

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：32620

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2018～2021

課題番号：18KK0242

研究課題名（和文）パーキンソン病治療標的としての特異的ミトコンドリア病態の解明

研究課題名（英文）Identification of Parkinson disease-specific mitochondrial pathogenesis for disease-modifying therapy

研究代表者

斉木 臣二 (Saiki, Shinji)

順天堂大学・医学部・先任准教授

研究者番号：00339996

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000円

研究成果の概要（和文）：パーキンソン病病態におけるミトコンドリア機能障害は、リソソーム機能障害と並んで最重要の病態メカニズムと考えられている。本研究では、相手方研究施設におけるES細胞由来神経細胞におけるミトコンドリア機能障害と、代表者所属施設におけるiPS細胞由来神経細胞におけるミトコンドリア機能障害の両者を改善させる候補薬剤として、7種の化合物の薬効検証ならびにその分子薬理作用の解明を図った。本研究により、オートファジー不全状態におけるNAD⁺の低下をnicotinamideが回復させることを突き止め、その結果ミトコンドリア機能障害を改善し、細胞死を抑制するという知見を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

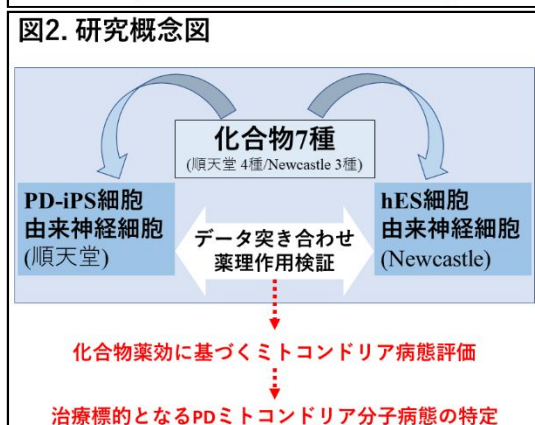
パーキンソン病病態の中核をなすミトコンドリア機能障害に対して、NAD⁺レベルを上昇させることでミトコンドリア機能障害を回復させ、引いては細胞死を抑制するという全く新しい分子機構を持つ化合物nicotinamideを見出した。この作用点は新たなパーキンソン病治療標的となる可能性を秘めている。

研究成果の概要（英文）：In terms of the pathogenesis of Parkinson's disease, dysfunction of lysosomal proteinases and mitochondria are identified as key molecular mechanisms. In this context, we explored potential therapeutic application of 7 candidate chemicals protecting mitochondria with ES cell-derived neurons (UK) and iPS cell-derived neurons (Japan). We identified nicotinamide to rescue NAD⁺ insufficiency due to autophagy insufficiency, resulting in protecting cell death via the mitochondria dependent mechanisms.

研究分野：神経内科学

キーワード：パーキンソン病 オートファジー ミトコンドリア 代謝

1. 研究開始当初の背景



PD では進行性の運動機能障害に加え、抑うつ・認知症・自律神経症状等の多彩な症状によって生活の質が低下するため、患者数の増加は医療・介護費の増大に直結する。そのため発症予防・進行抑制を実現する disease-modifying therapy が切望されている。その複雑な病態(図1)の一つとしてミトコンドリア機能不全の重要性を示すエビデンスが蓄積されており、具体的にはミトコンドリア DNA 変異の加齢による増加、ミトコンドリア軸索輸送、分裂融合変化、呼吸鎖機能低下、マイトファジー異常などが想定されている。しかしそれぞれが個別の腫瘍系培養細胞・モデルマウスを用いて証明されており、実際のヒト PD 患者でどのミトコンドリア障害が病態に最も深く関与するかは不明である。

以上の背景から、本研究課題において申請者は「PD 根本的治療の標的として、どのミトコンドリア機能を回復させるべきか」という問いを提起する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、日本側・英国側研究代表者が、未だ根本治療の確立されていないパーキンソン病治療薬候補として培養細胞系から独自に同定した、7種のミトコンドリア機能調節化

物の薬効・薬理作用を、両国の PD モデルおよび hES/iPS 由来ヒト神経細胞で検証し、その有効性を組み合わせも含めて評価し、治療標的とすべき「最重要ミトコンドリア病態」を明らかにすることである。

3. 研究の方法

2018-2020 年度

・順天堂大学で実施する研究内容

- (1) 細胞モデル： 孤発性 PD-iPSC 由来神経細胞
- (2) 使用化合物： 化合物 7 種
- (3) 具体的な実験内容： 孤発性 PD 患者から採取した T リンパ球に山中 4 因子を transfection し、分化誘導することにより神経細胞を作製する（赤松らの開発した手法(*Stem Cell Rep* 6:422, 2016, *Stem Cell Rep* 9:1675, 2017, *BBRC* 483:88, 2017)を用いる)。化合物 7 種と同時に各種ミトコンドリア毒（呼吸鎖阻害剤、脱共役剤など）を添加し、誘導される内因性アポトーシスの増減を評価すると共に、オートファジー/マイトファジーを含む分子機構をウェスタンブロットティング、免疫細胞染色、フローサイトメーターなどを用いて評価する。

