新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

神経変性疾患に関わる遺伝子群の網羅的解析

研究代表者 堀 由起子¹⁾

研究分担者 宮下 哲典²⁾, 木村 妙子¹⁾, 高鳥 翔¹⁾, 原 範和²⁾, 池内 健²⁾, 富田 泰輔¹⁾

1) 東京大学大学院薬学系研究科 2) 新潟大学脳研究所

研究要旨

アルツハイマー病などの神経変性疾患は、タンパク質が異常に凝集したアミロイド線維が細胞内外に蓄積することを疾患原因とする。これまで我々は疾患治療を目指して、光照射によってアミロイドを酸素化する光酸素化触媒を開発した。また本触媒を用いた光酸素化反応が生体内でアミロイド除去という効果を発揮することを見出した。しかしその薬効発揮のメカニズムは明らかではない。そこで本研究では、新潟大学脳研究所の池内健先生らと共同で RNAseq 解析を行い、光酸素化反応による生体内反応を網羅的に明らかにすることを目的とした。その結果、光酸素化によって多くの遺伝子が発現変動することを明らかにした。また遺伝子オントロジー解析から、免疫応答やケモタキシスに関わる多くの分子が変動していることを見出し、神経細胞だけでなくグリア細胞も応答していることが明らかになった。今後、この変動が光酸素化効果発揮に繋がる詳細なメカニズムを明らかにしたい。

A. 研究目的

アルツハイマー病などの神経変性疾患は、タンパク質が異常に凝集したアミロイド線維が細胞内外に蓄積することを疾患原因とする。そのためこれら神経変性疾患群の治療法として、生体からのアミロイドの効率的な除去技術が求められている。我々は、このアミロイド除去を可能とする独自の技術として、アミロイドに対し選択的に酸素付加（光酸素化）する光酸素化法を開発し、これまでにその有用性を *in vitro* および *in vivo* の検討から証明してきた。しかしその効果発揮の背景にある分子メカニズムは未だ不明であった。そこで本研究では、光酸素化によって起こる生体内応答を網羅的に明らかにすることを目的として、新潟大学脳研究所の池内健先生らとともに RNAseq 解析を行い、変動する遺伝子群や機能的パスウェイを明らかにすることを目的に研究を行った。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

本研究に関する動物実験の承認は東大薬にて既に得ている。本年度の研究においてはアミロイドとして、アルツハイマー病において神経細胞内に蓄積し疾患発症に関わることが知られているタウに着目した。

東大薬において、神経細胞内に月齢依存的にタウが蓄積するタウトランスジェニックマウス (PS19 マウス) に対し、既に確立済みの光酸素化触媒と光照射を利用した非侵襲的な光酸素化反応を行った。光酸素化反応を行った群、およびコントロールとして無処理、光照射のみ、触媒投与のみの計4群を用意した。

これらのマウスから脳 (皮質) を採取して新潟脳研に送付し、バルク RNAseq 解析を行った。また得られた結果を用いて遺伝子オントロジー解析を行うことで、変化した機能的パスウェイも見

出した。

C. 研究結果

RNAseq 解析結果に基づき、無処理の PS19 マウスと比較して、有意に発現変動した遺伝子を抽出した。その結果、光照射のみおよび触媒投与のみの場合は、有意に発現変動した遺伝子数はそれほど多くなかった一方で、光酸化反応を行った群では約 4,000 の多くの遺伝子が発現変動していることを見出した。このことから、光酸化反応によって生体内で様々な応答が生じていることが明らかになった。

発現が減少した遺伝子群の遺伝子オントロジー解析を行うと、軸索形成に対する **negative regulator** など、神経細胞やシナプスに関わる遺伝子群が抽出された。一方、発現が上昇した遺伝子群の遺伝子オントロジー解析では、ケモタキシスや免疫応答に関わる遺伝子群がトップヒットとして抽出された。この結果から、神経細胞のみならずグリア細胞も、光酸化反応に対して応答し変化していることが明らかになった。

D. 考察

本研究結果から、光酸化反応特異的に様々な生体内応答が生じていることが明らかになった。光照射のみ、触媒投与のみではこれほどの応答は生じていないことから、光酸化反応の特異性が裏付けられる。

PS19 マウスでは、神経細胞内にタウの凝集・蓄積が観察される。光酸化反応はアミロイドに対して選択的に生じる反応であることから、本反応は神経細胞で生じていることが想定される。本研究結果から、免疫応答分子が多く変動していることが明らかになった。すなわち、直接光酸化反応が生じているわけではないグリア細胞も、様々な変化していることが推測される。このことは、神経細胞で生じた変化がグリア細胞にも影響を及ぼし、神経—グリア間のコミュニケーションによって脳全体として応答していることを示唆するものである。このような非細胞自律的な脳全体の応答が、アミロイド除去という光酸化の効果発揮にどのように繋がっていくのか大変興味

深い。

E. 結論

本研究から、光酸化反応によって脳内で様々な遺伝子が発現変動し、応答していることが明らかになった。これらの応答が、光酸化によるアミロイド除去効果に結びつく可能性があり、メカニズム解明にむけて大きな一歩を踏み出すことができた。今後は、発現変動した分子群に着目し、その詳細なメカニズムを解明したい。

F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

1. Society for Neuroscience 2023、2023 年 11 月 11 日～15 日、於：ワシントン DC
400.06, Screening for the regulators of tau secretion: Haruaki Sato, Kensaku Kasuga, Noriko Isoo, Toshihiro Hayashi, Takeshi Ikeuchi, Yukiko Hori, Taisuke Tomita、ポスター発表
2. 第 46 回日本分子生物学会年会、2023 年 12 月 6 日～8 日、於：神戸ポートアイランド
1P-730, 光酸化触媒による凝集タウ除去機構の解析: 中川葉奈子、鈴木崇允、澤崎鷹、原範和、宮下哲典、池内健、相馬洋平、金井求、堀由起子、富田泰輔、ポスター発表

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし