

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：31603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K06792

研究課題名（和文）新規認知症モデルマウスの樹立

研究課題名（英文）Establishment of a new dementia model mouse

研究代表者

村田 和子（Murata, Kazuko）

医療創生大学・薬学部・客員教授

研究者番号：20137631

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：認知症の一つであるアルツハイマー病では、神経細胞内にユビキチン化タンパク質の蓄積が認められる。そこで、タンパク質を認識してリソソームへの輸送・分解に関与するESCRT-0のSTAM1分子の認知症への関与について遺伝子改変マウスを用いて調べた。その結果、Y迷路を用いた記憶行動試験ではSTAM1欠損マウスにおいて記憶行動の低下が見られた。また、大脳組織におけるアミロイドタンパク質の蓄積を組織化学的に調べたところ、STAM1欠損マウスにおいてアミロイドタンパク質の蓄積が加齢に伴い増加していた。以上のことから、STAM1欠損マウスは新たな認知症モデルマウスとしての可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は認知症の病態解明を「小胞輸送の機能破綻」という、これまで全く予想されなかったタンパク質分解系調節因子の認知機能への関与を見出し、これまでの研究とは異なる新たな視点から行ったものであり、学術的独自性ならびに学術的意義を有する。そして、このSTAM1欠損マウスはユニークな新たな機序を有する新規認知症モデル動物として、新規認知症治療薬の開発や診断薬のスクリーニングに非常に有用なツールとなる可能性が明らかとなり、認知症の新規治療薬開発に大いに貢献することが出来、本研究の社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：In Alzheimer's disease, a type of dementia, accumulation of ubiquitinated proteins is observed within nerve cells. Therefore, we investigated the involvement of the STAM1 molecule of ESCRT-0, which recognizes proteins and is involved in their transport to lysosomes and degradation, in dementia using genetically modified mice. As a result, in a memory behavior test using the Y-maze, STAM1-deficient mice showed decreased memory behavior. Furthermore, when the accumulation of amyloid- protein in cerebral tissue was examined histochemically, it was found that the accumulation of amyloid- protein increased with age in STAM1-deficient mice. These results suggest that STAM1-deficient mice have the potential to serve as a new dementia model mouse.

研究分野：医歯薬学

キーワード：小胞輸送 ユビキチン 高次機能 タンパク質分解

1. 研究開始当初の背景

体内の恒常性維持に重要なタンパク質分解は、目印となるユビキチンがタンパク質に結合することによりプロテアソームやリソソームに輸送されて分解されるが、この壊されるべきタンパク質の運命を決定付けている輸送系では、小胞輸送関連分子(ESCRT-0~3)が重要な役割を果たしている。申請者らが分離同定したESCRT-0であるSTAM1(Signal transducing adapter molecule 1)の遺伝子欠損マウスは老化指標の一つである胸腺萎縮や骨粗鬆症様症状ならびに記憶に重要な機能を果たす大脑海馬領域の変性が見られる。しかしながら、大脳機能におけるSTAM1の意義については明らかにされていない。

2. 研究の目的

加齢に伴う脳の老化は認知症の最も強力な要因であり、その分子基盤をなしているのは神経系を構成するタンパク質の修飾・構造変化などの質的变化や発現量の量的変化である。認知症の一つであるアルツハイマー病では、アミロイド(A β)やタウなどのタンパク質が神経細胞に蓄積することにより進行性の神経細胞脱落が大きな原因であると考えられている。申請者らが作成したSTAM1欠損マウスは記憶において重要な大脑海馬CA3領域が加齢に伴い脱落することを以前に明らかにしている。そこで、本研究では認知機能に及ぼすSTAM1分子の機能についてSTAM1欠損マウスを用いて脳におけるタンパク質の蓄積ならびに行動解析を行い、本マウスが新規認知症モデル動物としての可能性について明らかにする。

3. 研究の方法

本研究における野生型マウスとSTAM1欠損マウスは、C57BL/6遺伝的背景を持つマウスのヘテロ接合動物を交配することにより得た。実験には主に生後7~10週齢の雌雄マウス野生型マウスならびにSTAM1欠損マウスを用いた。免疫組織学的手法を用いてユビキチン化タンパク質の蓄積ならびに記憶行動について行動学的解析を行った。

