態を作り出す。微生物培養による増菌の有無の確認、および 16S rDNA ユニバーサルプライマーを用いた PCR 法による微生物由来核酸の検出、これらにより無菌あるいは低菌の評価を行う。無菌あるいは低菌魚は3ヶ月齢においてコントロールと比較し、神経細胞死や凝集体に差があるかどうか検討する。

#### 4. 研究成果

アフリカメダカのシヌクレインはヒトシヌクレインに対する伝搬性を持っていました。延髄-脊髄接合部レベルでの神経切断やシヌクレインの KO といった処置を行うと、このドパミン・ノルアドレナリン神経変性は改善されました。また無菌化処置も神経細胞死や凝集体形成を抑制しました。

#### 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6件)

Matsui, H.\*, Ryosuke, T. Parkinson's Disease pathogenesis from the viewpoint of small fish models. J Neural Transm 125(1):25-33, 2018.

Matsui, H.\*, Matsui, N. Cerebrospinal fluid injection into adult zebrafish for disease research. J Neural Transm 124(12):1627-1633, 2017.

Matsui, H.\*, Sugie, A. An optimized method for counting dopaminergic neurons in zebrafish. Plos One 12(9): e0184363, 2017.

Matsui, H.\* Dopamine system, cerebellum, and nucleus ruber in fish and mammals. Dev Growth Differ 59(4): 219-227, 2017.

Matsui, H.\* The Use of Fish Models to Study Human Neurological Disorders. Neurosci Res 120: 1-7, 2017. (Cover article)

Sugie, A., Möhl, C., Hakeda-Suzuki, S., Matsui, H., Suzuki, T., Tavosanis, G. Analyzing synaptic modulation of Drosophila photoreceptors after exposure to prolonged light. J Vis Exp 120 (2017).

[学会発表](計2件)

Matsui H. An Annual Killifish, *Nothobranchius furzeri*, Suffers From Parkinson's Disease. *International Meeting on Non-Mammalian Models in Biomedical Research*, Mangarole, India, Nitte University, 2017/10/4-5 (Invited speaker) (JSPS 平成29年度二国間交流事業)

Matsui H. Annual killifish, *Nothobranchius furzeri*, discloses Parkinson's disease phenotypes. **XXIII World Congress of Neurology**, Kyoto, Kyoto International Conference Center, 2017/9/16-2017/9/21 (Poster presentation)

**Matsui H.** アフリカメダカは加齢とともにパーキンソン病に罹患する: Annual killifish discloses Parkinson's disease phenotypes **第40回神経科学学会** 千葉 幕張メッセ 2017/7/20~23 (ポスター発表)

**Matsui H.** Teleost fish models of Parkinson's disease. *Symposium: Basal Ganglia in Health and Disease (Satellite Symposium of Neuroscience 2016)*, Yokohama, PACIFICO Yokohama, 2016/7/19 (Invited speaker)

**Matsui H.** 小型魚類を用いた神経疾患研究 **第57回神経学会** 神戸 神戸国際会議場 2016/5/18~21 (Hot Topics シンポジウム: 神経疾患解明のためのモデル動物: 線虫から霊長類モデルまで)

**Matsui H.** Time course and Progression of Parkinson's Disease in Small Fish. *Chronological change in Brain function Symposium*, Chiba, Chiba University Inohana Campus, 2016/3/8 (Invited speaker)

**Matsui H.** 小型魚類の神経系のヒトとの類似と相違 **第38回日本分子生物学会** 神戸 神戸国際会議場 2015/12/1-4 (一般口演、ポスター発表)

[ 図書 ] ( 計 2 件 )

**松井秀彰\***. 興奮毒性. **パーキンソン病(第2版)-基礎・臨床研究のアップデート-**

**松井秀彰\***. 小型魚類を用いた神経精神疾患研究. *ブレインサイエンス・レビュー2017* 253-270, 2017 (2/15 発行)

[ その他 ]

ホームページ等

[http://www.bri.niigata-u.ac.jp/~neuroscience\\_of\\_disease/index.html](http://www.bri.niigata-u.ac.jp/~neuroscience_of_disease/index.html)

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

松井秀彰 ( MATSUI, Hideaki )

新潟大学 研究推進機構 准教授

研究者番号 : 60710853