

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06712

研究課題名(和文) シナプスにおけるミトコンドリア機能不全に応答する核への情報伝達経路の解明

研究課題名(英文) Mechanisms underlying neuronal dysfunction and degeneration caused by loss of presynaptic mitochondria

研究代表者

飯島 香奈絵(安藤香奈絵)(Ando, Kanae)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：40632500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：脳の神経細胞は突起を伸ばして情報を送る。他の細胞との接触の場所「シナプス」ではエネルギーが必要なので、エネルギーを作る小器官「ミトコンドリア」が細胞体から運ばれる。ミトコンドリアがシナプスから不足すると神経細胞が機能せず、そのうち死んでしまう。しかしミトコンドリアをシナプスから不足させると分子レベルで何が起きているかはわかっていない。本研究では、ミトコンドリアが不足することでおきる神経細胞死に関わる因子を複数見つけた。シナプスでのミトコンドリアの欠乏はアルツハイマー病などの発症にも関わるため、これらの発見は、予防・治療法開発の手掛かりとなる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Brain nerve cells extend long processes to communicate with other cells. The contact sites are called synapses and demand energy supply to function. To meet the energy demands, mitochondria, tiny powerhouses in the cell, are transported from the cell body of the nerve cells. Depletion of mitochondria from the cells disrupts neuronal functions and eventually causes neuronal death. However, how the loss of synaptic mitochondria leads to neuronal death is not known. To elucidate the underlying molecular mechanisms, we used transgenic fruit fly to deplete mitochondria from synapses. We identified several molecules that are involved in neuronal dysfunction and cell loss triggered by loss of synaptic mitochondria. Since the loss of synaptic mitochondria is associated with neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, these findings may lead to development of a cure.

研究分野：神経科学、分子生物学、細胞生物学

キーワード：ミトコンドリア 神経細胞死 加齢 軸索輸送 エネルギー代謝 神経変性疾患

1. 研究開始当初の背景

神経細胞は、情報伝達のために特化した形態を持つ。情報を他の細胞に出力するために細胞体から軸索が伸び、その長さは1メートル以上にわたることもある。軸索の先端にあるシナプス終末は、神経情報伝達のための基地として働く。一方、細胞体は核に格納された遺伝情報を適宜読み出してタンパク合成や分解を行う作戦本部として機能する。

細胞小器官ミトコンドリアは、エネルギー産生に加え、カルシウム濃度の調節、シグナリング、脂質や核酸合成など細胞に必須な役割を担う。ミトコンドリアは軸索内を能動的に輸送され、シナプスに分布する。近年、ミトコンドリアの神経軸索内輸送を担う分子メカニズムが発見され、それに伴ってミトコンドリア分布の神経細胞機能における重要性が明らかになってきた。さらに家族性神経変性疾患の原因遺伝子の多くがミトコンドリアの輸送やダイナミクスに関与することが報告され、ミトコンドリアのシナプス終末からの減少は、多くの神経変性疾患に共通して脳機能低下と神経細胞死につながるプロセスであると考えられる。しかし、シナプス前終末での局所的なミトコンドリア欠乏に対して、神経細胞がどのような反応を示し、それらが神経変性に対してどのような役割を持つのかは明らかではなかった。

2. 研究の目的

シナプス前終末でのミトコンドリア減少によって引き起こされる変化を明らかにし、それらが誘導されるメカニズムと、またそれらがどのように加齢依存性神経機能低下と神経変性に対して関与するかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

遺伝子工学の成果やゲノム情報が利用できるショウジョウバエを用いて、シナプス前終末に分布するミトコンドリアの減少による変化を調べるためのモデル系を確立した。このショウジョウバエでは、ミトコンドリアの軸索輸送に特異的に関与する遺伝子ミルトンまたはミロがノックダウンされているため、シナプス前終末のミトコンドリアの数が減少しているが、細胞体のミトコンドリア、またミトコンドリア以外の軸索輸送は正常である。このショウジョウバエは、加齢依存的に神経軸索の変性がおきる。このモデルで、遺伝子発現解析、イメージング、また候補遺伝子のノックダウンや過剰発現を行った。

4. 研究成果

まず、ミトコンドリアの主な機能である ATP 産生に注目した。ATP バイオセンサーによるイメージングから、脳神経細胞の細胞体で加齢に伴い ATP 量が減少することを見出した。また、神経細胞でグルコース取り込みを増加させると、ATP 低下が抑制され、神経機能も改善できた。イメージング、電子顕微鏡解析、遺伝子発現解析、メタボローム解析から、ATP 量の加齢による低下は解糖系の変化によることが示唆された。

