

グリア細胞由来の栄養シグナルによる神経の細胞死抑制機構を理解する

所属： 茨城大学 理工学研究科 生物学専攻

助成対象者：鈴木 匠

共同研究者：なし

概要

認知症などの疾患では、神経の細胞死が加速しており脳機能の低下が深刻化している。最近、神経を取り囲むグリア細胞で糖代謝を抑制すると神経細胞死が加速することが判明し、認知症では、脳神経系における糖代謝不全が神経の脱落の主要な原因の一つであることがわかったが、その発生機序には不明な点が非常に多い。

本研究では、モデル動物であるショウジョウバエを用いて、グリア細胞において特異的に GGGGCC リピートを発現させることによって神経細胞死を引き起こす認知症モデル系を構築した。現在、GGGGCC リピートを発現させたグリア細胞において、どのような遺伝子発現変化が見られるのかを調べるため、nanoDamID 法を用いて解析を行なっている。

abstract

英文の abstract

In dementia, the neuronal death is accelerated, and brain becomes severely dysfunctional. In recent years, it has revealed that suppressing sugar metabolism in the glial cells surrounding the neurons accelerates the neuronal death, and dysfunction in sugar metabolism in the brain is considered to be one of the main causes of neuronal loss in dementia. However, molecular mechanisms that causes dysfunction in sugar metabolism in dementia remains unclear.

In this study, we used *Drosophila* as a model system and constructed a dementia model system that causes neuronal death by specifically expressing GGGGCC repeats in glial cells. Currently, we are using the nanoDamID method to analyse what kind of changes in gene expression can be observed in glial cells that express GGGGCC repeats.

研究内容

< 研究の背景 >

脳は、約 900 億の神経から構成される回路により、様々な情報を正確に処理している。この神経回路の本質は、神経細胞同士の連絡であるため、一部の神経細胞が脱落してしまうと神経機能不全に陥ってしまう。近年、大きな社会問題となっている認知症などの神経変性疾患では、細胞死による大規模な神経脱落が生じており、脳機能の低下が深刻化している。このように、**神経回路が正しく機能するには、個々の神経を維持することが非常に重要であるが、その制御メカニズムは分かっていない。**認知症等の治療標的を特定するためにも、この制御メカニズムの解明が喫緊の課題である。

記憶障害が中心的症状となるアルツハイマー病や人格変化を伴う前頭側頭型認知症では、脳神経系における糖代謝が著しく低下しており、これらの疾患が食生活と深く関わっていることを示唆している。さらに、これらの患者では、神経と神経を取り囲むグリアにおいて糖代謝が低下している。最近の研究から、グリア細胞において糖代謝を抑制すると、多く神経が脱落してしまうことがわかった[Le Douce et al., 2020]。神経は、グリアから乳酸という形で糖を受け取りエネルギー産生に用いているため、グリアの代謝低下によって乳酸が供給されなくなると、神経がエネルギーを産生できず脱落してしまうと考えられている[図 2]。最近、グリアの糖代謝低下による神経細胞死は、複数のアミノ酸摂取によって回復することが発見された[Sato et al., 2021]。

以上のように、認知症では、脳神経系における糖代謝不全が神経脱落の主要な原因の一つであると言える。しかし、マウス等の哺乳類では、脳を構成する神経が莫大な数であるため、個々の神経の追跡が困難であり、いつ、どこで、どのようにして糖代謝不全が発生するのか？代謝不全となった後、何が原因で細胞死に至るのか？如何にして、必須アミノ酸は神経細胞死を回復させるのか？など不明な点が非常に多い。

本研究では、単純でありながら哺乳類脳と発生学的・構造的な特徴を共有するハエ視覚中枢を用いて、**栄養シグナルによる神経細胞死抑制メカニズムの解明**に取り組んだ。

< 研究方法 >

本研究では、重要性が認識され始めたグリアに注目した。まず、認知症モデルのグリア細胞の作出を試みた。次に、この認知症モデルグリア細胞における遺伝子発現変化を調べるため、通常のグリア細胞で発現している遺伝子を網羅的に解析した。現在、認知症モデルグリア細胞での遺伝子発現解析を実施しており、解析完了後に通常のグリア細胞における遺伝子発現プロファイルと比較することによって、認知症モデルグリア細胞において、顕著に変化が見られる遺伝子の特定に移る。

