

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16603

研究課題名(和文) リポカリン型PGD合成酵素による認知症制御に関する研究

研究課題名(英文) Investigation of the role of lipocalin-type PGD synthase in dementia

研究代表者

永田 奈々恵 (Nagata, Nanae)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任助教

研究者番号：80390805

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：リポカリン型プロスタグランジンD合成酵素(L-PGDS)はクモ膜やオリゴデンドロサイトに多く発現し、PGD2を産生して睡眠を誘発するとともに神経を保護し、アミロイド β と結合してその蓄積を抑制している可能性が考えられる。本研究では、アルツハイマー病モデルマウスを用い、L-PGDS遺伝子の欠損が睡眠や認知行動に与える影響を検討した。L-PGDS遺伝子の欠損がマウス脳内のアミロイド β の蓄積に影響することをin vivoで明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

老年人口の増加に伴い認知症患者数が増加しており、予防や治療へ向けた対策が求められている。また、睡眠不足は認知症のリスクを高める一方で、認知症患者の7割以上が睡眠障害を併発していることが知られている。アルツハイマー病患者の脳内では、Amyloid β の沈着物である老人斑が観察される。本研究で、睡眠誘発に關与するL-PGDSが認知症に伴うアミロイド β の集積に影響することがin vivoで示唆された。認知症の制御につながる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：Lipocalin-type prostaglandin D synthase (L-PGDS) is abundantly expressed in arachnoid membranes and oligodendrocytes. L-PGDS produces PGD2 to regulate sleep and protect nerves. In this study, we investigated the effects of L-PGDS gene deficiency on sleep and cognitive/emotional behavior using Alzheimer's disease model mice. We demonstrated that deletion of the L-PGDS gene affected amyloid- β accumulation in vivo.

研究分野：生化学

キーワード：L-PGDS 認知

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

老年人口の増加に伴い認知症患者数が増加しており、予防へ向けた対策が求められている。認知症の約5割を占めるアルツハイマー病患者の脳内では、Amyloid β ($A\beta$) の沈着物である老人斑とタウ蛋白の沈着物である神経原繊維の変化が観察される。 $A\beta$ は神経細胞外に蓄積する一方で、タウは神経細胞とオリゴデンドロサイトなどのグリア細胞にも蓄積し、シナプス障害や神経細胞死を引き起こす。アルツハイマー病による神経変性を抑止するには、“ $A\beta$ やタウの蓄積”を抑制する必要があるが、そのプロセスはよく分かっていない。

脳脊髄液は、脳内の血管に沿ってその外側を洗い流す。睡眠中は、脳内を埋める細胞のうち、アストロサイトが縮むことで脳細胞の間隙が広がり、脳脊髄液の流れが良くなり老廃物が排泄される。睡眠不足は認知症のリスクを高める一方で、認知症患者の7割以上が睡眠障害を併発しており、彼らの夜間徘徊は介護上大きな問題となる。

リポカリン型 PGD 合成酵素 (L-PGDS) はクモ膜や脈絡叢の他、タウが多く発現するオリゴデンドロサイトに多く発現している。また、脳脊髄液中にも豊富に含まれる。L-PGDS は細胞膜のアラキドン酸から PGD₂ を合成するだけでなく、疎水性低分子を輸送するリポカリンファミリーに属する蛋白質である。L-PGDS は、睡眠不足により発現量が増加して PGD₂ を産生し睡眠を誘発する (PNAS 1993) こと、脱髄疾患モデルにおいて、グリア細胞の L-PGDS は神経保護作用を持つ (J Neurosci 2002) こと、水頭症患者において、脳脊髄液中の L-PGDS 濃度はタウの濃度や大脳白質障害と正に相関し、脳機能テストの成績と負に相関する (Fluids Barriers CNS 2014) ことが分かっている。これらの過去の報告と予備知見から、睡眠不足により発現が増加する L-PGDS は、PGD₂ を産生して睡眠を誘発するとともに神経を保護し、 $A\beta$ やタウと結合してその蓄積を抑制している可能性が考えられた。

