

脳内成長因子の生理作用と病態に関する研究

Physiological actions and pathological relevance
of growth factors in the brain

西原 真杉 (NISHIHARA MASUGI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



研究の概要

我々が脳の性分化や神経新生に関与する成長因子として同定したプログラニューリンの遺伝子変異が、神経変性疾患の一因であることが明らかとなった。本研究は脳内における成長因子の作用に関する生理学的研究と、その遺伝子変異により誘発される神経変性疾患に関する病理学的研究を融合させ、神経細胞の生存と変性に関わる分子機構を解明することを目指している。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：動物生命科学・統合動物科学

キーワード：脳・神経、成長因子、神経変性、神経新生

1. 研究開始当初の背景

我々は性ステロイドホルモン依存的な脳の性分化や神経新生に関与する分子として、成長因子の一種であるプログラニューリン (PGRN) を同定した。一方、PGRN の遺伝子変異が前頭側頭葉変性症などの神経変性疾患の原因となることが報告され、改めて脳内における成長因子と病態の関係が注目を集めている。さらに、前頭側頭葉変性症ではスプライシング関連因子である TAR DNA binding protein (TDP)-43 が異常リン酸化され、神経細胞に蓄積していることが明らかとなった。これらの発見は、PGRN 遺伝子の変異により異常タンパク質が細胞内に蓄積し、神経細胞が変性を起こすというメカニズムの存在を示唆しているが、その分子機構は不明であった。

2. 研究の目的

本研究においては成長因子 PGRN に焦点を当て、1) 成長因子の脳内における生物学的作用とその作用機序、2) 成長因子の異常による異常タンパク質の蓄積と神経変性の機序、の2点を解明し、脳内成長因子がタンパク質の異常な凝集を抑制して神経変性を防ぐ普遍的な機構を明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

我々が作出した PGRN 欠損マウス等の動物モデルを用いて組織学的解析や行動学的

解析を行い、脳内における PGRN の生理的役割を検討する。また、実験的脳傷害を誘導した場合の回復過程や神経炎症について解析を行い、PGRN の病態生理学的役割について検討する。さらに、培養神経細胞を用いて成長因子の細胞内情報伝達機構や誘導される遺伝子、タンパク質を解析し、細胞レベルでの成長因子の作用および作用機序を解明する。また、成長因子と TDP-43 との関係に焦点を当て、神経変性疾患罹患脳に蓄積する TDP-43 に関する生化学的解析を行う。さらに、各種動物モデルおよび細胞モデルを用いて、異常リン酸化 TDP-43 の蓄積機構や細胞間の伝播機構について解析し、脳内成長因子の異常により誘導される神経変性の分子機構を明らかにする。

4. これまでの成果

成熟動物では走行運動により海馬歯状回において PGRN の発現が上昇して神経新生が促進されるが、PGRN 欠損マウスでは走行運動による神経新生の促進が見られないことが明らかとなった。このことは、運動による海馬歯状回の神経新生の促進は、PGRN を介していることを示唆している。一方、神経炎症における PGRN の役割を調べるため、マウスに実験的外傷性脳傷害 (TBI) を適用した結果、PGRN の発現は CD68 陽性の活性化ミクログリアで増加することが明らかとなった。さらに、PGRN はミクログリアの過剰な活性化を抑制し、アストログリオシス、

酸化ストレス、血管新生などの神経炎症反応を抑制することが示された。また、PGRNはリソソームに局在して哺乳類ラパマイシン標的タンパク質複合体 (mTORC1) の活性化を介して転写因子 EB (TFEB) の核移行を阻止することにより、リソソームの生合成を抑制することが示された。これらの結果は、PGRN の欠如によって神経炎症やリソソームの機能不全が亢進し、神経細胞における異常タンパク質の蓄積に関与していることを示唆している。

