

令和元年6月14日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19500

研究課題名(和文)脳神経細胞の膜脂質組成を好転させる方法の開発

研究課題名(英文)Development of novel method to improve the lipoquality of neurons

研究代表者

服部 光治(Hattori, Mitsuharu)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：60272481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：リーリン欠損マウス胎児脳の脂質組成を網羅的に解析した結果、非膜リン脂質中の多価不飽和脂肪酸の含有量が低下していた。しかも、多価不飽和脂肪酸不足を補うために補償的に合成される特殊脂肪酸のミード酸(C20:3, n-9)量が顕著に増加していた。すなわち、リーリンは神経細胞の多価不飽和脂肪酸量を上昇させることが強く示唆された。多価不飽和脂肪酸の上昇は脳の機能を改善し、アルツハイマー病の発症を抑えると考えられているので、リーリンの量または機能を上昇させれば、精神神経疾患の治療に役立つかもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果は、「リーリンの機能」「脳の脂肪酸組成」「精神神経疾患の発症」の3者間に今まで漠然と存在した相関を包括的に理解できる可能性を示唆しており、概念的には大きな進歩であると考えている。また、アルツハイマー病などの難治性神経疾患に対する新たな治療法開発の糸口にもなり得るものである。

研究成果の概要(英文)：Reelin is essential for the development and function of the mammalian brain and the receptors for Reelin, belong to the low-density lipoprotein receptor family, but it is not known whether Reelin is involved in the brain lipid metabolism. We found that Reelin-deficient mouse brain exhibited several compositional changes in phospholipids. The ratio of phospholipids containing one saturated fatty acid (FA) and one docosahexaenoic acid (DHA) or arachidonic acid (ARA) decreased and the ratio of phospholipids containing one monounsaturated FA and one DHA or ARA increased. The ratio of phospholipids containing Mead acid increased. Therefore, Reelin can upregulate the amount of polyunsaturated fatty acids in the brain, which will help ameliorate neuropsychiatric and neurodegenerative disorders.

研究分野：分子神経生物学

キーワード：脂肪酸 脳 リーリン

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

1. 研究開始当初の背景

脳の脂肪酸組成が他の臓器とは大きく異なることは古くから良く知られているが、その違いが生じるメカニズム、およびその生物学的意義の全貌は今なお未解明である。疫学的研究から、脳における DHA や EPA のような多価不飽和脂肪酸 (poly unsaturated fatty acid, PUFA) の減少が、うつ・統合失調症・記憶障害などの精神神経疾患の一因または悪化要因であることが確実視されている。また細胞レベルでは PUFA は神経細胞 (特にシナプス) で重要な機能をもつことが判っている。よって、脳内 PUFA 濃度を上昇させる (= 脳内脂質環境を改善する) ことができれば、精神神経疾患を改善できる可能性が高い。しかし PUFA の経口摂取が脳に与える効果は非常に低く、実際、PUFA 単独投与はヒトの精神疾患や認知障害を有意には改善しない。さらに、PUFA は循環器系等にも良い効果があるため、神経細胞の PUFA 濃度が重要なのか、または二次的な効果なのか、区別が困難である。脳における PUFA の重要性解明には、脳特異的に PUFA 濃度を変動させる手法が必要である。しかしそのような手法は知られていない。

申請者は脳の構造形成と機能発現におけるリーリンという巨大分泌タンパク質について研究してきた。近年、リーリンが統合失調症や記憶障害などの「シナプス病態」の発症に関与することが確実視されているが、その分子メカニズムの全貌は未解明である。リーリンの受容体は血清リポタンパク質と同一 (ApoER2 および VLDLR) であり、これらを介して細胞内のリン酸化カスケードを調節するという考えが一般的である。しかし申請者は「受容体が血清リポタンパク質と同一だから、標的細胞の脂質組成にも影響するかもしれない」というアイデアを思いつき、リーリン欠損マウス胎児脳の脂質組成を網羅的に解析した。その結果、非常に驚いたことに、リーリン欠損マウスの脳では膜リン脂質中の PUFA 含有量が低下していた。しかも、PUFA 不足を補うために補償的に合成される特殊脂肪酸のミード酸 (C20:3, n-9) 量が顕著に増加していた。すなわち、リーリンは神経細胞の PUFA 量を上昇させることが強く示唆された。このようなことは今まで全く想定・報告されていない。