2. 研究の目的

アルツハイマー病モデルマウスを用い、L-PGDS を介した睡眠と認知・情動行動との関連を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 野生型マウス、および L-PGDS 遺伝子欠損マウスに断眠処置を行い、断眠後の行動量を評価した。解析には実験動物の画像を取得して、既存技術により行動を解析した。

(2) 野生型マウス、およびアルツハイマー病モデルマウス (APP(NL-G-F)) の尿中および糞便中に排泄された脂質メディエーターを質量分析装置により網羅的に解析した。

(3) APP(NL-G-F) と L-PGDS 遺伝子欠損マウスを交配し、L-PGDS 遺伝子を欠損する APP(NL-G-F) マウスを作製した。

(4) 上記マウスの高齢マウスを用いて、Y 字迷路試験やオープンフィールド試験を行い、その行動を評価した。

4. 研究成果

(1) まず、野生型マウスに断眠処置を施すことによりリバウンド睡眠を誘発した。免疫染色により、このマウスの脳内では、L-PGDS の発現が増強することを確認した。次に、L-PGDS 遺伝子欠損マウスに断眠処置を施し、その行動量を野生型マウスと比較した。L-PGDS 遺伝子欠損マウスでは断眠処置後の行動量が増加しており、行動量をモニターすることで、睡眠を評価できることを確認できた。また、野生型マウスの脳ホモジネートを用いて免疫沈降を実施し、L-PGDS タンパク質とタウタンパク質が共免疫沈降することを確認した。

(2) 12 か月齢以上の野生型および APP(NL-G-F) マウスの、尿中および糞便中に排泄された脂質メディエーターを網羅的に解析した。アラキドン酸由来の脂質代謝物の一部が APP(NL-G-F) マウスで僅かに減少傾向がみられた他は、両者に殆ど差はなかった。

(3) APP(NL-G-F)マウスと L-PGDS 遺伝子欠損マウスを交配し、L-PGDS 遺伝子を欠損する APP(NL-G-F)マウスを作製した。6 か月齢以上になったマウスの脳切片をチオフラビン S で染色し、脳内に A β 沈着がしていることを確認した。18 か月齢以上になったマウスでは、L-PGDS 遺伝子欠損 APP(NL-G-F)マウスの方が、APP(NL-G-F)マウスよりも、脳内のチオフラビン S の凝集像が多く観察された。

