

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07136

研究課題名(和文)熱ショック転写因子HSF2による脳神経系保護機構の解明

研究課題名(英文)Protective mechanism of neuronal system by heat shock transcription factor 2

研究代表者

林田 直樹 (HAYASHIDA, Naoki)

山口大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：40420517

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)：熱ショック転写因子HSF2による脳神経系の保護作用のメカニズムを解析する中で、神経変性疾患、中でも認知症状を呈する疾患の治療薬開発のシーズをなり得る物質を複数見出し、ホルボールエステルPMAとある糖類の2種類については、神経変性疾患の病理的特徴である「細胞内における凝集体の形成」と「軸索変性および軸索伸長の阻害」を、いずれも大きく改善する結果を得ることが出来た。また、これらの物質がこのような効果をもたらすメカニズムには、HSF2が大きく関わっていることも解明でき、本研究の目的は十分達せられただけでなく、未だ世界に1つも存在していない「神経変性疾患の治療薬の開発」に貢献できる可能性も出てきた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的には、脳神経系保護においてHSF2が大きく関わっていることを示せたほか、これまでのHSFの知見では考えられなかった新たなメカニズムを見出すことが出来たことは意義が大きい。一方、本研究において、これまで世界中の製薬会社や大学、公的研究機関が開発研究を実施しながら1つも成功していない「神経変性疾患(NDDs)の治療薬」の新たなシーズとなりうる物質群を発見できたこと、さらにその2つにおいては、強力な効果が確認出来たことが、社会的意義としては非常に大きい。この2つの物質は、NDDsの重篤な症状である認知症状を回復出来る可能性があるだけでなく、うち1つは毒性が非常に低いことも特筆すべき点であった。

研究成果の概要(英文)：While we investigate the protective mechanism of neuronal system by heat shock transcription factor 2 (HSF2), we found some chemical compounds and peptides that can be drug candidate for neurodegenerative diseases (NDDs) and dementia. Especially, phorbol ester PMA and one glycan species. Intracellular aggregate formation and axonal degeneration and/or inhibition of axonal growth is characteristic pathological phenomenon of NDDs, but our two drugs dramatically improve these pathology. Moreover, we also discovered that HSF2 has an essential roles in both drugs' effects. Finally, not only our purpose of this grant-in-aid has well achieved but also we could discover the strong candidate chemicals for the development of therapeutic drugs for NDDs.

研究分野：老化学

キーワード：HSF2 HSF1 ヒト神経細胞 変異型タウタンパク質 ベータアミロイド 神経変性疾患 軸索 凝集体

1. 研究開始当初の背景

神経細胞の死滅や認知症、運動障害、行動異常などを引き起こす神経変性疾患 (NDDs) は現在も依然として不治の病である。アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD)、ハンチントン病 (HD) を含む9つのポリグルタミン (polyQ) 病や前頭側頭葉変性症 (FTLD) など、多くの NDDs では、変性する部位の神経細胞やグリア細胞に、疾患に特徴的な異常構造物が出現し、この異常構造物、あるいはこの前段階の凝集途中の異常蛋白質がこれらの疾患の原因であるとされているが、にも関わらず、いずれの NDDs にも根治的な治療法は確立されていない。

研究代表者は、熱ショック転写因子 (heat shock transcription factor, HSF) の研究を10年以上続ける中で、ほとんどの HSF 研究者が行っている HSF1 の研究で新たな発見をただけでなく (Hayashida et al., EMBO J 2006; Hayashida et al., EMBO J 2010; Hayashida et al., Transcription 2011; Hayashida, Exp. Anim. 2015; Hayashida, BRCP 2016)、HSF2 が HSF1 と同様に HD のモデルマウスにおいて病態の進行を抑えること、細胞内で発現させた polyQ タンパク質凝集と蓄積を抑制することを見出した (Shinkawa, Hayashida et al., Mol. Biol. Cell 2011)。さらに、他の HSF 群が動物種間で機能が変化しているのに対し、HSF2 の役割は保存されてきたことを見出した (Hayashida, Biochem. Biophys. Res. Commun. 2015)。

しかし、HSF1 がマウス神経芽細胞腫 Neuro-2a において polyQ タンパク質だけでなく、他の神経変性疾患の原因タンパク質の凝集も抑制し、かつ特定の薬剤が凝集を抑えることを研究代表者は明らかにしたこと(特許申請中) および細胞内に凝集および蓄積した polyQ タンパク質を分解できることを見出して、これらの疾患の完治につながりうる分子機構を示したのに対し (Hayashida et al., EMBO J 2010)、HSF2 の詳細な機能は、研究代表者らが明らかにしたこと以外ほとんど明らかになっていない。