2. 研究の目的

- (ア) リーリンが神経細胞の PUFA 含有量を増加させるメカニズムを解明する。
- (イ) リーリンの機能低下で生じる異常を、PUFA 投与で治療できるか否かを解明する。
- (ウ) リーリンの「機能増強」が、PUFA 含有量および脳機能を改善するか否かを解明する。

3. 研究の方法

(ア) リーリンがアポリポタンパク質として機能するかを検証するため、リーリンの脂質結合性および脳内リーリン含有画分の比重や結合分子を解析する。また、リーリン下流の細胞内リン酸化カスケードの関与を検証するため、リーリン欠損マウス、および、リーリンの下流の必須因子 Dab1 の欠損マウス由来の脳を用いて質量分析イメージング (in situ で脂肪酸の分布を解析可能) を行う。

(イ) 我々が作製したリーリン機能低下マウス (Sakai et al. Sci. Rep. 2016) は、樹状突起構造および行動に異常を呈する。胎児脳あるいは成体脳へ直接 PUFA を投与しこれらの異常が改善するか否かを解析する。また、リーリン機能低下マウス脳を用いて質量分析イメージングを行う。

(ウ) 我々はリーリン特異的分解不活化酵素 ADAMTS-3 を同定した。ADAMTS-3 の欠損マウス脳ではリーリン機能が亢進し、樹状突起発達も増大することを確認した (論文投稿中)。この現象における PUFA の重要性を知るため、リーリン機能亢進マウスを PUFA 欠乏食で飼育する。また、同マウス脳を用いて質量分析イメージングを行う。

4. 研究成果

(1) リーリンが神経細胞の PUFA 量を増加させるメカニズムの解明

リーリン欠損 (リーラー) マウスの神経細胞において、膜中の PUFA 含有量が低下するメカニズムとして、リーリン下流の細胞内情報伝達系が、代謝酵素やトランスポーターの機能や遺伝子発現等を制御するという、「リン酸化シグナリング仮説」、および、リーリン・脂質複合体が神経細胞に取り込まれ、これが脂質量に影響するという「リーリン = アポリポタンパク質仮説」が考えられた。これらの可能性を検証するため、リーリン下流因子 Dab1 の欠損マウス脳における PUFA 含有量を分析したところ、リーリン欠損マウスほどの顕著な差は生じていないことがわかった。このことは、通常想定されているようなリーリンの下流シグナルは、PUFA 濃度の上昇に寄与していないことを示唆する。また、リーリン欠損マウスと Dab1 欠損マウスは非常に類似した脳構造異常を呈するが、前者でのみ PUFA などの組成が大きく変化することは、この変化は脳の構造異常から生じる二次的なものではないことを示唆する。

(2) リーリンの機能発現における PUFA の寄与の解明

リーリンの C 末端領域を欠損するマウスでは、樹状突起の構造および行動異常が生じる。特にこれが脂質組成変化を介するか否かを解明するため、胎児脳の初代神経細胞をほぼ脂質フリーで培養する系を構築し、そこにリーリンおよび各種脂肪酸を添加して効果を解析した。その結果、リ