(4) 18 か月齢以上になった APP(NL-G-F)マウスと、L-PGDS 遺伝子を欠損した APP(NL-G-F)マウスの行動を比較した。平常時の行動量では、明期および暗期ともに、両系統のマウスの行動量に差は見られなかった。Y 字迷路試験では総自発行動回数および空間作業記憶に差がみられなかった。また、オープンフィールド試験では不安の指標となる中央区画での滞在時間や自発運動量には差がみられなかった。今後、更に詳細に解析を進めるとともに、異なる月齢のマウスについても行動解析を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 1. Nagata N, Hamasaki Y, Inagaki S, Nakamura T, Horikami D, Yamamoto-Hanada K, Inuzuka Y, Shimosawa T, Kobayashi K, Narita M, Ohya Y, Murata T.	4. 巻 35
2. 論文標題 Urinary lipid profile of atopic dermatitis in murine model and human patients.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FASEB J.	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） 10.1096/fj.202100828R.	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 2. Nagata N, Masuko S, Inoue R, Nakamura T, Aritake K, Murata T.	4. 巻 26
2. 論文標題 Development of Monoclonal Antibody-Based EIA for Tetranor-PGDM which Reflects PGD2 Production in the Body.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Immunol Res.	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） 10.1155/2021/5591115.	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 Kobayashi K, Ashina K, Derouiche S, Hamabata T, Nakamura T, Nagata N, Takenouchi S, Tominaga M, Murata T.	4. 巻 35
2. 論文標題 5,6-dihydroxy-8Z,11Z,14Z,17Z-eicosatetraenoic acid accelerates the healing of colitis by inhibiting transient receptor potential vanilloid 4-mediated signaling.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FASEB J.	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） 10.1096/fj.201903207RRR.	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 Kobayashi K, Ashina K, Derouiche S, Hamabata T, Nakamura T, Nagata N, Takenouchi S, Tominaga M, Murata T.	4. 巻 35
2. 論文標題 5,6-dihydroxy-8Z,11Z,14Z,17Z-eicosatetraenoic acid accelerates the healing of colitis by inhibiting transient receptor potential vanilloid 4-mediated signaling.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FASEB J.	6. 最初と最後の頁 e21238
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.201903207RRR.	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12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木十萌歌, 永田奈々恵, 村田幸久
2. 発表標題 5,6-DiHETEはアレルギー様結膜炎を抑制する新規生理活性脂質である
3. 学会等名 第3回日本比較薬理学毒性学会春季研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木十萌歌, 永田奈々恵, 中村達朗, 村田幸久
2. 発表標題 5,6-DiHETEはマウスのヒスタミン誘発性の結膜炎を抑制する
3. 学会等名 第145回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 The role of PGD2/CRTH2 signaling in allergic reaction
2. 発表標題 木田 美聖、中村 達朗、永田 奈々恵、村田 幸久
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 益子 櫻、永田 奈々恵、井上 理香子、中村 達朗、有竹 浩介、村田 幸久
2. 発表標題 Development of monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for tetranor-Prostaglandin D Metabolite
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西田 南海子、下地 啓五、永田 奈々恵、裏出 良博、陣上 直人、奥村 亮介、岡田 務、戸田 弘紀、松本 禎之、石川 正恒、岩崎 孝一
2. 発表標題 髄液中リボカリン型プロスタグランジンD合成酵素濃度は特発性正常圧水頭症において 放線冠の白質異方性と相関する
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第79回学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹ノ内 晋也、今井 大貴、小林 幸司、中村 達朗、永田 奈々恵、村田 幸久
2. 発表標題 新規炎症抑制脂質5,6-DiHETEの経口投与はマウスのDSS誘導性腸炎を抑制する
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀上 大貴、堰八 英里香、大森 啓介、小林 幸司、永田 奈々恵、中村 達朗、倉田 薫里、植村 明嘉、村田 幸久
2. 発表標題 L-PGDSとH-PGDSは網膜血管新生を促進する
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹ノ内 晋也、今井 大貴、小林 幸司、中村 達朗、永田 奈々恵、村田 幸久
2. 発表標題 新規炎症抑制脂質5,6-DiHETEのDSS誘導性腸炎モデルマウスに対する治療効果の検討
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西田 南海子、下地 啓五、永田 奈々恵、陣上 直人、岡田 務、奥村 亮介、戸田 弘紀、松本 禎之、石川 正恒、岩崎 孝一
2. 発表標題 CSF lipocalin-type prostaglandin D synthase correlates with callosal and cingulum fiber integrity in iNPH
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第78回学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堰八 英里香、大森 啓介、小林 幸司、永田 奈々恵、中村 達朗、倉田 薫里、植村 明嘉、村田 幸久
2. 発表標題 The role of Prostaglandin D2 synthase in retinal angiogenesis
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永田 奈々恵、瀧崎 雄大、稲垣 真一郎、中村 達朗、堀上 大貴、山本 貴和子、犬塚 祐介、下澤 達雄、橘 侑里、成田 雅美、大矢 幸弘、村田 幸久
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎モデルマウス及び患者における尿中脂質プロファイルの解析
3. 学会等名 第2回比較薬理学・毒性学会春季研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井大貴、大森啓介、壺阪義記、永田奈々恵、小林幸司、中村達朗、村田幸久
2. 発表標題 L-PGDSがエストロゲン枯渇による骨破壊に与える影響
3. 学会等名 第140回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2019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
---------	---------