・Newcastle 大学で実施する研究内容（片浦哲志が実施担当）

- (1) 細胞モデル： hESC 由来神経細胞
- (2) 使用化合物： 化合物 7 種
- (3) 具体的な実験内容： Korolchuk 研究室では、hESC 由来神経細胞作製方法に習熟している（ref）。誘導した細胞群に化合物 7 種を添加し、薬効薬理作用を評価すると共に、オートファジー/マイトファジーを含む分子機構の解明を 2 年間で完了する。

2019-2021 年度

・Newcastle 大学で実施する研究内容（片浦哲志、石川景一が担当）

- (1) 細胞モデル： hECS 由来神経細胞、必要に応じて順大から持参する iPS 細胞由来神経細胞
- (2) 使用化合物： 化合物 7 種
- (3) 具体的な実験内容： 平成 30 年度の研究成果を踏まえ、ミトコンドリアの特定機構の障害を持つ PD-iPS 細胞由来神経細胞モデルを持参し、化合物添加実験を行う。

4. 研究成果

covid-19 蔓延のため、若手研究者の相手方ラボでの実験実施、ミーティングの変更を余儀な

くされたが、下記の期間に片浦哲志・石川景一が相手方ラボでES細胞を用いた実験を実施し、下記の様な大きな成果を挙げた。

・Atg5 ノックアウト細胞、ニーマンピック病患者由来ES細胞由来神経細胞などで、オートファジー不全に続発するミトコンドリア機能障害が生じる。この現象を、我々の創薬シーズである nicotinamide が NAD⁺を上昇させることで改善することを確認した。他の6種の化合物に同様の薬効を認めなかった。

・本事象はオートファジーがまず細胞内代謝を制御することで、ミトコンドリア機能を保持し、引いては細胞死を抑制するという新たな薬理作用によるものと結論した。

・上記をショウジョウバエモデルでも検証し、片浦哲志が第一著者として *Developmental Cell* 誌に投稿し、現在 invited revision の状態で、追加実験を実施している。

相手側施設にて実験を実施した期間：

石川景一： 2020年9月から2021年3月（7ヶ月間）

片浦哲志： 2019年5月から2019年10月（6ヶ月間）、2020年10月から2021年3月（6ヶ月間）、2021年7月から2022年4月現在まで（10ヶ月間）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5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 2件）

1. 著者名 Kataura Tetsushi, Tashiro Etsu, Nishikawa Shota, Shibahara Kensuke, Muraoka Yoshihito, Miura Masahiro, Sakai Shun, Katoh Naohiro, Totsuka Misato, Onodera Masafumi, Shin-Ya Kazuo, Miyamoto Kengo, Sasazawa Yukiko, Hattori Nobutaka, Saiki Shinji, Imoto Masaya	4. 巻 7
2. 論文標題 A chemical genomics-aggrephagy integrated method studying functional analysis of autophagy inducers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Autophagy	6. 最初と最後の頁 1~17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15548627.2020.1794590	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 -

1. 著者名 Amo Taku, Oji Yutaka, Saiki Shinji, Hattori Nobutaka	4. 巻 34
2. 論文標題 Metabolomic analysis data of MPP+-exposed SH-SY5Y cells using CE-TOFMS	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Data in Brief	6. 最初と最後の頁 106707~106707
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dib.2020.106707	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 -

1. 著者名 Uehara Yuya, Ueno Shin-Ichi, Amano-Takeshige Haruka, Suzuki Shuji, Imamichi Yoko, Fujimaki Motoki, Ota Noriyasu, Murase Takatoshi, Inoue Takayoshi, Saiki Shinji, Hattori Nobutaka	4. 巻 11
2. 論文標題 Non-invasive diagnostic tool for Parkinson's disease by sebum RNA profile with machine learning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-98423-9	査読の有無 無
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 Takeshige Amano Haruka, Saiki Shinji, Fujimaki Motoki, Ueno Shin Ichi, Li Yuanzhe, Hatano Taku, Ishikawa Kei Ichi, Oji Yutaka, Mori Akio, Okuzumi Ayami, Tsunemi Taiji, Daida Kensuke, Ishiguro Yuta, Imamichi Yoko, Nanmo Hisayoshi, Nojiri Shuko, Funayama Manabu, Hattori Nobutaka	4. 巻 35
2. 論文標題 Shared Metabolic Profile of Caffeine in Parkinsonian Disorders	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Movement Disorders	6. 最初と最後の頁 1438~1447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds.28068	査読の有無 無
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 Kataura Tetsushi, Saiki Shinji, Ishikawa Kei ichi, Akamatsu Wado, Sasazawa Yukiko, Hattori Nobutaka, Imoto Masaya	4. 巻 155
2. 論文標題 BRUP 1, an intracellular bilirubin modulator, exerts neuroprotective activity in a cellular Parkinson's disease model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 81~97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.14997	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	笹澤 有紀子 (Sasazawa Yukiko) (20594922)	順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・特任助教 (32620)	
研究分担者	井本 正哉 (Imoto Masaya) (60213253)	順天堂大学・医学物・特任教授 (32620)	
研究分担者	赤松 和土 (Akamatsu Wado) (60338184)	順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (32620)	
研究分担者	石川 景一 (Ishikawa Kei-Ichi) (90733973)	順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授 (32620)	

6. 研究組織（つづき）

	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	片浦 哲志 (Tetsushi Kataura) (40882634)	順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・非常勤助教 (32620)	片浦氏は現在も相手方研究先であるNewcastle大学にて博士研究員として研究を継続している。

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