

「脳を守る」

平成10年度採択研究代表者

遠山 正彌

(大阪大学大学院医学系研究科 教授)

「脳虚血により引き起こされる神経細胞死防御法の開発」

1. 研究実施の概要

高齢化社会を向かえている現在が当面する最重要課題の一つは老人性痴呆の克服である。老人性痴呆は加齢による生理的な痴呆を除けばその大部分を脳血管障害後に生ずる神経細胞死による痴呆とアルツハイマー病による痴呆が占める。しかしこの両者に対し有力な治療法が開発されていないのが現状である。本研究では以下に述べるような新しい観点より、脳血管障害後の痴呆、アルツハイマー病による痴呆の治療法の開発を目指すものである。

1) 脳血管障害後の痴呆の救済

脳梗塞等で起きる病的状態の代表は低酸素である。神経細胞は低酸素負荷によりすぐに細胞死を起こすがグリア細胞であるアストロサイトは低酸素負荷に対し耐性を示す。我々はアストロサイトは低酸素負荷を加えられると低酸素負荷下を生き抜く新たな遺伝子・蛋白発現を引き起こすと想定した。もし低酸素負荷下を生き抜く遺伝子・蛋白の単離に成功すれば、それらを神経細胞に遺伝子導入するならば、神経細胞は低酸素負荷下を生き抜けるはずである。

この想定にたち我々はアストロサイトが低酸素負荷に対し特異的に発現する遺伝子・蛋白の単離に着手し、ORP150,RA301,RA410 の3種の新規遺伝子・蛋白の単離に成功した(現在さらにSERP1,2の二種を新たに見いだしている)。ORP150についてはアストロサイトでこの遺伝子の発現を止めるとアストロサイトは低酸素負荷下で容易に死に至る。即ちORP150はアストロサイトを低酸素負荷から守る遺伝子・蛋白であることが明らかとなった。さらに我々は神経細胞にORP150を遺伝子導入し、神経細胞が低酸素負荷下を生き抜くことができ留事を明らかとし、現在その機序についての解析を進めている。

2) アルツハイマー病による痴呆の救済

アルツハイマー病は比較的若年で発病する家族性アルツハイマー病(FAD)と高年齢担って発病する孤発性アルツハイマー病(SAD)に分類される。FADはその原因遺伝子として第21染色体上のアミロイド前駆体蛋白(APP)、第14染色体上のプレセニリン1(PS1)、第1染色体上のプレセニリン2(PS2)が同定さ

れている。そのうち PS1 遺伝子の翻訳異常物質は小胞体に局在し、神経細胞死を惹起し、FAD による痴呆の原因として知られている。一方アルツハイマー病の大部分をしめる SAD についてはその病理像が FAD と同一であるにもかかわらず発祥の原因は不明のまま残されていた。我々は最近 SAD 患者脳においては PS2 の翻訳異常産物が高頻度に発現していること、この PS2 翻訳異常産物は PS2 遺伝子の 5 番目のエキソンを欠失したスプライシング変種であることをあきらかとした。しかも PS2 翻訳異常産物をヒト神経細胞腫細胞に強制発現させる細胞は死滅する。またこの PS2 変異産物は低酸素負荷により発現が亢進し細胞内では PS1 変異産物同様に小胞体に局在する。一方 SAD 患者脳では PS1 の変異産物は発現していないことを見いだした。異常の結果は FAD においては PS1 翻訳異常産物が SAD においては PS2 異常産物が共に小胞体機能異常を起源とする神経細胞死を引き起こし、痴呆の原因となっている事を意味する。これらの翻訳異常産物による神経細胞死の機序を明らかにしうれば、その機序の抑制により神経細胞を死から守ることができ、痴呆から救済しうる。

細胞内の蛋白製造部位である小胞体には Ire1P と呼ばれる蛋白センサーが存在する。小胞体で悪い蛋白が産生されれば Ire1P がこれを感じ取る。ついで Ire1P は Hac1 と呼ばれる転写因子を活性化し、この活性化は GRP78 の発現をもたらす。GRP78 は悪い蛋白の処理を行い悪い蛋白の細胞内蓄積（細胞死につながる）を防ぎ細胞を死から救う。Ire1P が正常に機能するためには Ire1P の状態、即ち Ire1 が自己リン酸化され Ire1P の状態出なければならない。れわれは現在までのところ、PS1 と PS2 の翻訳異常産物が Ire1 の自己リン酸化を抑え GRP78 の発現を抑えることにより、結果不正常的の蛋白が細胞内に蓄積することにより神経細胞死が生ずる事を明らかとしている。これらの結果は PS1,PS2 の異常翻訳を引き起こすファクター（スプライシングファクター）の抑制や Ire1 の自己リン酸化抑制の解除酵素の開発がアルツハイマー病による神経細胞死、痴呆を防ぎうる可能性を示すものである。

2. 研究実施内容

1) 新規ストレス蛋白 ORP150 の低酸素負荷による細胞死における役割に関する研究

HEK 細胞を用い ORP150 の発現を恒常的に抑制する antisense formant を樹立し、この小胞体に局在するストレスタンパクは低酸素特異的に引き起こされる細胞死を防ぐことを明らかにした。また、神経細胞においては低酸素負荷により ORP150 の発現誘導が起こらずに細胞はアポトーシスによる細胞死が引き起こされるが、アデノウイルスベクターを用い ORP150 を初代培養神経細胞に発現させることにより低酸素負荷による細胞死を抑制した。

よって、ORP150 は低酸素を生き抜くための必須の因子であることが示唆された。

2) アルツハイマー病における神経細胞死の機構解明に関する研究

上記メカニズムを明らかにする目的で、今年度は細胞レベルの解析を中心に行った。その結果、アルツハイマー病にリンクした PS1 変異体と、これまでに当教室で孤発性アルツハイマー病脳から見出した PS2 のスプライシング変種は、いずれも小胞体ストレスセンサー Ire1p のリン酸化レベルを低下させることを見出した。

Ire1p の機能障害は、Unfolded Protein Response を負に制御し、各種細胞ストレスに脆弱性を増大させ神経細胞死を誘導することを明らかにした。

3. 主な研究成果の発表（論文発表）

○Tamatani M, Che YH, Matsuzaki H, Ogawa S, Okado H, Miyake S, Mizuno T, Tohyama M. Tumor necrosis factor induces Bcl-2 and Bcl-x expression through NFkappaB activation in primary hippocampal neurons.

J Biol Chem 1999;274:8531-8538.

○Ozawa K, Kuwabara K, Tamatani M, Takatsuji K, Tsukamoto Y, Kaneda S, Yanagi H, Stern DM, Eguchi Y, Tsujimoto Y, Ogawa S, Tohyama M. 150-kDa Oxygen-regulated

protein (ORP150) suppresses hypoxia-induced apoptotic cell death.

J Biol Chem 1999; 274:6397-6404.

○Imaizumi, K., Morihara, T., Mori, Y., Katayama, T., Tsuda, M., Furuyama, T., Wanaka, A., Takeda, M. & Tohyama, M.: The cell death-promoting gene DP5, which interacts with the BCL2 family, is induced during neuronal apoptosis following exposure to amyloid β protein. J. Biol. Chem., 274, 7975-7981 (1999).