(1) 免疫組織学的解析

野生型マウスならびにSTAM1欠損マウスの脳を4%パラホルムアルデヒドで固定した後、クライオスタットで薄切し、free-floatingで染色した。

(2) 行動学的解析

自発運動量測定 locomotor activity test

マウスをプラスチックケージに入れ、15分間環境に適応させた後、Supermex(室町機械)を用いて測定を行った。測定は120分間行い、15分間隔の自発運動量を自動的に数値化した。

Y字型迷路試験 Y-maze test

壁のあるY字型のアームを用い、動物をY字迷路のいずれかのアームの先端に置き、10分間にわたって迷路内を自由に探索させ、動物が測定時間内に各アームに進入した回数を自発行動量の指標とした。また、連続して異なる3本のアームに進入した組み合わせの数を調べ、空間作業記憶の指標とした。

明暗箱試験 black and white box test

明箱と暗箱の2つのボックス間をマウスが移動する回数ならびに明箱での滞在時間を測定した。明箱にマウスを配置し、暗箱への進入回数及び明箱への進入回数、ならびに滞在時間を7分間計測した。なお、進入回数においては後足が進入した時点でカウントした。

4. 研究成果

(ア) STAM1 欠損マウスの大脳海馬においてユビキチン化合物が蓄積する。

野生型マウス (WT) ならびに STAM1 欠損マウス (KO) より抽出した海馬組織を抗ユビキチン抗体を用いてユビキチンの免疫組織染色を行った。その結果、野生型マウスにおいては、ユビキチン染色陽性部位は観察されなかったが、STAM1 欠損マウスではユビキチン化タンパクの存在を示す染色が陽性であった (図1)。

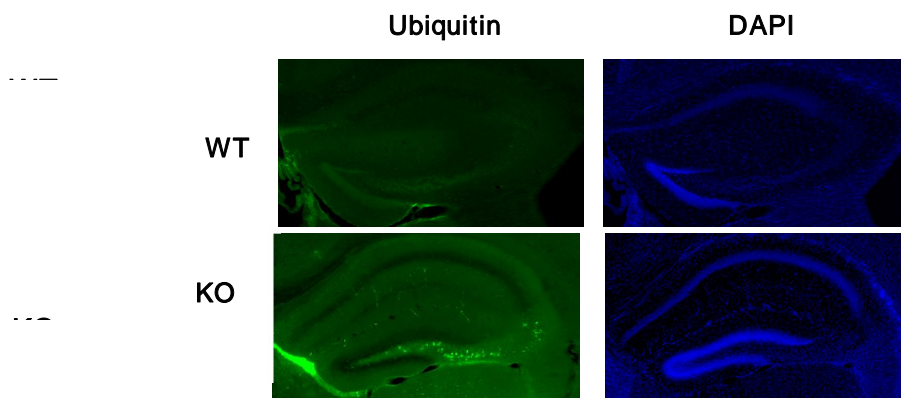


図1 マウス大脳海馬のユビキチン染色

(イ) 行動学的解析

自発運動量は STAM1 欠損マウスで亢進する。

Supermex 装置により自発運動量を測定した結果、野生型マウスに比較して STAM1 欠損マウスでは増加していた (図2)。

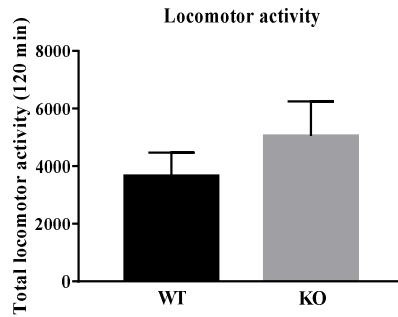


図2 自発運動試験

短期行動記憶は STAM1 欠損マウスで低下する。

Y字型迷路を用いた総アーム侵入回数(自発運動量)(図3-A)は、野生型マウスと比較して STAM1 欠損マウスにおいて有意に増加していた。一方、連続して異なるアームに侵入する短期行動記憶(空間作業記憶)は、野生型マウスに比べ STAM1 欠損マウスでは低下していた(図3-B)。

