

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16016

研究課題名(和文) 加齢による小胞体ストレス遷延化を介した神経幹細胞老化メカニズムの解明

研究課題名(英文) The Role of endoplasmic reticulum homeostasis in senescence of neural stem cells during aging.

研究代表者

村尾 直哉 (Mura0, Naoya)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：20773534

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：成体ニューロン新生は、加齢に伴って減少し、それが老齢期における記憶学習能力低下の一因とされている。加齢に伴う生理的・病的な変化として、小胞体を介したタンパク質代謝の恒常性維持機構の破綻が考えられるが、成体ニューロン新生との関連は不明であった。本研究では、小胞体膜分子Derlin-1の中樞神経特異的な欠損マウスの解析により、老化により引き起こされる成体神経幹細胞の枯渇や新生ニューロン減少の原因の一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、Derlin-1欠損マウスを脳内老化モデルと仮定し、神経幹細胞の挙動やニッチの変化を解析することで、加齢による成体ニューロン新生や記憶学習能力の低下を引き起こす新規メカニズムの提示を目指した。その結果、これまでの老化に関連した「小胞体ストレスの蓄積-細胞死」とは異なる新たな分子メカニズムの存在が示唆された。今後のさらなる詳細な解析により、小胞体ホメオスタシスを標的とした成体ニューロン新生の増強による記憶学習能力回復法の開発など、加齢に逆らった新規高次脳機能維持法の確立につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Adult neurogenesis decreases with age, which is one of the reasons for the decline in memory learning ability in old age. One of the physiological and pathological changes associated with aging is the disruption of the endoplasmic reticulum (ER)-mediated homeostasis of protein metabolism, but its relationship to adult neurogenesis has been unclear. In this study, we analyzed mice with a central nervous system-specific deficiency of the ER membrane molecule Derlin-1 to elucidate part of the cause of the aging-induced depletion of adult neural stem cells and decrease in newborn neurons.

研究分野：神経科学

キーワード：神経幹細胞 小胞体 成体ニューロン新生 Derlin-1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海馬における恒常的な神経幹細胞からのニューロン産生は、記憶・学習などの高次脳機能維持に重要である。しかしながら、その数は加齢に伴って減少し、それが老齢期における記憶学習能力低下の一因とされている。加齢に伴う生理的・病的な変化として、タンパク質の分解系の活性低下により誘導される小胞体ストレス、およびその遷延化を介したタンパク質代謝の恒常性維持機構の破綻が知られている。研究代表者は、中枢神経系でのタンパク質分解系の活性低下による小胞体ホメオスタシスの破綻のモデルとして、小胞体膜分子 Derlin-1 の中枢神経特異的な欠損マウスを作製し解析を行ったところ、成体神経幹細胞の枯渇や脳内炎症など、老齢マウスと非常に類似した表現型が得られた。これらより、小胞体品質管理機構の破綻が加齢による成体ニューロン新生や記憶学習能力の低下に関与することが示唆されるが、その原因となる神経幹細胞老化やそれを取り巻く環境(ニッチ)と小胞体ストレスとの関連は全く不明である。

2. 研究の目的

本研究では、中枢神経特異的な Derlin-1 の欠損を脳内老化モデルと仮定し、神経幹細胞の挙動やニッチの変化を老齢マウスと比較検討しつつ詳細に解析することで、加齢による成体ニューロン新生や記憶学習能力の低下を引き起こす新規メカニズムの提示を目指した。

3. 研究の方法

本研究では、細胞死の誘導に至らない慢性的な小胞体ストレスが惹起され続ける Der11cKO (NSC) マウスの解析を通して、加齢による成体ニューロン新生、および記憶学習能力の低下を引き起こす原因を探った。具体的には以下の通りである。

Der11cKO (NSC) マウスの成体ニューロン新生の変化の解析
体海馬でのニューロン新生は主に 5 つのステージに分けられ、それぞれのステージが生涯を通じた恒常的なニューロン産生に重要である。そこで、Der11cKO (NSC) マウスにおける成体ニューロン新生の各ステージでの変化を免疫組織学やウェスタンブロット等により解析した。これらにより、Der11cKO (NSC) マウスがどの程度老齢マウスの成体ニューロン新生の変化を模倣しているかについて検証した。

