

令和元年6月25日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06786

研究課題名(和文) Arctic A によるCHRNA7を介したアルツハイマー病発症の分子メカニズム

研究課題名(英文) Molecular mechanism of Arctic mutant type of Alzheimer's disease via CHRNA7

研究代表者

澤村 直哉 (Sawamura, Naoya)

早稲田大学・ナノ・ライフ創新研究機構・上級研究員(研究院教授)

研究者番号：40449351

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：Arctic A がCHRNA7 の関わる神経細胞の機能である、神経細胞死抑制効果と記憶の分子メカニズムを阻害しているという仮説を立て研究を行った。CHRNA7過剰発現している神経細胞に細胞死を誘導した時に、Arctic A およびニコチンを投与した際の影響を検証した。この結果、細胞死誘導に対しニコチン投与を行うと細胞死の抑制が観察されたが、Arctic A の追加投与によりこの細胞死抑制効果が阻害された。さらに、その下流シグナルへの影響として、ERK1/2 の活性化がCHRNA7の神経保護作用に関与していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、Arctic A が選択的にCHRNA7 に結合し、ニューロンにおけるCHRNA7 の機能である神経細胞死抑制効果を阻害しているという研究成果を得ることができた。Arctic A のCHRNA7 への結合部位が創薬のターゲットである可能性があり、今後はこの結合の阻害物質の同定が必要となる。このように基礎研究によるアルツハイマー病の原因解明ならびに創薬ターゲットを示唆した研究成果となった。

研究成果の概要(英文)：The study was made based on the hypothesis that Arctic A inhibits the neuroprotective function and the molecular mechanism of memory, which is the function of CHRNA7. CHRNA7-overexpressing neuronal cells were used to examine the effects of Arctic A on CHRNA7. As a result, suppression of cell death was observed when nicotine was added to the cells, but addition of Arctic A inhibited the neuroprotective effect. Furthermore, we revealed that ERK1/2 activation is involved in the neuroprotection of CHRNA7 as its downstream signal.

研究分野：神経化学

キーワード：精神・神経疾患の病態と治療

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会を迎えた現在、アルツハイマー病(Alzheimer's disease; AD)は増加する一方であり、その原因・メカニズムの解明と予防・治療法の開発が待ち望まれている。本研究では、家族性ADのうち、アミロイドβタンパク(Amyloid β protein; Aβ)内にアミノ酸残基の変異が見られ、脳実質に変異型Aβの蓄積が見られるArctic型変異(E22G)に着目して研究を行う。申請者らは先行研究により、Arctic Aβが選択的にCHRNA7に結合し、その機能を阻害する事を明らかにした。本研究ではArctic AβがCHRNA7の関わる神経細胞の機能である、神経細胞死抑制効果と記憶の分子メカニズムを阻害しているという仮説を立て研究を行う。これにより、ADの病態に関連する分子メカニズムの解明に大きく寄与することが期待されるとともに、Arctic AβとCHRNA7の結合を阻害する物質の探索も行う事で、ADの予防・治療法への貢献も目指す。

## 2. 研究の目的

CHRNA7を発現していない神経細胞のシナプスモデル細胞にCHRNA7を発現させてArctic Aβの結合様式、結合部位を明らかにするとともに、この結合を阻害する物質の探索を行う。また、Arctic Aβ投与によるCHRNA7の神経細胞死抑制効果への影響を調べる。内在性のCHRNA7の機能を調べるため、RNAiやCHRNA7の阻害剤を用いることにより、Arctic AβのCHRNA7への結合が生体機能の阻害に重要であるのかを検証する。

## 3. 研究の方法

CHRNA7を特異的に発現するプレシナプス類似神経細胞を作製し、Arctic AβとCHRNA7の相互作用とそれを阻害する物質の探索を行った。さらにこの細胞を用いてCHRNA7の神経細胞死抑制効果に対するArctic Aβの影響を調べた。また、CHRNA7-Arctic Aβの結合を阻害する物質を投与して神経細胞死抑制を回復させる物質の同定を試みた。以上の研究により、Arctic Aβによる、CHRNA7のより生体に近い機能である記憶の分子メカニズムへの関与と神経細胞死抑制効果への影響について検討を行い、ADの発症メカニズムを明らかにするとともに、その発症を遅らせる物質の探索も試みた。

## 4. 研究成果

CHRNA7の神経細胞死抑制効果に対するArctic Aβの影響について検討を行った。まず、神経芽細胞腫であるSH-SY5Y細胞が、細胞死誘導に対するCHRNA7を介した抵抗性(神経保護作用)を持つことを示した。次にCHRNA7過剰発現細胞を用いて、神経細胞死を誘導した時にArctic Aβおよびニコチンを投与した際の影響を検証した。この結果、細胞死誘導に対しニコチン投与を行うと細胞死の抑制が観察されたが、Arctic Aβの投与によりこの細胞死抑制効果が阻害された。さらに、その下流シグナルへの影響を調べるため、神経保護作用に関わる様々なシグナルについて検討を行った。このうち、ERK1/2のみがニコチンで活性化し、Arctic Aβによりこの活性が抑制されることが明らかとなった。最後に、ERK1/2の選択的抑制剤の投与実験を行うことにより、ERK1/2の活性化がCHRNA7の神経保護作用に関与していることを明らかにした。以上の解析を終了し、論文発表を行った(文献 )。また、最終年度にはこれまで論文発表した内容について総括を行い、総説を英文雑誌に発表した(文献 )。その内容は、AβがCHRNA7に結合しないのに対して、Arctic Aβが高親和性でCHRNA7と特異的に結合し、CHRNA7存在下において、Arctic Aβの凝集が亢進することと、Arctic Aβは、CHRNA7の機能を抑制し、細胞内カルシウムイオンの上昇の抑制、Extracellular-signal-regulated kinase (ERK1/2)の活性化の阻害をすること、さらに、Arctic AβがCHRNA7に結合・凝集する事により、その機能である神経細胞死抑制効果への関与を阻害していること、このうち神経細胞死抑制効果への影響として、CHRNA7の活性化からその下流のシグナルについて検証したことについて総括を行い、考察と今後の展望について記述した。

## 5 . 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計2件)

Naoya Sawamura, Ye Ju, Toru Asahi. Cholinergic receptor, nicotinic, alpha 7 as a target molecule of Arctic mutant amyloid  $\beta$ . *Neural regeneration research* **13**, 1360-1361 (2018) , 査読有り

Ye Ju, Toru Asahi, Naoya Sawamura. Arctic A $\beta$ 40 blocks the nicotine-induced neuroprotective effect of CHRNA7 by inhibiting the ERK1/2 pathway in human neuroblastoma cells. *Neurochemistry international* **110**, 49-56 (2017) , 査読有り

### 〔学会発表〕(計3件)

Ye Ju, Toru Asahi, Naoya Sawamura (2016). "Inhibition of Arctic A $\beta$  on nicotine-induced neuroprotective function through CHRNA7", 第39回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜

Naoya Sawamura (2016). Arctic mutant amyloid  $\beta$  protein inhibits the functions of  $\alpha$ 7 nicotinic acetylcholine receptors through specific binding : SFB645-Symposium, Bad Breisig, Germany.

Ye Ju, Toru Asahi, Naoya Sawamura (2015). "Determination of the key domains of CHRNA7 in the interacting actions of Arctic mutant A $\beta$ ", 第58回日本神経化学学会大会, 大宮ソニックシティ.

### 〔図書〕(計 件)

#### 〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

#### 〔その他〕

ホームページ等

<http://asahi-lab.jp/member/staff/sawamura.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。