

令和元年6月12日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10213

研究課題名(和文) アルツハイマー病におけるシグマ1受容体の関与とそれに基づいた治療法開発の研究

研究課題名(英文) Involvement of sigma 1 receptor in Alzheimer's disease and treatment development based on it

研究代表者

工藤 喬 (Kudo, Takashi)

大阪大学・キャンパスライフ健康支援センター・教授

研究者番号：10273632

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、シグマ1受容体(Sig1R)が小胞体(ER)ストレスのPERK-eIF2⁻-ATF4経路を介して転写的にアップレギュレートされ、そして細胞死シグナル伝達を改善することを示した。フルボキサミン(Flv)は、Sig1Rに対して高い親和性を有する選択的セロトニン再取り込み阻害剤である。本研究では、Flvが、PERK経路の関与なしに、それ自身の活性化を通じて直接ATF4翻訳を増加させることによってSig1R発現を誘導することを示した。このSig1RのFlv媒介誘導は、ERストレスから生じる神経細胞死を防ぐことがしめされ、新たなアルツハイマー病治療法への応用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病をはじめとする認知症の治療法確立は、高齢化社会を迎え、喫緊の課題である。しかしながら、現在までのところ根本治療法は確立されていない。一方、多くの認知症発症の機序として小胞体ストレスの関与が示唆されている。本研究はシグマ1受容体が小胞体ストレス反応による細胞死を抑制する効果を持つことを示し、これに基づいた治療法開発の可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：We have shown that Sig-1R is transcriptionally upregulated via the PERK / eIF2a / ATF4 pathway of endoplasmic reticulum (ER) stress and improves cell death signaling. Fluvoxamine (Flv) is a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) with high affinity for Sig-1R. In the present study, it was shown that Flv induces Sig-1R expression by directly increasing ATF4 translation through its own activation, without involvement of the PERK pathway. This Flv-mediated induction of Sig-1R has been shown to prevent neuronal cell death resulting from ER stress, and is expected to be applied to a new treatment for Alzheimer's disease.

研究分野：神経化学

キーワード：小胞体ストレス シグマ1受容体 フルボキサミン アルツハイマー病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会を迎え、認知症の治療法確立は社会的に重要な課題である。認知症の中でも最も有病率の高いアルツハイマー病 (AD) に関しては「アミロイドカスケード仮説」に基づき、ワクチン療法などが考案され、近年世界的に臨床治験が進められている。しかしながら、今までのところ、治験をクリアした薬剤はなく、「アミロイド仮説」からのパラダイムシフトの必要性も示唆されている。

一方、我々は従来から小胞体 (ER) ストレスがアルツハイマー病の病態に大きくかかわっていることを指摘してきた (Nat Cell Biolog, 8, 479-485, 1999)。

本研究では、AD 治療法のパラダイムシフトとして、小胞体ストレスを基盤とした治療法開発を目指す。

2. 研究の目的

シグマ1受容体 (Sig1R) は ER 膜上に存在し、ER ストレスとの関連が示唆されている。従って、本研究では、ER ストレスと Sig1R の関連、Sig1R 誘導の生理的意義、さらには Sig1R に親和性の高いフルボキサミン (Flv) の ER ストレスに対する効果について検討し、新たな AD 治療法開発へのヒントを示すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) Sig1R と ER ストレスの関連の検討

HEK 293 細胞をツニカマイシンで処理して、ER ストレスを 15、30、60、および 120 分間誘導し、イムノプロット分析した。ER ストレスの誘導をモニターするために、PERK-eIF2a 経路の活性化ならびに ATF4 および BiP の誘導を観察した (Grp78 および Grp94)。

(2) Sig1R 誘導の生理的意義の検討

カスパーゼは、アポトーシス過程の主な執行タンパク質のファミリーである。カスパーゼ4は ER ストレス特異的 Caspase と考えられている。HEK293 細胞で Sig1R トランスフェクタントと偽トランスフェクタントを作成し、ER ストレスにおけるカスパーゼ4のプロセッシングを比較した。