ーリンおよび PUFA は樹状突起を分岐・伸長させた。また我々は最近、リーリンを特異的に分解不活化する酵素として分泌型メタロプロテアーゼ ADAMTS-3 を同定した。ADAMTS-3 欠損マウスではリーリンの分解が顕著に減少し、下流シグナルは活性化されている。すなわち、ADAMTS-3 の阻害剤はリーリン機能を上昇させ、精神神経疾患を改善することが期待される。しかし、ADAMTS-3 以外にもリーリンを分解する酵素は存在し、さらに ADAMTS-3 にはリーリンの他に重要な基質が存在する可能性がある。そこで、リーリンの分解部位に変異を導入して「非切断型リーリン」を発現するノックインマウスを作成した。現在、このマウス脳における脂質分析の準備を進めている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Sobue, A., Kushima, I., Nagai, T., Shan, W., Kohno, T., Aleksic, B., Aoyama, Y., Mori, D., Arioka, Y., Kawano, N., Yamamoto, M., Hattori, M., Nabeshima, T., Yamada, K., and Ozaki, N. (2018) Dopaminergic and GABAergic deficits in antipsychotic-sensitive behavioral abnormalities of Orleans reeler mice. **Sci. Rep.** 8, 13046.

Mizukami, T., Ikeda, K., Shimanaka, Y., Korogi, K., Zhou, C., Takase, H., Tsuiji, H., Kono, N., Arai, H., Arita, M., and Hattori, M. (2018) Reelin deficiency leads to aberrant lipid composition in mouse brain. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 505, 81-86.

Yamakage, Y., Tsuiji, H., Kohno, T., Ogino, H., Saito, T., Saido, T.C, and Hattori, M. (2019) Reducing ADAMTS-3 Inhibits Amyloid β Deposition in App Knock-in Mouse. **Biol. Pharm. Bull.** 42, 354-356.

〔学会発表〕(計 8 件)

水上智晴、周春雨、池田和貴、嶋中雄太、新井洋由、有田誠、服部光治 「脳の高次機能に重要な分泌タンパク質リーリンは脳の脂質組成制御に関与する」「脂質クオリティが解き明かす生命現象」第一回若手研究発表会 2017年5月25日 理化学研究所横浜キャンパス

水上智晴、周春雨、池田和貴、高瀬広嗣、河野孝夫、築地仁美、嶋中雄太、新井洋由、有田誠、服部光治 「分泌タンパク質リーリンによる、新たな脂質組成制御機構」第16回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム2017 2017年9月9日 北海道大学

山影祐子、加藤路尚、荻野ひまり、石塚拓巳、河野孝夫、服部光治 「生後脳におけるリーリン特異的分解に寄与する酵素の解明」第16回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム2017 2017年9月9日 北海道大学

奥川英介、荻野ひまり、河野孝夫、服部光治 「精神神経疾患の治療を志向した、分解抵抗型リーリンノックインマウスの作製と解析」第16回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム2017 2017年9月9日 北海道大学

Katsunari Korogi, Tomoharu Mizukami, Chunyu Zhou, Takao Kohno, Fumiyoshi Yamazaki, Katsuya Kabashima, Yuta Shimanaka, Kazutaka Ikeda, Hiroyuki Arai, Makoto Arita, Mitsutoshi Setou, Mitsuharu Hattori "To clarify how Reelin affects the lipid compositions of neurons" ConBio2017 2017年12月6日-9日 神戸国際会議場

大嶋智葉、山影祐子、河野孝夫、斎藤貴志、西道隆臣、服部光治 「リーリンシグナルがアルツハイマー病発症に与える影響に関する解析」2018年9月24日-9月26日 第91回日本生化学会大会 京都国際会館

興相勝成、水上智晴、河野孝夫、服部光治 「神経細胞における特定の脂肪酸の生理的意義についての解析」第91回日本生化学会大会 2018年9月24日-9月26日 京都国際会館

興相勝成、水上智晴、周春雨、嶋中雄太、河野望、池田和貴、新井洋由、有田誠、服部光治 「リーリン欠損マウス脳の脂質組成変化と、その意義に関する解析」日本薬学会第139年会 2019年3月20日-3月23日 幕張メッセ

〔図書〕(計 1 件)

服部光治「中枢神経系のリボクオリティ制御と疾患」医学のあゆみ、in press.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/bsk/indexj1.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者 なし