

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：32689

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K20196

研究課題名（和文）カンナビノイド受容体CB1によるミトファジー調節機構と加齢性記憶障害への関与

研究課題名（英文）Regulatory mechanism of CB1-mediated mitophagy and its involvement in age-associated memory decline

研究代表者

片岡 孝介（Kataoka, Kosuke）

早稲田大学・総合研究機構・次席研究員（研究院講師）

研究者番号：60822260

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）：内在性カンナビノイド系は、加齢に伴う記憶・学習能力の低下に関与している。一連の既往研究から、内在性カンナビノイド系を構成するCB1受容体は生涯に渡る記憶・学習能力の保持に重要であると考えられているが、そのメカニズムは不明である。本研究では、神経細胞の機能維持に重要なミトコンドリアの品質管理機構におけるCB1受容体の役割を解析した。その結果、(1) CB1-KOは成熟期特異的にミトコンドリアオートファジー活性が低下していること、(2) 成熟期のCB1-KOではミトコンドリアの伸長性・相互接続性が顕著に増加していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先進国で高齢化が加速度的に進む中で老化研究の重要性は高まりつつある。超高齢化社会が進行している日本において、2020年には認知症の患者が600万人に達すると予想されている。加齢性記憶障害は、高齢者自身やその家族のQOLにも関わる重要な問題であるが、少子化に伴って生産年齢人口が減少の一途辿る日本において、経済成長という観点からも重要な課題である。脳内で最も発現しているGタンパク質共役型受容体であるCB1受容体は、加齢性記憶障害の有望なターゲットの一つである。本研究成果は、内在性カンナビノイド系の加齢性記憶障害の抑制機構の一端を明らかにし、加齢性記憶障害の予防・治療戦略の構築に資すると期待される。

研究成果の概要（英文）：The endocannabinoid system is implicated in age-related decline in memory and learning ability. A series of previous studies have suggested that CB1 receptors, which comprise the endocannabinoid system, are important for the maintenance of memory and learning ability throughout life, but the mechanism is unknown. In this study, I analyzed the role of CB1 receptors in mitochondrial quality control mechanisms that are crucial for maintaining neuronal function and integrity. I found that (1) CB1-KOs exhibit reduced mitochondrial autophagy activity in their adult ages, and (2) mitochondrial elongation and interconnectivity are markedly increased in mature CB1-KOs.

研究分野：神経科学

キーワード：内在性カンナビノイド系 CB1受容体 加齢性記憶障害 オートファジー ミトコンドリア

### 1. 研究開始当初の背景

CB1 受容体は、大麻の有効成分であるカンナビノイドや、生体内で作られる内在性カンナビノイドの受容体であり、中枢神経系の神経細胞に強く発現している。一連の先行研究から、CB1 受容体が加齢性記憶障害に関わることが示されてきた。例えば、CB1 受容体の活性は加齢とともに低下することや、CB1 受容体を欠損したマウス (CB1 KO マウス) は、加齢に伴って海馬の神経細胞数が減少し、急速に記憶障害を引き起こす。また驚くべきことに、大麻由来のカンナビノイドで CB1 受容体を活性化すると、加齢に伴う記憶力低下が緩和する (Bilkei-Gorzo and Zimmer et al., Nat. Med., 2017)。これより、CB1 受容体は加齢に伴う諸々のダメージから海馬の神経細胞を保護していると考えられている (Marzo and Zimmer et al., Nat. Rev. Neurosci., 2015)。しかし、CB1 受容体の活性低下やノックアウトがどのような機構で加齢性記憶障害を加速させているのか不明である。

### 2. 研究の目的

そこで、ミトファジーの活性化に重要なリン酸化ユビキチンが、CB1 KO マウスの海馬神経細胞で減少すること示唆する結果に基づき、CB1 受容体によるミトファジー制御機構の解明や CB1 受容体は海馬における加齢に伴うミトファジーの活性低下に寄与するか解明することを本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、若齢期 (1~2 ヶ月) および成熟期 (6~7 ヶ月) の CB1 KO マウスおよび野生型マウスを用いて、海馬におけるリン酸化ユビキチンの免疫組織化学解析および TEM および SEM 連続断面観察 (FIB/SEM) を用いたミトファジー頻度およびミトコンドリアの形態の解析を実施した。

### 4. 研究成果

まず、ミトコンドリアオートファジーに重要なリン酸化ユビキチンの発現を免疫組織化学的に解析した。その結果、CB1 KO マウスは海馬において成熟期 (6~7 ヶ月) 特異的にリン酸化ユビキチンの発現が減少していることが分かった。このリン酸化ユビキチンの減少は、若齢期 (1~2 ヶ月) のマウスでは見出せなかった。さらに、リン酸化ユビキチンの減少は、CA1 錐体細胞層で特に顕著であることが分かった。

さらに、透過型電子顕微鏡を用いて、CA1 錐体細胞層の神経細胞細胞体において、ミトファジー様の現象を計数した。その結果、成熟期 (6~7 ヶ月) の CB1 KO マウスにおいて、ミトファジー様現象が野生型マウスのそれよりも有意に現象していることが明らかとなった (図 1)。本結果は、リン酸化ユビキチンの結果とも合わせて、CB1 KO マウスの海馬では、年齢依存的にミトファジー活性が減衰していることを示唆している。

