

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：32305

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12894

研究課題名(和文)末梢性BDNF遺伝子発現を利用した神経伝達物質受容体活性評価およびうつ病治療戦略

研究課題名(英文)Role of brain-derived neurotrophic factor expression in peripheral tissues

研究代表者

福地 守 (Fukuchi, Mamoru)

高崎健康福祉大学・薬学部・准教授

研究者番号：40432108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：脳由来神経栄養因子BDNFは、記憶学習などの高次脳機能発現に必須の因子であり、その発現は脳で高く認められる。研究代表者は、ホタルの発光酵素ルシフェラーゼを利用してBDNF発現変化を可視化可能なトランスジェニックマウス「BDNF-Lucマウス」を用いて、BDNFが皮膚(ケラチノサイト)や脂肪組織などの末梢組織にも発現していることを明らかにした。特に脂肪組織におけるBDNF発現は、高脂肪食給餌によって顕著に増加した。このBDNF発現増加は、体重変化とよく相関していたことから、BDNFは、肥満の病態形成に関わる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is highly expressed in the CNS and contributes to expressing a variety of neural functions including memory consolidation. Here, using a novel transgenic mouse strain, termed BDNF-Luc mouse, I found that BDNF was also expressed in peripheral tissues such as skin (keratinocytes) and adipose tissue. Interestingly, BDNF expression in adipose tissue was robustly induced by high fat diet. The induction of BDNF in adipose tissue was well corresponded with the increase in body weight. These results suggested that BDNF expressed in adipose tissue would be related to pathological obesity and BDNF might be a therapeutic target for pathological obesity.

研究分野：分子神経科学

キーワード：BDNF 生体イメージング 発光 脂肪組織 ケラチノサイト

1. 研究開始当初の背景

脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor: BDNF) は、記憶・学習に代表される高次脳機能発現に必須の因子であり、うつ病など様々な精神疾患の治療薬開発の標的分子として期待されている。最近我々は、生物発光を利用した BDNF 遺伝子発現変化の可視化に成功し、グルタミン酸やドーパミンなどの神経伝達物質による BDNF 遺伝子発現誘導機構を解明した。さらに、この方法を利用して生体マウスにおける BDNF 遺伝子発現を解析した結果、BDNF 遺伝子発現が脳内だけでなく皮膚や脂肪組織といった末梢組織にも発現していることを見出した。これまでに、皮膚由来細胞のケラチノサイトには BDNF の他、中枢神経系の機能に重要なグルタミン酸受容体 (NMDA 受容体) を含む神経伝達物質受容体が機能的に発現していることが報告されている。一方、うつ病などの精神疾患では BDNF 発現量の低下が認められるが、BDNF を末梢から持続的に投与することで、抗うつ様効果が現れることが動物実験により示されている。以上より、末梢組織で発現する BDNF 遺伝子を利用して、中枢神経系で機能する受容体の活性評価やうつ病の症状改善・治療に結びつけることができないか? と考えた。

2. 研究の目的

本研究では、ケラチノサイトや脂肪組織に BDNF 遺伝子が発現していることに着目し、末梢性 BDNF 遺伝子発現を利用して、中枢神経系で機能する神経伝達物質受容体の活性評価や受容体機能調節薬の開発、さらには末梢組織における BDNF 発現量の増加によるうつ病の症状改善や治療が可能かどうか、について解析・検討し、末梢組織の持つ新たな可能性を探索した。

3. 研究の方法

本研究では、はじめにケラチノサイトおよび脂肪組織における BDNF 遺伝子発現に関する解析を行った。ケラチノサイトを用いた解析では、培養条件の検討を行い、内在性 BDNF 遺伝子発現を確認後、NMDA 受容体活性化によって BDNF 遺伝子発現に変化が認められるか検討した。脂肪組織に着目した解析では、生体イメージングを利用して、脂肪組織における BDNF 遺伝子発現がどのような条件下で変化するかを解析した。

4. 研究成果

BDNF 遺伝子は、特に脳において高発現していることが知られているが、マウス皮膚より培養ケラチノサイトを調製し、解析を行った結果、培養神経細胞に比べ発現レベルは低いものの、ケラチノサイトにおいても内在性の BDNF 遺伝子が発現していることが明らかとなった。BDNF mRNA は、スプライシングによって複数種類の mRNA が合成される