このような背景から、研究代表者は、NDDs の中でも、AD、HD および FTLD の培養細胞モデルを用いて、HSF2 がこれらの疾患において神経細胞の保護にどのような分子機構を用いて機能しているのかを明らかにしたい。

2. 研究の目的

アルツハイマー病やポリグルタミン病などの神経変性疾患では、異常構造を持つ蛋白質が凝集および蓄積する特徴がある。熱ショック転写因子群は4種類あり、そのうち HSF1 の機能は多くが明らかにされたが、研究代表者らは HSF2 が細胞およびマウスにおいて、ポリグルタミンタンパク質の凝集と蓄積を抑制することを初めて明らかにした。しかし、神経変性疾患を防ぐ分子機構の解明は依然急務である。HSF2 は脳神経系で発現の高い HSF であるが、神経細胞における HSF2 の役割や神経変性疾患を抑制する詳細な機構はほとんどわかっていない。本研究では、神経細胞と神経変性疾患モデルを用いて、HSF2 の脳神経系の保護機構を分子レベルで明らかにする。

3. 研究の方法

本研究の目的は、神経変性疾患 (NDDs) の発症または進行を抑制する新たな分子機構を解明するため、神経系で高発現している熱ショック転写因子である HSF2 が、今後の創薬につながる機構の一端を明らかにすることである。

AD、HD および FTLD の培養細胞モデルを用いて、神経細胞に生じる凝集体の形成の抑制における HSF2 の活性化状態や発現量の変化、およびターゲット遺伝子を解析する。また、ターゲット遺伝子のプロモーター上において形成される HSF2 を中心とした転写複合体がどのようなものであるかを同時に明らかにする。

NDDs のモデルマウスを用いて、脳神経系病変の形成と抑制に HSF2 がどのような分子機構で関与しているかを解明する。

4. 研究成果

熱ショック転写因子 HSF2 による脳神経系の保護作用のメカニズムを解析する中で、神経変性疾患、中でも認知症状を呈する疾患の治療薬開発のシーズをなり得る物質を複数見出し、ホルボールエステル PMA とある糖類の2種類については、神経変性疾患の病理的特徴である「細胞内における凝集体の形成」と「軸索変性および軸索伸展の阻害」を、いずれも大きく改善する結果を得ることが出来た。また、これらの物質がこのような効果をもたらすメカニズムには、HSF2 が大きく関わっていることも解明でき、本研究の目的は十分達せられただけでなく、未だ世界に1つも存在していない「神経変性疾患の治療薬の開発」に貢献できる可能性も出てきた。

HSF2 の転写複合体の解析についても、ヒストン H3 リジン 4 メチル化酵素 Set1/MLL が中心となる複合体の主な構成因子のほとんどが、HSF2 と複合体を形成していることがわかったが、一方で、5 種類ある MLL のうち、HSF2 のターゲット遺伝子によっては、プロモーターに集積してくる MLL の種類が異なることや、複数の MLL が集積していることも明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yokoyama H, Mizutani R, Noguchi S, Hayashida N.	4. 巻 75(Pt 2)
2. 論文標題 Structures of the antibody 64M-5 Fab and its complex with dT(6-4)T indicate induced-fit and high-affinity mechanisms.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Crystallogr F Struct Biol Commun	6. 最初と最後の頁 80-88
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1107/S2053230X18017661	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hideshi Yokoyama, Ryuta Mizutani, Shuji Noguchi, Naoki Hayashida	4. 巻 9
2. 論文標題 Structural and biochemical basis of the formation of isoaspartate in the complementarity-determining region of antibody 64M-5 Fab	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18494-18505
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-54918-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Masami Mononaka, Yasuko Tokunaga, Naoki Hayashida
2. 発表標題 Identification of Small Compounds Protecting Neuronal Cells from the Toxicity of Proteins that Cause Neurodegenerative Diseases
3. 学会等名 第40回日本基礎老化学会総会（名古屋）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasuko TOKUNAGA, Masami MOMONAKA, Kaoru HAYASHIDA, Naoki HAYASHIDA
2. 発表標題 Phorbol Ester Inhibits Inclusion Formation and Accelerates Neurite Growth in Neuronal Cells
3. 学会等名 第41回日本基礎老化学会総会（東京）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 神経細胞の軸索の伸展剤	発明者 林田直樹、徳永康子	権利者 山口大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-062535	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

今回出願した特許は、国外出願も希望している。

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	徳永 康子 (TOKUNAGA Yasuko)		