

文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会他
名古屋教育医療記者会と同時発表

脂質蓄積による脳機能障害の原因メカニズムを解明

(神経変性疾患の新たな治療法開発に期待)

米国科学雑誌「*iScience*」、公開日時 2022年11月25日(金) 予定

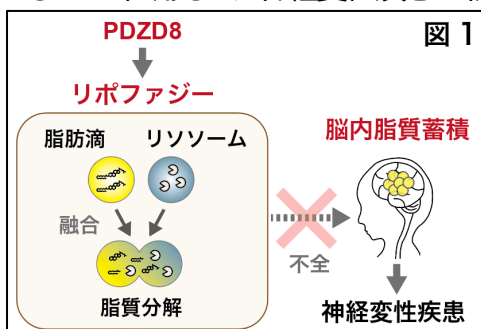
(Journal pre-proof 2022年11月16日(水) 公開)

研究成果の概要

近年アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患(※1)の原因として、脳における異常な脂質蓄積が知られています。しかしその脂質異常のメカニズムはよくわかっていませんでした。名古屋市立大学大学院薬学研究科の白根 道子 教授の研究グループは、リポファジー(※2)という脂質分解系の不全が、脳内脂質の異常蓄積の原因であることを明らかにしました。

ヒトのPDZD8(※3)遺伝子の変異(※4)は、知的障害や認知機能障害と関係することが知られています。本研究グループは先行研究で、PDZD8タンパク質が細胞内脂質の輸送活性(※5)を有していること、それによりリソソーム(※6)の成熟に働くことを見いだしていました。そこでPDZD8遺伝子欠損マウスを作製し、その組織のリピドーム解析(※7)を実施しました。その結果、野生型マウスと比べてPDZD8欠損マウスの脳ではコレステロールエステル(CE)(※8)が異常蓄積していることを発見しました。このCEの異常蓄積は脳に特異的で、肝臓の脂質は正常でした。また食餌とは無関係でした。またCE合成経路には異常ありませんでした。一方でPDZD8欠損マウスの脳やPDZD8発現抑制神経細胞において、脂肪滴(※9)とリソソームの融合やリソソーム成熟に遅延が認められ、リポファジーの不全が明らかになりました。よってPDZD8欠損マウスの脳では、リポファジー不全により脂質分解に不全を来し、CEが蓄積していると示唆されました。

本研究より、神経変性疾患の原因のひとつである脳内脂質の異常蓄積がリポファジーの不全に起因すること、またPDZD8がその制御に中心的な役割を果たしていることが明らかになりました。そしてPDZD8は脂質分解の制御により脳内の脂質蓄積を抑制し、脳機能の維持に働いていると示唆されました。本研究は、神経変性疾患の新たな治療法の開発に繋がると期待されます。



【参考図】

図1: リポファジーによる脂質分解と脳機能制御の関連

ヒトのPDZD8遺伝子変異は、知的障害などの脳機能障害と関連することが知られている。本研究により、PDZD8遺伝子欠損マウスの脳において、リポファジーの不全により脂質が異常蓄積することを見いだした。よってPDZD8はリポファジーの促進により脳内脂質の異常蓄積を抑制し、正常な脳機能の維持に働いていることが明らかになった。

【背景】

アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の原因として、脳内脂質の異常蓄積が知られています。しかし脳に脂質蓄積を引き起こすメカニズムはほとんど不明でした。

ヒトの知的障害のリスク遺伝子解析より、PDZD8 遺伝子の変異が同定されています。一方で本研究グループは先行研究で、PDZD8 タンパク質が細胞内で脂質輸送に働くこと、それによりリソソームの成熟が促進され、神経細胞の健全性の維持に寄与していることを明らかにしました。

これらの背景より本研究グループは、PDZD8 が脳の脂質制御に関係している可能性を予想し、脳内脂質の異常蓄積の原因メカニズムについて、リポファジーに着目して解析しました。