ため、ケラチノサイトに発現する BDNF mRNA の種類を解析した結果、exon I、exon IV、exon IXA など、神経細胞においても高発現している BDNF mRNA がケラチノサイトにも発現していることが明らかとなった。ところで、表皮は、内側より基底層、有棘層、顆粒層、角質層から構成され、基底層にあるケラチノサイトは分裂・分化を繰り返しながら、分化した細胞は上層へと移動する。そこで、増殖期のケラチノサイトおよびコンフルエントに達し増殖が停止したケラチノサイトの2種類を用いて、両者において BDNF mRNA 発現に変化が認められるか検討を行った。その結果、両者において有意な変化は認められなかった。したがって、ケラチノサイトの増殖・分化期において BDNF 遺伝子は恒常的に発現していることが明らかとなった。次に、ケラチノサイトにおいても NMDA 受容体が発現していることから、NMDA 受容体のアゴニストによって受容体を活性化した場合、神経細胞と同様に BDNF mRNA 発現の増加が認められるか検討した。しかし、ケラチノサイトでは、NMDA 受容体アゴニストによる BDNF mRNA 発現変化は認められなかった。したがって、ケラチノサイトに発現する NMDA 受容体とは機能的に異なることが明らかとなった。

脂肪組織における BDNF 遺伝子発現に関する解析では、ホタルの発光酵素であるルシフェラーゼを利用して BDNF 遺伝子発現変化を生きたまま可視化可能なトランスジェニックマウス「BDNF-Luc マウス」を使用した。これまでの解析により、BDNF-Luc マウスにルシフェラーゼ基質であるルシフェリンを腹腔内に投与すると、発光が検出されたが、特に高体重のマウスでは腹部の発光が強く検出される結果が得られた。そこで、高脂肪食を用いて肥満モデルマウスを作成し、経時的にマウスの腹部の発光を計測した (図参照)。その結果、高脂肪給餌中は顕著な体重変化に伴って腹部の発光も増加した。また、高脂肪食から通常食に戻すと体重増加も抑制され、腹

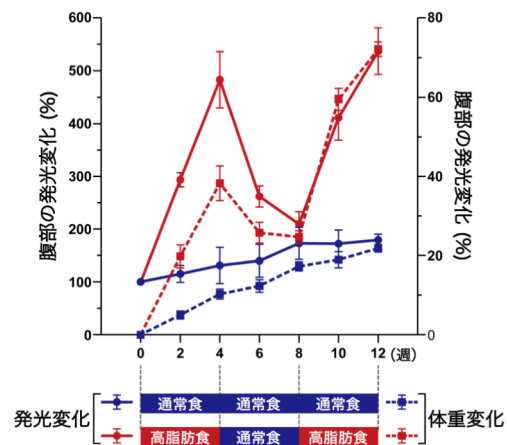


図 高脂肪食による体重および腹部の発光変化

部の発光も減少した。さらに再び高脂肪食を与えると、体重および腹部の発光は顕著に増加した。すなわち、体重変化と腹部の発光 (BDNF 遺伝子発現) 変化が相関することが明らかとなった。以前より、視床下部における BDNF と摂食、すなわち BDNF の中枢作用と摂食の制御に関しては報告がなされていたが、本研究は、脂肪組織に発現する BDNF が肥満の病態の形成や進行と関連する可能性を示す興味深い結果である。以前に、BDNF は脂肪組織には発現しているが脂肪細胞には発現していないこと、病的な肥満の脂肪組織は慢性炎症 (M1 マクロファージの増加など)・低酸素状態であり血管新生が起こること、BDNF がマクロファージに発現すること、BDNF が低酸素誘導因子である HIF1 $\alpha$  を介して血管新生に関わる VEGF 発現を制御すること、などが報告されている。これらの報告を考慮すると、高脂肪食により BDNF の発現は特にマクロファージなどの細胞で亢進し、発現した BDNF によって HIF1 $\alpha$ /VEGF を介した血管新生が誘導されることにより、脂肪組織の肥大化が起こる可能性が考えられた。したがって、脂肪組織に発現する BDNF は、病的な肥満の治療ターゲットになる可能性が考えられた。