また、ミトコンドリアは Ca^{2+} 濃度の調節を担う。ミトコンドリアを軸索終末から減少させると、 Ca^{2+} で活性化される CaMKII の活性が増加した。CaMKII を阻害するとさらに神経細胞死が悪化したことから、CaMKII 活性化は保護的な反応と考えられた。一方、CaMKII の恒常的活性型の発現により神経細胞死がおきたため、恒常的なミトコンドリア欠乏により CaMKII の活性増加が続くと神経細胞死がおきる可能性が示唆された。

さらに、遺伝子発現解析からシナプスからの情報に核で反応する可能性のある転

写因子の候補として estrogen-related receptor (ERR)を同定した。ERR 遺伝子の欠損により、滑面小胞体の蓄積と加齢に伴う軸索変性が見られたことから、ERR が加齢に対して神経細胞を維持する役割を担うことがわかった。

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)

1. Sekiya, M., Wang M, Fujisaki. N., Sakakibara, Y., Quan, X., Michelle E.De Jager PL., David BA., Schadt, EE., Gandy, S., Ando, K., Zhang, B., Iijima, KM.

‘ Integrated biology approach reveals molecular and pathological interactions among Alzheimer ’ s A 42, Tau, TREM2, and TYROBP in Drosophila models ’
Genome Medicine, 査読有, 2018, 26, DOI: 10.1186/s13073-018-0530-9

2. Oka, M., Iijima, K.M. and Ando, K.
‘ Loss of synaptic mitochondria and dementia. ’ 実験医学 2017, 35(12)

3. Oka Mikiko, Fujisaki Naoki, Maruko-Otake Akiko, Ohtake Yosuke, Shimizu Sawako, Saito Taro, Hisanaga Shin-Ichi, Iijima Koichi M, Ando Kanae ‘ Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II promotes neurodegeneration caused by tau phosphorylated at Ser262/356 in a transgenic Drosophila model of tauopathy ’
The Journal of Biochemistry 査読有 2017, 162, p335~ 342

4. Sekiya Michiko, Maruko-Otake Akiko, Hearn Stephen, Sakakibara Yasufumi, Fujisaki Naoki, Suzuki

Emiko, Ando Kanae, Iijima Koichi M. E ’ DEM Function in ERAD Protects against Chronic ER Proteinopathy and Age-Related Physiological Decline in Drosophila ’,
Developmental Cell, 査読有 2017, 41, 652 ~ 664.e5

5. Ando, K., Oka, M., Ohtake, Y., Hayashishita, M., Shimizu, S., Hisanaga, S., and Iijima, K.M.* Tau phosphorylation at Alzheimer's disease-related Ser356 contributes to tau stabilization when PAR-1/MARK activity is elevated.
[Biochemical and Biophysical Research Communications](#), 査読有 2016, 478(2) Pages 929-934

6. Ando, K., Maruko-Otake, A., Ohtake, Y., Hayashishita, M., Sekiya, M., and Iijima, K. M. Stabilization of microtubule-unbound tau via tau phosphorylation at Ser262/356 by Par-1/MARK contributes to augmentation of AD-related phosphorylation and A 42-induced tau toxicity. *PLoS Genetics* 査読有 (2016) 12(3): e1005917. doi:10.1371/journal.pgen.1005917

[学会発表](計 15 件)

1. K. Shinno , M. Oka , S. Hisanaga , E. Suzuki , K.M. Iijima , K. Ando (2018)
Roles of CaMKII in neurodegeneration caused by depletion of presynaptic mitochondria. 59th Annual Drosophila Research Conference, April 2018, Philadelphia

2. M. Oka , E. Suzuki , S. Hisanaga , KM. Iijima , K Ando. (2018)
Increasing glucose uptake in Drosophila brain neurons suppresses the reduction in

ATP levels and rescues the decline in neuronal function during aging. 59 Annual Drosophila Research Conference.