【研究の成果】

本研究グループは PDZD8 遺伝子欠損マウスを作製し、その組織のリピドーム解析を九州大学の馬場教授らのグループと共同で実施しました。その結果、野生型マウスと比べて PDZD8 遺伝子欠損マウスの脳ではコレステロールエステル(CE)が異常蓄積していることを発見しました。PDZD8 遺伝子欠損マウスの CE 蓄積は脳に特異的で、肝臓の脂質は正常でした。また高脂肪食摂取では脳の CE 量は変化せず、食餌とは無関係とわかりました。また PDZD8 遺伝子欠損マウスの脳では CE 合成経路には異常がありませんでした。一方で PDZD8 遺伝子欠損マウスの脳を電子顕微鏡で解析したところ、細胞内の脂質分解系であるリポファジーの不全を見いだしました。リポファジーは脂肪滴とリソソームの融合による脂肪滴のオートファジーです。そこでさらに神経細胞株を用いてリポファジーの過程を詳細に解析したところ、PDZD8 発現抑制細胞では脂肪滴とリソソームの融合およびリソソームの成熟に遅延が認められました。よって PDZD8 は、リポファジーの促進作用により細胞内脂質の異常蓄積を抑制しているとわかりました。以上の結果より、PDZD8 遺伝子欠損マウスの脳では、リポファジーの不全により脂質分解に不全を来し、CE の異常蓄積が起きていることが示唆されました。本研究により、PDZD8 が脳内の脂質代謝を制御し、脳機能の維持に働いていることが明らかになりました。

【研究のポイント】

- ・ **脳における脂質異常と神経変性疾患との関連**が示唆されていますが、その詳細は不明でした。
- ・ 本研究では、**脳内脂質の異常蓄積がリポファジーの不全に起因**すること、また脳機能障害と関連する **PDZD8 がリポファジーの制御**に中心的な役割を果たしていることを明らかにしました。
- ・ 本研究成果はアルツハイマー病など神経変性疾患の新規治療法の開発に繋がると期待されます。

【研究の意義と今後の展開や社会的意義など】

本研究では脳の脂質蓄積の原因メカニズムとしてリポファジーの不全を明らかにしましたが、一方で蓄積した脂質がどのように神経変性疾患を引き起こすのかについては未だ不明点が多く残されています。そのメカニズムの一仮説として、酸化コレステロールやコレステロール結晶が細胞内膜系に損傷を与え、その結果脳内炎症を惹起し、脳神経系の機能に障害を来することが示唆されています。これらの仮説も踏まえて、今後さらに脂質蓄積と神経変性疾患の関連の詳細を解明する必要があります。

神経変性疾患の治療法については世界中で多くの研究が続けられていますが、未だ根本的な治療法が確立されていません。本研究では神経変性疾患の原因として脂質蓄積という新たなメカニズムに着目しています。よって本研究は神経変性疾患の新規治療法の開発に繋がることが期待されます。