図 1. 研究の概念図

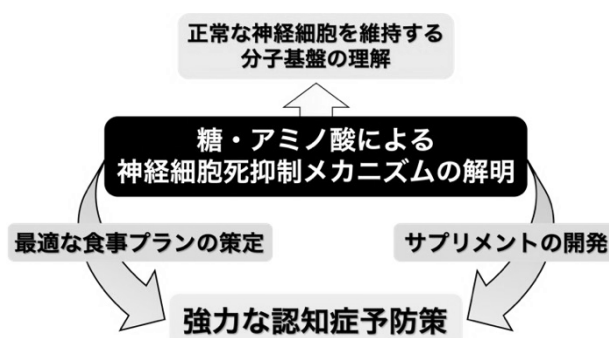
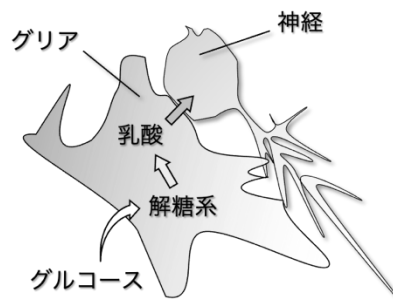


図 2. グリアから神経への栄養供給



<結果・研究経過>

【1. 認知症モデルグリア細胞の作出】

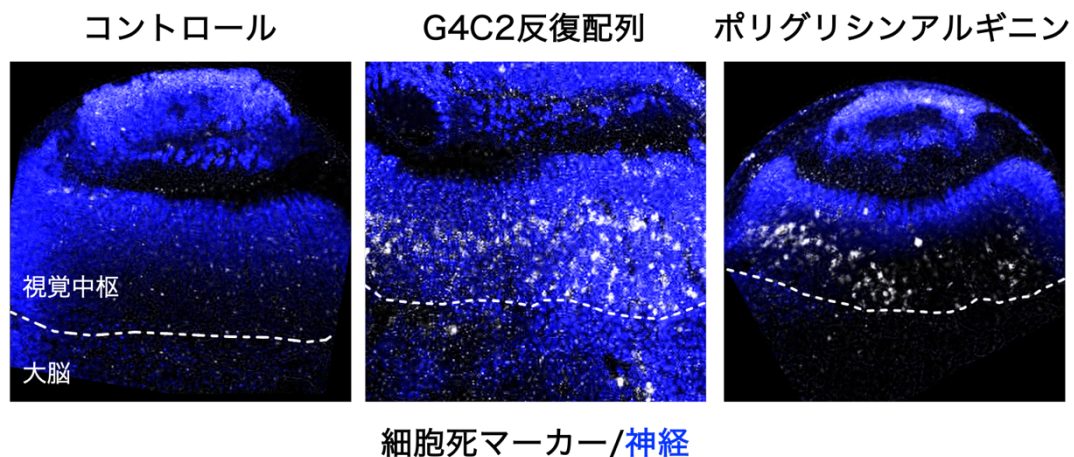
まず、解析に必要な認知症モデルグリア細胞の作出をおこなった。

前頭側頭型認知症では、C9orf72 遺伝子のイントロン内に GGGGCC (G4C2) の 6 塩基の反復配列が数百回繰り返されて異常に伸長している。ハエの神経で、G4C2 の反復配列を発現させると神経変性を誘導可能であることがわかっているため、グリア細胞に G4C2 を発現させ認知症モデルグリア細胞の作出を試みた。

ハエでは、Gal4-UAS システムにより、任意の細胞で任意の遺伝子発現を誘導できるため、グリア細胞特異的に遺伝子操作が可能な *repo-Gal4* 系統と UAS-G4C2_{repaet} 系統を交配し、グリア細胞で G4C2 反復配列を発現させた。

幼虫の中枢神経を観察したところ、グリア細胞特異的に G4C2 反復配列を発現させた場合には、通常個体と比較して極めて高頻度に神経細胞死が見られた。このような高頻度の細胞死は、コントロールでは見られなかった。一方、G4C2 の逆向き反復配列では、このような細胞死の亢進は見られなかった。このことから、グリア細胞で G4C2 反復配列を発現誘導することによって、認知症モデルグリア細胞が作出可能であることがわかった。また、別の反復配列を用いて、ポリグリシンアルギニン反復配列を誘導した場合においても、G4C2 反復配列誘導時と同様に、細胞死の亢進が見られた。