3. Mikiko Oka, Emiko Suzuki, Hiromi Imamura, Shin-ichi Hisanaga, Koichi M. Iijima and Kanae Ando (2017) 'Increasing glucose uptake suppresses age-dependent reductions in ATP levels in brain neurons and behavioral deficits in Drosophila' December 5, 2017 ASCB/EMBO 2017 meeting, Philadelphia, USA

4. Mikiko Oka, Emiko Suzuki, Shin-Ichi Hisanaga, Koichi Iijima, and Kanae Ando, (2017) Mechanisms underlying age-dependent reduction in ATP levels in Drosophila brain neurons. 第40回日本神経科学大会

5. Ando*, K., Oka, M., Maruko-Otake, A., Ohtake, Y., Sekiya, M., Hisanaga, S., Iijima, K.M. (2017) CaMKII enhances tau-mediated neurodegeneration downstream of tau phosphorylation in transgenic Drosophila models of tauopathy. The 4th Asia-Pacific Drosophila Research Conference, Suita, Osaka, Japan

6. Oka, M., Suzuki, E., Hisanaga, S., Iijima, K.M., Ando, K. (2017) Mechanisms underlying age-dependent reduction in ATP levels in Drosophila brain neurons. The 4th Asia-Pacific Drosophila Research Conference, Suita, Osaka, Japan.

7. Oka, M., Suzuki, E., Hisanaga, S., Iijima, K. M., Ando., K. (2016) Reduction in ATP levels in the axon during aging and the role of mitochondrial distribution. "

59th Annual Meeting of The Japanese Society for Neurochemistry (Sep. Fukuoka)

8. Oka, M., Suzuki, E., Hisanaga, S., Iijima, K. M, and Ando., K. (2016) Reduction in ATP levels in the axon during aging and the role of mitochondrial distribution. Society for Neuroscience's the 46th annual meeting, (Nov. San Diego, USA,)

9. Ando, K., Maruko-Otake, A., Hayashishita, M., Oka, M., Ohtake, Y., Sekiya, M., Saito, T., Hisanaga, S., Iijima, K. M. (2016) Sustained activation of CaMKII caused by depletion of mitochondria from the axon enhances tau toxicity. 46th annual meeting of Society for Neuroscience (Nov. San Diego, USA)

10. 安藤 香奈絵 (2015) 「Microtubule-affinity-regulating-kinase (MARK)/PAR-1によるタウのリン酸化は異常タウの蓄積を引き起こす」2015 タウ研究ミーティング (9月、京都)

11. Ando, K.*, Hayashishita, M., Oka, M., Maruko-Otake, A., Ohtake, Y., Iijima, K.M. (2015) "Tau phosphorylation via microtubule affinity regulating kinase MARK/PAR1 as an initial step in the pathological cascade leading to neurodegeneration" The 58th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry (September, Omiya)

12. Ando, K.*, Maruko-Otake, A., Ohtake, Y., Hayashishita, M., Sekiya, M. and Iijima, K. M. (2015) "Pathological stabilization of tau through phosphorylation at

Ser262/356 by Par-1/MARK contributes to abnormal metabolism and toxicity of tau caused by A 42” The 1st International Symposium of “Brain Protein Aging and Dementia Control” (October, Nagoya)

13. 安藤 香奈絵 (2015)

「 Microtubule-affinity-regulating-kinase(MARK)/PAR-1 によるタウのリン酸化は異常タウの蓄積を引き起こす」2015 タウ研究ミーティング 招待講演

14. Motoki Hayashishita, Akiko Maruko-Otake, Yosuke Ohtake, Michiko Sekiya, Koichi M. Iijima and Kanae Ando. (2015) “ Sustained activation of Ca MKII mediates enhancement of tau toxicity caused by depletion of mitochondria from the axon. 38th Annual meeting for the Molecular Biology Society in Japan.

15. Mikiko Oka, Akiko Maruko-Otake, Yosuke Ohtake, Naoya Yamaguchi, Michiko Sekiya, Koichi M, Iijima, Kanae Ando. “ Sustained activation of CaMKII mediates neurodegeneration caused by depletion of axonal mitochondria ” 38th Annual meeting for the Molecular Biology Society in Japan.

〔図書〕(計 1 件)

Neuromethods, Chapter: Electron microscopy of the brains of Drosophila Models of Alzheimer’s disease. DOI 10.1007/7657_2015_75,

〔その他〕

ホームページ：首都大学東京神経分子機能研究室

www.biol.se.tmu.ac.jp/labo.asp?ID=neuro

l

6 . 研究組織

(1)研究代表者

安藤 香奈絵 (Ando Kanae)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：40632500