【参考図】

図 2

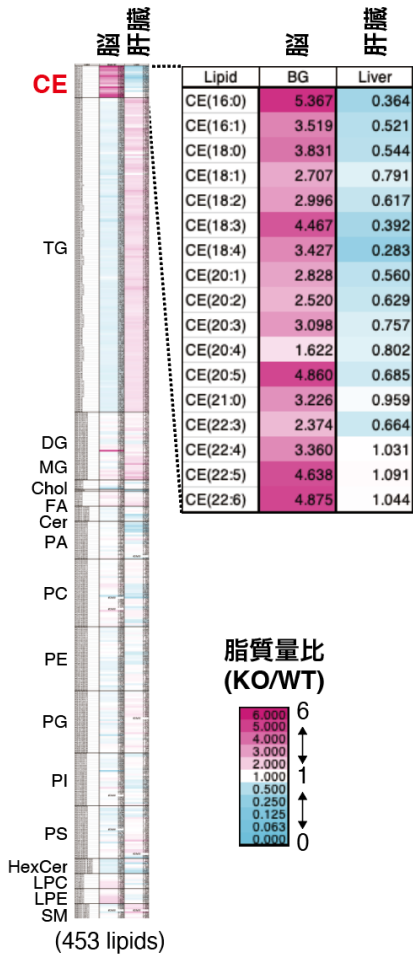


図 3

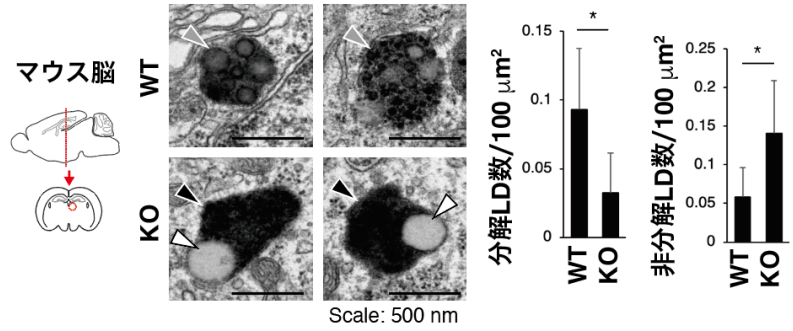


図 4

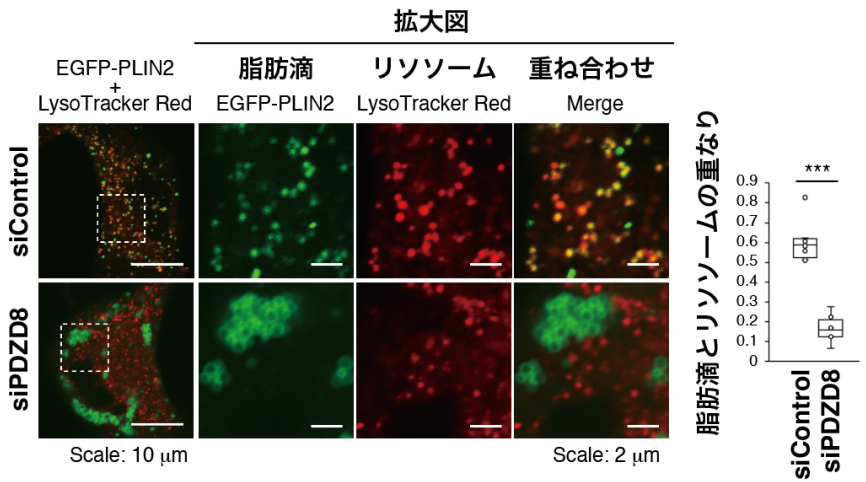


図 5

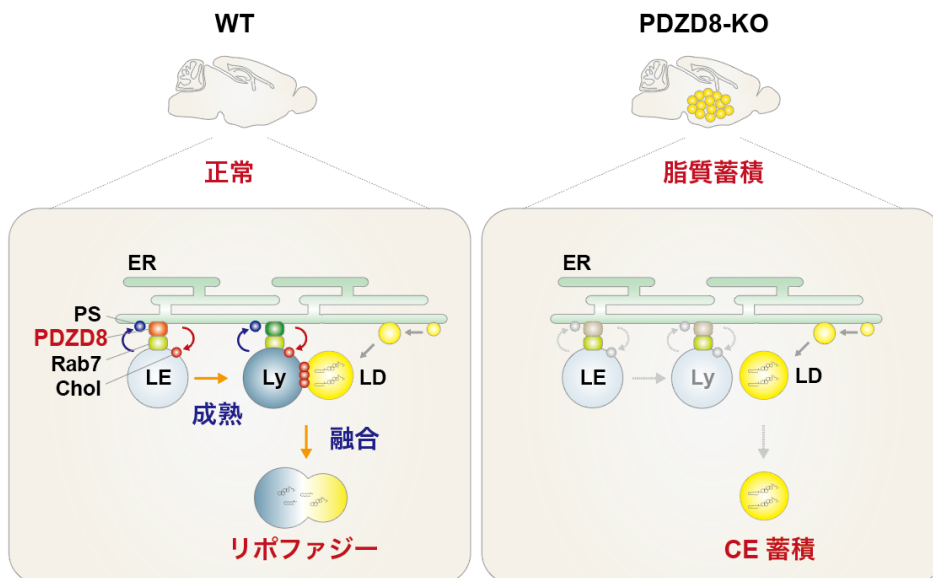


図2 マウス組織のリピドーム解析

野生型(WT)およびPDZD8 欠損(KO)マウスの脳と肝臓より脂質を抽出し、リピドーム解析を行い、脂質量比(KO/WT)をヒートマップで示した。脳でCEが異常に増加している。肝臓では脂質異常は認められない。WTに比べてKOで増加している脂質を赤系色、減少している脂質を青系色で表示。

図3 マウス脳のリポファジー解析

WTとPDZD8-KOマウスの脳のリポファジーを、電子顕微鏡(TEM)により解析した。WTでは脂滴がリソソームと融合して灰色で小さくなり分解されている(グレー矢頭)が、KOでは脂滴(白矢頭)はリソソーム(黒矢頭)と融合せず非分解のままである。脳の観察領域(左)、リポファジーのTEMイメージ(中)、リポファジーの統計解析結果(右)を示す。

図4 神経細胞のリポファジー解析

ラット褐色脂肪細胞腫PC12細胞においてコントロール(siControl)またはPDZD8(siPDZD8)の発現抑制を行い、NGF添加により神経分化誘導を行い、脂滴マーカー(EGFP-PLIN2、緑)とリソソームマーカー(LysoTracker Red、赤)のイメージング解析を行った。コントロール細胞では脂滴とリソソームは融合しているものが多いが、PDZD8発現抑制細胞では両者が分離しており融合不全が多く認められた。共焦点顕微鏡イメージ(左)と、ピアソンの相関係数の解析結果(右)を示す。

図5 PDZD8 欠損マウスの脳における脂質の異常蓄積とPDZD8によるリポファジー促進機構