次に、透過型電子顕微鏡および走査型電子顕微鏡連続断面観察により、ミトコンドリア形態を解析した。透過型電子顕微鏡解析の結果、野生型マウスでは成熟期への移行に伴い、ミトコンドリアの断面積と周径が増加しており、ミトコンドリアの形態が丸く大きく変化していることが示唆された。一方、若齢期の CB1 KO マウスでは、若齢期の野生型マウスとミ

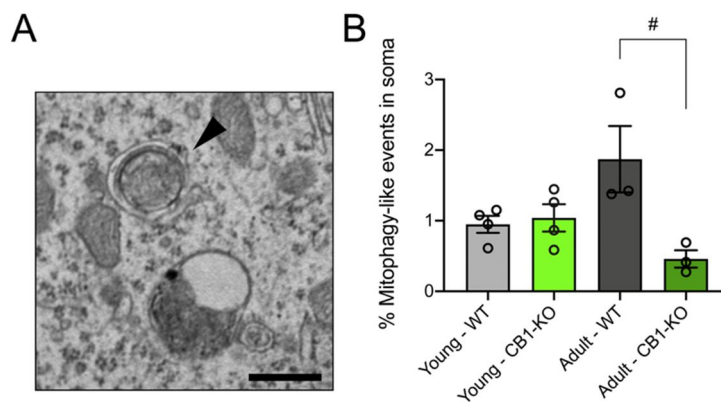


図 1. 海馬 CA1 層におけるミトファジー様現象

Kataoka et al., 2020 より抜粋

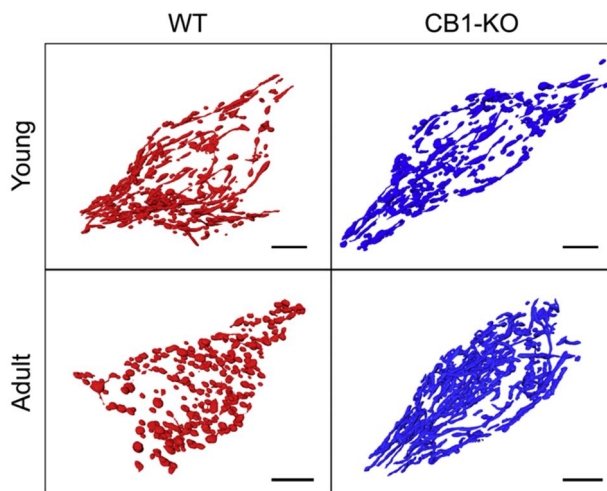


図 2. 海馬 CA1 層におけるミトコンドリア形態

Kataoka et al., 2020 より抜粋

トコンドリア形態に大きな差異は見られなかったが、成熟期に移行すると CB1 KO のミトコンドリアの真円度（0 から 1 の間の値を取り、1 に近づくほど真円を示す）が顕著に減少した。この結果をさらに確かめるために、走査型電子顕微鏡連続断面観察により、ミトコンドリアの立体構造を再構築し、その形態を評価した。その結果、成熟期の CB1 KO マウスの海馬神経細胞におけるミトコンドリアは相互接続性が増強され、超伸長化していることが示唆された。以上より、CB1 KO の海馬神経細胞では、ミトコンドリア形態が成熟期特異的に相互接続・伸長化していることが明らかになった。

ミトコンドリアの形態制御とマイトファジーの効率は密接に関わっており、以上の結果を踏まえると、CB1 KO の海馬神経細胞では、ミトコンドリア形態制御に異常をきたしており、マイトファジー活性が減少している可能性がある。この結果を踏まえて、CB1 受容体を中心とした内在性カンナビノイド系が関与するミトコンドリア品質管理機構ならびにその脳老化への関与に関する理解が進んだと期待される。

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kosuke Kataoka, Andras Bilkei-Gorzo, Chihiro Nozaki, Akinobu Togo, Keiichiro Nakamura, Keisuke Ohta, Andreas Zimmer, Toru Asahi	4. 巻 160
2. 論文標題 Age-dependent Alteration in Mitochondrial Dynamics and Autophagy in Hippocampal Neuron of Cannabinoid CB1 Receptor-deficient Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Research Bulletin	6. 最初と最後の頁 40-49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainresbull.2020.03.014	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 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 森一明, 朝日透, 片岡孝介
2. 発表標題 Subcellular localization-dependent function of cannabinoid CB1 receptor in mitochondria
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森一明, 朝日透, 片岡孝介
2. 発表標題 ミトコンドリアにおけるカンナビノイド受容体CB1が果たす細胞内局在依存的な役割
3. 学会等名 臨床カンナビノイド学会第8回学術集会・総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuaki Mori, Toru Asahi, Kosuke Kataoka
2. 発表標題 The role of cannabinoid CB1 receptor in mitochondrial dynamics
3. 学会等名 第64回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森一明, 片岡孝介, 秋山義勝, 朝日透
2. 発表標題 細胞外マトリックスを化学固定したPDMS表面の伸展培養への応用と評価
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kosuke Kataoka
2. 発表標題 Mitophagy is reduced in by cannabinoid receptor CB1 deficiency in hippocampal pyramidal neuron
3. 学会等名 University of Waseda Day (国際学会)
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
研究協力者	森 一明  (Mori Kazuaki)		

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