以上の結果より、本研究では当初予期していなかった末梢性 BDNF の機能に関する新たな知見を得ることができた。特に脂肪組織に発現する BDNF に関しては、今後の発展性が大きく期待されるため、上記仮説を考慮しながら詳細に解析する必要がある。

## 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 3 件)

- ① Ichiro Takasaki, Ai Watanabe, Masafumi Yokai, Yurie Watanabe, Daichi Hayakawa, Ryota Nagashima, Mamoru Fukuchi, Takuya Okada, Naoki Toyooka, Atsuro Miyata, Hiroaki Gouda, Takashi Kurihara, In Silico Screening Identified Novel Small-molecule Antagonists of PAC1 Receptor, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 査読有、Vol. 365, 2018, pp. 1-8  
DOI: 10.1124/jpet.117.245415
- ② Mamoru Fukuchi, Hironori Izumi, Hisashi Mori, Masahiro Kiyama, Satoshi Otsuka, Shojiro Maki, Yosuke Maehata, Akiko Tabuchi, Masaaki Tsuda, Visualizing changes in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression using bioluminescence imaging in living mice, *Scientific Reports*, 査読有、Vol. 7, 2017, pp. 4949

DOI: 10.1038/s41598-017-05297-x

- ③ Mamoru Fukuchi, Masaaki Tsuda, Convergence of neurotransmissions at synapse on IEG regulation in nucleus, *Frontiers in Bioscience*, 査読有、Vol. 22, 2017, pp. 1052-1072  
DOI: 10.2741/4533

[学会発表] (計 7 件)

- ① 福地守, 生物発光を利用した BDNF 遺伝子発現変化の可視化および創薬への応用、日本薬学会第 138 年会、2018 年 3 月 25-28 日、金沢
- ② 福地守, 和泉宏謙、森寿、木山正啓、大塚智史、牧昌次郎、田淵明子、津田正明、生物発光を利用した BDNF 遺伝子発現変化の計測、2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)、2017 年 12 月 6-9 日、神戸
- ③ Mamoru Fukuchi, Hironori Izumi, Hisashi Mori, Masahiro Kiyama, Satoshi Otsuka, Shojiro Maki, Yosuke Maehata, Akiko Tabuchi, Masaaki Tsuda, Visualizing changes in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression using bioluminescence imaging in living mice, 第 60 回日本神経化学学会大会、2017 年 9 月 7-9 日、仙台
- ④ 福地守, 神経可塑性の分子基盤を担う遺伝子発現制御系の解明、日本薬学会北陸支部第 128 回例会、2016 年 11 月 27 日、金沢
- ⑤ Mamoru Fukuchi, Hisashi Mori, Akiko Tabuchi, Masaaki Tsuda, Monitoring and visualizing changes in the expression of BDNF gene using bioluminescence imaging, *Neuroscience 2016*, 2016 年 11 月 12-16 日、SanDiego, USA
- ⑥ 福地守, 前畑陽祐、森寿、牧昌治郎、田淵明子、津田正明、BDNF-Luc マウスを利用した BDNF 遺伝子発現変化の可視化および BDNF 遺伝子発現誘導剤の探索、第 38 回日本生物学的精神医学会・第 59 回日本神経化学学会大会合同大会、2016 年 9 月 8-10 日、福岡
- ⑦ 福地守, 和泉宏謙、田中亜由美、井上蘭、森寿、牧昌治郎、木山正啓、大塚智史、前畑陽祐、津田正明、生物発光イメージングを利用した生体マウスにおける BDNF 発現変化の可視化、第 39 回日本神経科学大会、2016 年 7 月 20-22 日、横浜

[その他]

○ホームページ等  
<https://www.facebook.com/UHWMolNeurosci/>

○報道関連情報  
ぐんま経済新聞朝刊 (2017 年 7 月 13 日)  
「記憶関連タンパク質発現変化を可視化 アルツハイマー解析に期待」

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

福地 守 (FUKUCHI, Mamoru)

富山大学大学院・医学薬学研究部（薬学）・  
助教（～2017年3月31日）

高崎健康福祉大学・薬学部・准教授（2017  
年4月1日～）

研究者番号：40432108

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

なし