PDZD8 欠損(KO)マウスの脳では脂質の異常蓄積が認められる(上)。その原因メカニズムを調べる中で、PDZD8によるリポファジーの促進作用を見いだした(左下)。PDZD8は脂質輸送を介してリソソーム成熟を促進する。またPDZD8は脂滴とリソソームの融合を促進する。その結果、PDZD8はリポファジーを促進し、細胞内の異常な脂質蓄積の抑制に働く。よってPDZD8-KOマウスの脳では、リポファジー不全により脂質分解が遅延し、CEが蓄積していると示唆された(右下)。

【用語解説】

(※1) 神経変性疾患：

神経細胞が徐々に障害を受けて脱落していく疾患の総称です。代表的な病気として、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)などがあります。神経変性疾患の原因メカニズムには未解明な部分が多く、多くの疾患は未だに根本的な治療法がありません。

(※2) リポファジー：

「脂滴(Lipid droplet)のオートファジー」から名付けられた細胞内の脂質分解系。脂滴がリソソームと融合し、脂滴内の脂質がリソソーム内の分解酵素により分解される過程。

(※3) PDZD8：

脳神経系に発現が高く、細胞内の小胞体に局在している膜タンパク質。PDZD8は小胞体とエンドソームを繋留し、その2つのオルガネラの膜接触部位で脂質輸送に働く。さらにPDZD8は脂質輸送を介してエンドソーム成熟に働き、神経健全性の維持に働く(Shirane et al, *Nat Commun*, 2020)。またPDZD8は神経細胞内のカルシウムイオン調節に働いていることも知られている。

(※4) PDZD8 遺伝子変異と疾患との関連：

ヒトの PDZD8 遺伝子変異が、脳の異形成や自閉症的特徴や知的障害や認知機能障害を持つ複数の家系で同定されている。これらのヒトの変異では PDZD8 の SMP ドメインまでの断片タンパク質が生じるが、これと類似の変異を持つ遺伝子改変マウスは、脳構造の異常を示し、情動や記憶の異常などを呈する。