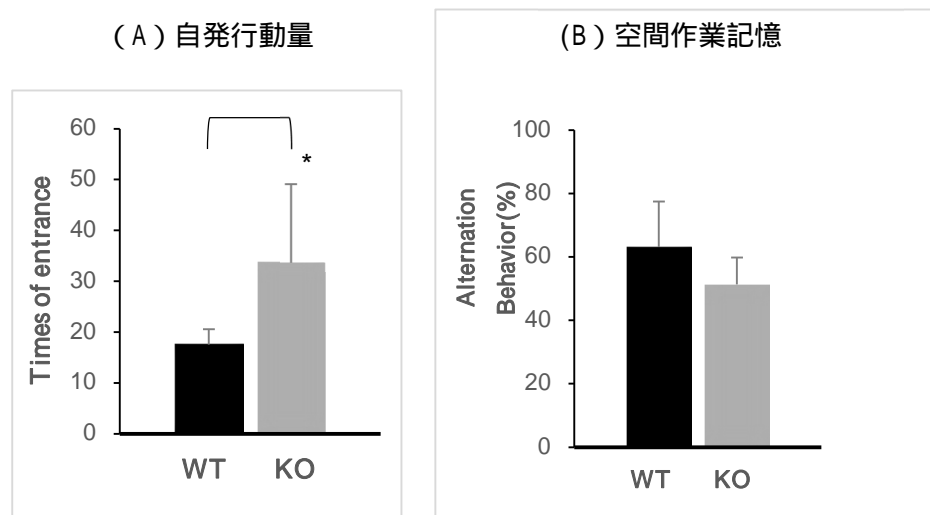


図3 Y迷路試験

新奇環境下での探索行動は STAM1 欠損マウスで亢進する。

マウスは新奇環境下で探索行動を行う性質を有し、暗い場所を好み明るい場所を嫌う習性を有する。そのため明室での探索行動や滞在時間は短い。この習性を利用して明

室と暗室の間を移動する回数ならびに明室での滞在時間を測定したところ、STAM1 欠損マウスは野生型マウスに比較して移動回数の増加ならびに滞在時間が長かった（図4）。

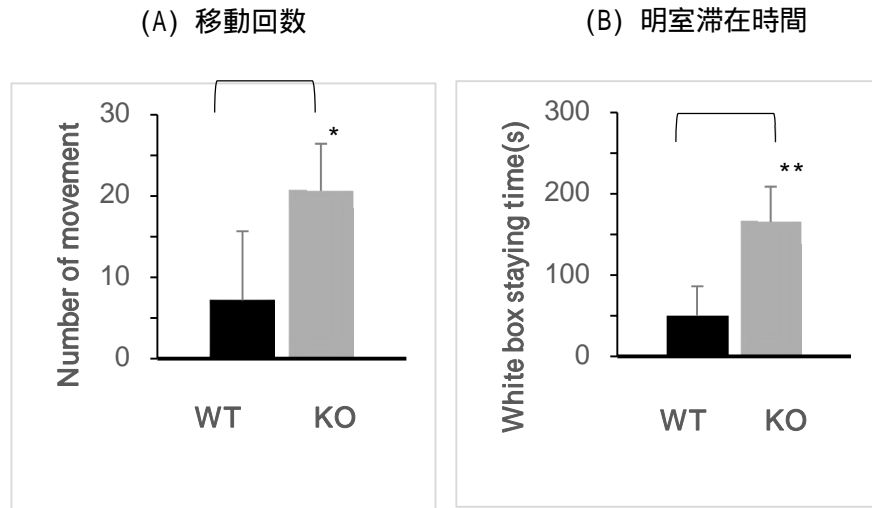


図4 明暗箱試験

以上の結果から、STAM1 欠損マウスにおいては記憶に重要な機能を果たす大脑海馬領域においてユビキチン化物質の蓄積、ならびに短期記憶行動の低下が見られることから STAM1 欠損マウスは新たな認知症モデルマウスとしての可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木秀平、佐久間若菜、中川西修、丹野孝一、村田和子
2. 発表標題 STAM1欠損マウスの行動解析
3. 学会等名 第59回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	佐藤 陽 (SATO AKIRA) (20458235)	医療創生大学・薬学部・准教授 (31603)	
研究分担者	田島 裕久 (TAJIMA HIROHISA) (50306833)	医療創生大学・薬学部・教授 (31603)	
研究分担者	江藤 忠洋 (ETO TADAHIRO) (10458234)	医療創生大学・薬学部・准教授 (31603)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------