(3) Flv の Sig1R 誘導の検討

Sig1R 発現に対する Flv の効果を、Flv 添加後の Neuro2a 細胞における Sig1R タンパク質発現をイムノプロット分析によって調べた。また、Neuro2a 細胞を 2~24 時間 Flv で処理し、mRNA を抽出し、半定量的および定量的 PCR を行った。

Flv が ATF4 に及ぼす影響の分子メカニズムを調べるために、Neuro2a 細胞を Flv で、単独で、または Sig-1R アンタゴニストである NE-100 と組み合わせ、さまざまな時間処理し検討した。

(4) Flv の ER ストレスによる細胞死抑制効果の検討

Neuro2a に、Flv、パロキセチン (他の SSRI) NE-100 存在下で、ツニカマイシン刺激で ER ストレスを負荷し、LDH アッセイで細胞死を分析した。

脳虚血は ER ストレスを誘発するので、中大脳動脈閉塞 (MCAO) モデルをインビボ実験系として使用して、Flv を腹腔内注入して効果を検証した。

4. 研究成果

(1) Sig1R と ER ストレスの関連の検討

ツニカマイシンで処理した後、Sig1R 発現は直ちにそして劇的に誘導された。この上昇は 30 分以内に観察され、そして 60 分後にピークに達した。そして、PERK のリン酸化と eIF2a のリン酸化は 30 分以内に観察された。これらの結果に加えて、ATF4 の翻訳も 60 分以内に活性化された。

(2) Sig1R 誘導の生理的意義の検討

我々は、Sig1R を安定的に発現する HEK 293 細胞を作製した。カスパーゼ4は、コントロールにおいてツニカマイシン処理後に活性化されたが、Sig1R トランスフェクタントでは、活性化カスパーゼ4は顕著に減少した。この結果は、Sig1R の誘導がカスパーゼ4プロセッシングを阻害して細胞死シグナル伝達を改善することを示している。

(3) Flv の Sig1R 誘導の検討

経時的分析は、Sig1R タンパク質発現が Flv 処理にตอบสนองして増加することを実証した。Flv 処理にตอบสนองした転写レベルでの Sig1R 発現の変化を調べた。

Sig1R mRNA レベルは、12時間および24時間の Flv 処理後にそれぞれ32%および28%増加した。比較すると、アクチン mRNA の量に変化は観察されず、Flv は転写レベルで Sig1R 発現を誘導したことを示している。

Flv 単独で処理した細胞で観察された ATF4 タンパク質発現の増加は、NE-100 で処理した細胞で急激に弱まった。

(4) Flv の ER ストレスによる細胞死抑制効果の検討

Flv とツニカマイシンの処置は、ツニカマイシン単独による処置と比較した場合、細胞傷害性を低下させた。対照的に、パロキセチンとツニカマイシンの処理では、細胞傷害性の低下は検出されなかった。また、NE-100 とツニカマイシンの処置は Flv の効果を無効にした。これらの観察は、Flv が Sig1R を介して ER ストレス媒介アポトーシスを抑制することを示している。

MCAOの24時間後、大脳皮質スライスを各マウスからサンプリングした。前脳は5つの冠状の2mm切片に分け、切片をTTCで染色し、デジタルカメラで撮影した切断面の写真から、脳梗塞巣の面積を画像解析ソフトウェアで測定した。梗塞病変の面積を比較すると、Flv処置マウスにおける脳梗塞病変の面積は、偽薬群マウスにおける面積よりも小さかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計17件)