図 3. 認知症モデルグリア細胞の作出

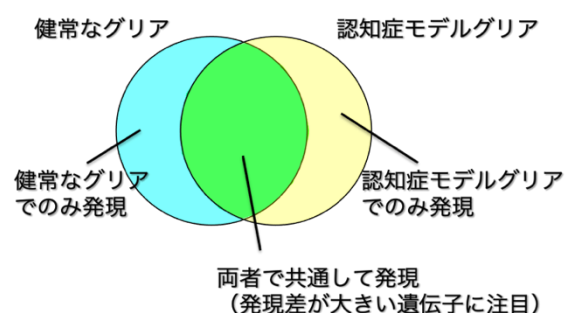


【2. 健常グリア細胞における遺伝子発現変化】

認知症モデルグリア細胞と健常なグリア細胞との発現遺伝子比較では、細胞種特異的な遺伝子発現解析を実施する必要がある。そこで、申請者らが開発した DamID 法を選択した [Tang et al., 2022]。

DamID法では、任意のタンパク質の DNA 結合パターンをアデニンのメチル化頻度という情報に置き換えて定量的に解析可能である。5'-GATC-3'配列を認識する DNA アデニンメチル基転移酵素である Dam を目的の DNA 結合タンパク質に融合させ、特定の細胞でこの融合タンパクの発現を誘導する。Dam 融合タンパクの結合領域の近傍にある 5'-GATC-3' は、Dam によって認識されアデニンにメチル基が転移される。つまり、アデニンが高度にメチル

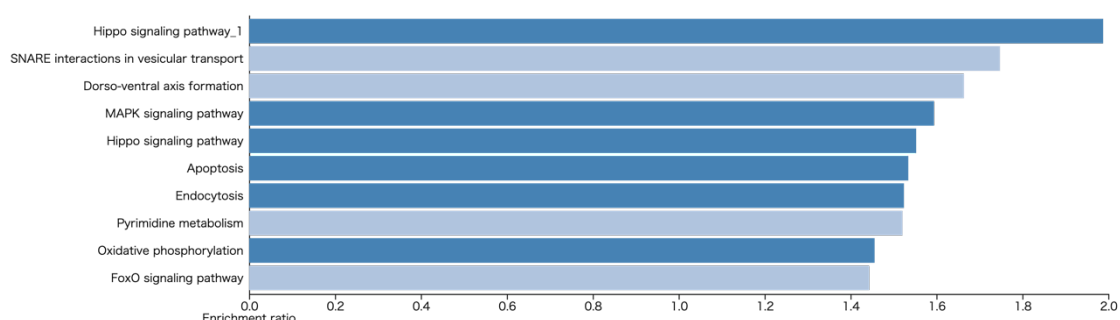
図 4. グリアにおける遺伝子発現比較



化された領域は、目的のタンパク質が高頻度で結合した領域であると考えられる。RNA ポリメラーゼ II と Dam の融合タンパク質 (PolII-Dam) を用いれば、転写された領域がメチル基によってラベルされるため、トランスクリプトーム解析が実施できると考えられた。

認知症モデルグリア細胞における遺伝子発現プロファイルの解析に先立ち、まず、健常なグリア細胞における遺伝子発現プロファイルを解析した。その結果、図 5 に示すように、解糖系関連の遺伝子の発現が顕著に多いことがわかった (oxidative phosphorylation)。また、インスリンシグナル関連遺伝子の発現も見られることから、予想通り、グリア細胞では糖代謝が非常に活発であることが考えられる。

図 5. 健常グリア細胞における遺伝子発現解析



現在、これまでに確立した認知症モデルグリア細胞の誘導系を用いて、これらのグリア細胞における遺伝子発現プロファイルを解析中である。

引用文献

Le Douce et al. (2020) Impairment of glycolysis-derived l-serine production in astrocytes contributes to cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Cell Metab.* 31, 503-517.

Sato et al. (2021) Neurodegenerative processes accelerated by protein malnutrition and decelerated by essential amino acids in a tauopathy mouse model. *Sci. Adv.* 7, abd5046.

Tang et al. (2022) NanoDam identifies Homeobrain (ARX) and Scarecrow (NKX2.1) as conserved temporal factors in the Drosophila central brain and visual system. *Dev. Cell* 57, 1193-1207.

< 本助成に関わる成果物 >

該当なし