(※5) 細胞内脂質輸送：

疎水性が高い脂質は、水溶性空間である細胞質の中を単独では移動できない。しかし脂質輸送タンパク質の疎水性ドメインと相互作用することにより、脂質は細胞質中での移動が可能となる。この脂質輸送は、異なる細胞小器官同士が近接している膜接触部位で多く見られる。PDZD8 は SMP ドメインを介して脂質輸送に働く (Shirane et al, *Nat Commun*, 2020)。

(※6) リソソーム：

細胞内分解に主要な働きをしている細胞小器官で、内腔に低 pH で活性化するさまざまな分解酵素を含んでいる。リソソームの起源はエンドソームに由来し、一部の後期エンドソームから内腔の pH 低下を伴う変換により生じる (リソソーム成熟)。また一部の後期エンドソームはリソソームと融合し、エンドリソソームとなる (エンドソーム成熟)。

(※7) リピドーム解析：

脂質の包括的定量分析。本研究では、九州大学生体防御医学研究所の馬場健史教授らの開発した超臨界流体クロマトグラフィー三連四重極質量分析(SFC/QqQMS)を用い、共同でリピドーム解析を実施した。

(※8) コレステロールエステル(CE)：

コレステロールに脂肪酸がエステル結合した脂質。疎水性が非常に高く、通常は LDL (低密度リポタンパク質) や脂肪滴の内腔に存在している。

(※9) 脂肪滴 (Lipid droplet, LD)：

脂質を貯蔵する細胞小器官で、内腔にコレステロールエステルやトリグリセリドなどの疎水性の高い脂質を含んでいる。

【研究助成】

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

科学研究費補助金・基盤研究 B (20H03255)

研究課題名：「オルガネラコミュニケーションの破綻による神経変性疾患の発症機構」

研究代表者：白根 道子 (名古屋市立大学大学院薬学研究科 教授)

研究期間：令和 2 年 4 月～令和 5 年 3 月

科学研究費補助金・新学術領域研究・細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解読 (20H04907)

研究課題名：「膜構造制御によるオルガネラ連携ゾーン形成と神経軸索変性症との関連」

研究代表者：白根 道子 (名古屋市立大学大学院薬学研究科 教授)

研究期間：令和 2 年 4 月～令和 4 年 3 月

【論文タイトル】

PDZD8-deficient mice accumulate cholesteryl esters in the brain as a result of impaired lipophagy

(PDZD8 欠損マウスの脳ではリポファジーの不全によりコレステロールエステルが蓄積している)

【著者】

Keiko Morita¹, Mariko Wada¹, Kohta Nakatani², Yuki Matsumoto¹, Nahoki Hayashi¹, Ikuko Yamahata¹, Kotone Mitsunari¹, Nagi Mukae¹, Masatomo Takahashi², Yoshihiro Izumi², Takeshi Bamba², and Michiko Shirane^{1*}

1 名古屋市立大学大学院薬学研究科

2 九州大学生体防御医学研究所

【掲載学術誌】

学術誌名 : iScience

DOI 番号 : 10.1016/j.isci.2022.105612

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004222018843>

【研究に関する問い合わせ】

名古屋市立大学 大学院薬学研究科 教授 白根 道子 (しらね みちこ)

名古屋市瑞穂区田辺通 3 - 1

TEL : 052-836-3455 FAX : 052-836-3765

E-mail : shiram@phar.nagoya-cu.ac.jp

【報道に関する問い合わせ】

名古屋市立大学 総務部広報室広報係

名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1

TEL : 052-853-8328 FAX : 052-853-0551

E-mail : ncu_public@sec.nagoya-cu.ac.jp

【共同研究に関する企業様からの問い合わせ】

名古屋市立大学 産学官共創イノベーションセンター

名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1

TEL : 052-853-8041 FAX : 052-841-0261

E-mail : ncu-innovation@sec.nagoya-cu.ac.jp