赤嶺祥真、工藤 喬: 認知症と小胞体(ER)ストレス応答、老年精神医学雑誌 28: 153-161, 2017

工藤 喬: 高齢者で使いにくい向精神薬、使いやすい向精神薬、精神科治療学 32 増刊号「高齢者のための精神科医療」109 - 113、2017

工藤 喬: 脳科学からみた認知行動療法の効果と学生のメンタルヘルスへの応用、精神療法 増刊第4号 70 - 76、2017

工藤 喬: 糖尿病と認知症臨床精神医学 46: 1421 - 1427, 2017

金山大祐、工藤 喬: 認知症の薬物療法、臨床精神医学 46: 1429-1434, 2017

工藤 喬: 認知行動療法に関連する脳領域、日精協誌 36: 39-44, 2017

丸谷典子、工藤 喬: アルツハイマー病治療薬の現状 抗認知症薬の有効性と限界、認知症の最新医療 7(4) 2017

Kabeshita Y, Adachi H, Matsushita M, Kanemoto H, Sato S, Suzuki Y, Yoshiyama K, Shimomura T, Yoshida T, Shimizu H, Matsumoto T, Mori T, Kashibayashi T, Tanaka H, Hatada Y, Hashimoto M, Nishio Y, Komori K, Tanaka T, Yokoyama K, Tanimukai S, Ikeda M, Takeda M, Mori E, Kudo T, Kazui H, Sleep disturbances are key symptoms of very early stage Alzheimer disease with behavioral and psychological symptoms: a Japan multi-center cross-sectional study(J-BIRD), Int J Geriatr Psychiatry, 査読有、21巻、2017、222-230 DOI: 10.1002/gps.4470

Yamashita N, Kuzuoka H, Hirata K, Kudo T, Aramaki E, Hattori K, Changing Moods: How Manual Tracking by Family Caregivers Improves Caring and Family Communication., CHI, 査読有、May、2017、103-109 DOI:なし

Tagami S, Yanagida K, Kodama TS, Takami M, Mizuta N, Oyama H, Nishitomi K, Chiu YW, Okamoto T, Ikeuchi T, Sakaguchi G, Kudo T, Matsuura Y, Fukumori A, Takeda M, Ihara Y, Okochi M., Semagacestat Is a Pseudo-Inhibitor of α -Secretase, Cell Rep, 査読有、21巻、2017、259-273 DOI: 10.1016/j.celrep.2017.09.032

Mizuta N, Yanagida K, Kodama T, Tomonaga T, Takami M, Oyama H, Kudo T, Ikeda M, Takeda M, Tagami S, Okochi M, Identification of Small Peptides in Human Cerebrospinal Fluid upon Amyloid- β Degradation, Neurodegener Dis, 査読有、17巻、2017、103-109 DOI:なし

Tanaka H, Adachi H, Ukita N, Ikeda M, Kazui H, Kudo T, Nakamura S, Detecting Dementia Through Interactive Computer Avatars, IEEE J Transl Eng Health Med. 2017 Sep 15;5:2200111

Yasuno F, Kudo T, Yamamoto A, Matsuoka K, Takahashi M, Iida H, Ihara M, Nagatsuka K, Kishimoto T, Significant correlation between openness personality in normal subjects and brain myelin mapping with T1/T2-weighted MR imaging, Heliyon, 2017 Sep 22;3, e00411.

Matsuoka K, Yasuno F, Kishimoto T, Yamamoto A, Kiuchi K, Kosaka J, Nagatsuka K, Iida H, Kudo T, Microstructural Differences in the Corpus Callosum in Patients with Bipolar Disorder and Major Depressive Disorder, J Clin Psychiatry. 2017 Jan;7899-104

Yasuno F, Kudo T, Matsuoka K, Yamamoto A, Takahashi M, Nakagawara J, Nagatsuka K, Iida H, Kishimoto T, Interhemispheric functional disconnection because of abnormal corpus callosum integrity in bipolar disorder type II, BJ Psych Open, 2016 Nov 1;2(6),335-340

Miyata S, Taniguchi M, Koyama Y, Shimizu S, Tanaka T, Yasuno F, Yamamoto A, Iida H, Kudo T, Katayama T, Tohyama M, Association between chronic stress-induced structural abnormalities in Ranvier nodes and reduced oligodendrocyte activity in major depression, Sci Rep, 2016 Mar 15;6,23084.

Yasuno F, Kazui H, Morita N, Kajimoto K, Ihara M, Taguchi A, Yamamoto A, Matsuoka K, Kosaka J, Kudo T, Iida H, Kishimoto T, Nagatsuka K, High amyloid- β deposition related to depressive symptoms in older individuals with normal cognition: a pilot study, Int J Geriatr Psychiatry, 2016 Aug;31(8),920-8

[学会発表](計0件)

[図書](計1件)

〔産業財産権〕

出願状況（計0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0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

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。