一方、前頭側頭葉変性症患者の病型は蓄積する異常 TDP-43 の特徴から Type A、B、C の3つに分類される。そこで、A、B、Cそれぞれの病型の不溶性 TDP-43 を調製し、培養細胞に導入後、細胞内で蓄積する TDP-43 の生化学解析を行った結果、導入した患者脳 TDP-43 とほぼ同じパターンの TDP-43 が細胞内に蓄積することが確認された。すなわち、導入した異常 TDP-43 を鋳型としてそれと同様の構造を有する TDP-43 凝集体が培養細胞内で形成されることが明らかとなった。この結果から、患者脳に蓄積する異常 TDP-43 はプリオン病における異常プリオンのように自らを鋳型として同じ構造の異常型のコピーを作り出す能力を有すること、さらに異常 TDP-43 は細胞から細胞へと伝播することが示唆された。また、培養神経細胞を用いた解析の結果、酸化ストレスやグルコース枯渇ストレスが PGRN 産生を増強すること、PGRN は Erk1/2 の活性化を介して酸化ストレス誘導性細胞死を抑制することを見出した。さらに、PGRN 欠損神経前駆細胞ではサーチュイン遺伝子 (SIRT1) の発現が変化していること、また SIRT1 は細胞の保護作用に関与することが示唆された。PGRN は神経細胞において広範なストレスに応答して発現制御される因子であり、神経前駆細胞の増殖や細胞死の抑制を介して神経保護作用を発揮し、このようなストレス応答システムの異常が各種の神経疾患に関与していることが示唆された。

以上、本研究によって PGRN は脳傷害や加齢に伴い活性化ミクログリアで発現してリソソームに局在し、リソソームの生合成やオートファジー・リソソーム系を制御することにより神経炎症や異常タンパク質の蓄積を抑制していることが示唆された。さらに、細胞間を伝播する異常タンパク質を鋳型として正常タンパク質が構造異常を起こすことにより病態が進行すること、神経細胞に対する各種ストレスにより PGRN の発現が上昇して神経細胞を保護することが示唆された。本研究により得られた知見は、PGRN の脳内における生理学的、病態生理学的役割に関する理解を大きく進展させるとともに、神経変性疾患や認知症の発症機構の解明にも大きく貢献するものである。

5. 今後の計画

PGRN はリソソームに局在することが示されたため、今後、リソソームへの輸送機構やリソソームにおける mTORC1 の活性化機構について、培養細胞系等も用いながら解明を目指す。運動、加齢、ストレス等の神経新生への影響に対して PGRN がどのように関与しているかについても、さらに解析を進める。また、培養細胞系を用いて異常 TDP-43 がプリオン様活性を有していることが示されたが、今後、異常 TDP-43 を PGRN 欠損マウスの脳に接種し、個体レベルでこの伝播機構を実証する。さらに、培養細胞系を用いて遺伝子ノックダウンや過剰発現などの分子生物学的手法を用いた解析を行い、神経細胞における PGRN の作用発現機構の解明を目指す。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Tanaka Y, Matsuwaki T, Yamanouchi K, Nishihara M (2013) Increased lysosomal biogenesis in activated microglia and exacerbated neuronal damage after traumatic brain injury in progranulin-deficient mice. *Neuroscience* 250, 8-19.

Tanaka Y, Matsuwaki T, Yamanouchi K, Nishihara M (2013) Exacerbated inflammatory responses related to activated microglia after traumatic brain injury in progranulin-deficient mice. *Neuroscience* 231, 49-60.

Nonaka T, Masuda-Suzukake M, Arai T, Hasegawa Y, Akatsu H, Obi T, Yoshida M, Murayama S, Mann DM, Akiyama H, Hasegawa M (2013) Prion-like properties of pathological TDP-43 aggregates from diseased brains. *Cell Rep* 4:124-134.

Fujino K, Ogura Y, Sato K, Nedachi T (2013) Potential neuroprotective effects of SIRT1 induced by glucose deprivation in PC12 cells. *Neurosci Lett* 557: 148-153.

Asakura R, Matsuwaki T, Shim JH, Yamanouchi K, Nishihara M (2011) Involvement of progranulin in the enhancement of hippocampal neurogenesis by voluntary exercise. *NeuroReport* 22, 881-886.

Nedachi T, Kawai T, Matsuwaki T, Yamanouchi K, Nishihara M (2011) Progranulin enhances neural progenitor cell proliferation through glycogen synthase kinase 3 β phosphorylation. *Neuroscience* 185, 106-115.

ホームページ等

<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/seiri/>