行動解析による Der11cKO (NSC) マウスの記憶学習能力の検証
Der11cKO (NSC) マウスがどの程度成体ニューロン新生と関連した記憶学習能力の低下が見られるかについて、位置認識テストを行い検証した。

in vitro モデルを用いた Der11cKO (NSC) マウス表現型の検証と確認
ラット成体海馬由来の神経幹細胞を用いて、Der11 の欠損による細胞の動態変化を増殖細胞のラベルや免疫組織学、ウェスタンブロット等により検証した。

神経幹細胞における Derlin-1 の標的因子の探索
in vitro モデルの神経幹細胞を用いて表現型が強く現れる条件において RNA-seq 解析を行い、網羅的に Derlin-1 の標的因子の探索を行った。得られた候補因子に関して、Der11 の欠損による成体神経幹細胞の表現型を説明できるかを検証した。

4. 研究成果

本研究により、小胞体ホメオスタシスの維持に重要な Derlin-1 が神経幹細胞の静止状態に関与し、その欠損による小胞体ホメオスタシスの破綻が成体神経幹細胞の異常な活性化を継続的に引き起こすことで幹細胞が早期に枯渇してしまうことを明らかにした。

成体ニューロン新生の変化を解析する目的で、若齢期の Der11cKO (NSC) マウスの海馬領域の細胞増殖や新生ニューロンの量を解析したところ、細胞増殖が顕著に増加していることが明らかになった。さらに、このマウスのニューロン新生の変化を経時的に追ったところ、コントロールマウスと比較して、早期に神経幹細胞の数および新生ニューロンの数が減っていくことがわかった。次に、この神経幹細胞の減少が老化で見られる記憶学習能力の低下に関連するかについて位置認識テストを行ったところ、幹細胞の枯渇した Der11cKO (NSC) マウスでは記憶学習能力が低下していることが明らかになった。さらに、この表現型の詳細なメカニズムを調べるため、ラットの成体海馬由来の神経幹細胞で Derlin-1 をノックダウンし解析を行った。その結果、人為的な神経幹細胞の活性化や静止状態への移行の実験により、Derlin-1 が神経幹細胞の活性化状態から静止状態への移行に重要であることがわかった。さらに、この細胞を用いて Derlin-1 の

ノックダウンにより変動する遺伝子を RNA-seq により網羅的に解析した。その結果いくつかの候補遺伝子が見つかった。そのうちのいくつかを神経幹細胞でノックダウンしたところ、そのうちのひとつで Derlin-1 のノックダウンと同様の表現型が得られ、さらに Derlin-1 をノックダウンした細胞に過剰発現を行うことで静止期への移行阻害が緩和されることが明らかになった。このことから、Derlin-1 の欠損マウスで脳内老化状態を引き起こすのに関連する重要な候補遺伝子を発見することができた。今後はこの因子が老化と関わるかについての解析を行うことで神経幹細胞の老化メカニズムの解明を目指す。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Murao Naoya, Matsubara Shuzo, Matsuda Taito, Noguchi Hirofumi, Mutoh Tetsuji, Mutoh Masahiro, Koseki Haruhiko, Namihira Masakazu, Nakashima Kinichi	4. 巻 143
2. 論文標題 Np95/Uhrf1 regulates tumor suppressor gene expression of neural stem/precursor cells, contributing to neurogenesis in the adult mouse brain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 31～43
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2018.05.007	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Naoya Murao, Hideki Nishitoh
2. 発表標題 Role of Derlin-1 in the adult hippocampal neurogenesis
3. 学会等名 NEURO2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村尾直哉、西頭英起
2. 発表標題 小胞体膜分子Derlin-1の成体海馬ニューロン新生における役割
3. 学会等名 第14回小胞体ストレス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村尾直哉、西頭英起
2. 発表標題 小胞体膜分子 Derlin-1の成体海馬ニューロン新生における役割
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Murao, Hideki Nishitoh
2. 発表標題 The Endoplasmic reticulum protein Derlin-1 maintains neural stem cell populations in the adult hippocampus
3. 学会等名 第16回成体脳のニューロン新生懇談会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村尾直哉
2. 発表標題 Role of Derlin-1 in the Maintenance of Stem Cell Populations in Adult Hippocampal Neurogenesis
3. 学会等名 オルガネラゾーン若手の会
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------