

「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

ストレス蛋白グループ

脳虚血により引き起こされる病的状態の代表は低酸素である。脳血管障害における神経細胞死は当然低酸素により誘導されるが、それに加え我々はアルツハイマー病における神経細胞死も低酸素により誘導される事を明らかとした。虚血グループの研究目標は虚血性神経細胞死の抑止である。この達成のため、本年度はより慢性的でヒトの病態に近いと考えられる遅発性神経細胞死を実験系として選び、ORP150による遺伝子治療を試みた。ORP150により遅発性神経細胞死は抑制され、グリア細胞に誘導されるストレス蛋白により虚血性神経細胞死を抑制しようという我々のWorking hypothesisの正しいことが示された。

再生・機能修復グループ

哺乳類では大人の中枢神経は再生しないといわれてきた。その理由のひとつとして、一旦損傷された軸索が再び伸展しないことが古くから知られているが、このメカニズムについては明らかではない。本研究では、神経回路を再形成することにより、中枢神経損傷による機能障害を修復させるストラテジーを開発することを目標とし、神経再生阻害因子の機能解析を行った。myelin associated glycoprotein (MAG)はミエリン由来再生阻害因子であるが、我々はニューロトロフィン受容体p75がMAG受容体であることを見出し、MAGによるRhoの活性化により神経突起の伸展を抑制していることを示した(**J. Cell Biol. 2002**)。その後、他のグループにより全てのミエリン由来再生阻害蛋白の受容体がp75であることが示された。P75のRho活性化はRho GDIをRhoから乖離させる機構に依存していることを示し、この作用をブロックするペプチドを開発した(**Nature Neurosci., 2003**)。さらにp75はそのシグナルを伝える時、脂質ラフトという膜表面の特殊な部位に局在すること、ならびにその詳細なメカニズムも明らかにした(**EMBO J., 2003**)。また軸索誘導に関与する新規の遺伝子FIRを単離した。その機能解析をおこなった結果、FIRはRacに対するguanine nucleotide exchange factorであり、海馬の神経細胞の突起伸展を抑制することが明らかになった(**J. Neurosci., 2002**)。一方、幼若ニューロンは阻害因子に対して不応性であることが知られている。この分子レベルでのメカニズムがわかれば、成熟ニューロンにも応用することができると考えられるが、細胞質に存在するp21(WAF1/Cip1)が

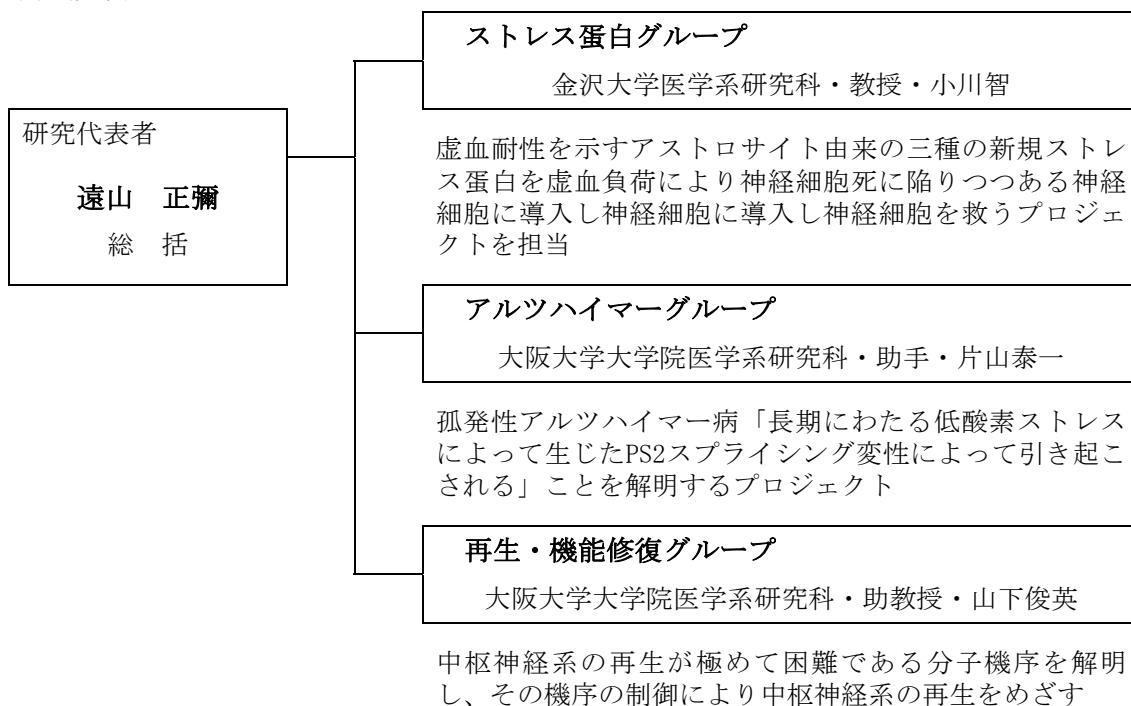
Rho kinaseを不活性化し、阻害物質によるRhoの活性化刺激をその下流で止めるためであることを示した(J. Cell Biol. 2002)。これら一連の研究により、神経細胞の軸索誘導を司る共通の細胞内シグナルとしてsmall GTPaseが重要な役割を果たしていることが明らかになり、軸索再生治療のターゲットとして注目される。

アルツハイマーグループ

我々は、家族性アルツハイマー病ではプレセニリン1変異体が、孤発性アルツハイマー病(SAD)ではプレセニリン2のスプライシング変種(PS2V)がそれぞれ細胞内小器官である小胞体の機能不全を引き起こすことを明らかとし、小胞体ストレス時、小胞体に蓄積する不良タンパク質の処理機構である小胞体ストレスセンサー群(IRE1、ATF6、PERK)の活性化機構を障害することによって、ストレスに対し感受性が增大することが病態発症につながることを明らかにしてきた。昨年までにSADにおいてはPS2Vを産生する異常なスプライシングを引き起こす因子の同定を試みたところ、既知のDNA結合蛋白質として知られ種々のストレス時に各種転写因子の増強因子として働くことが知られているHMGA1aが同定されたので、このHMGA1aの活性制御機構を検討した。すなわち、PS2 pre-mRNAからイントロンが切り出される時にexon5だけがスキップしてスプライシングが起きる際、exon5の3'末端のpre-mRNA配列に直接結合する因子がHMGA1aであることを同定し、その制御メカニズムについて詳細に解析を行った。また、血中PS2V検出キットの作成を引き続き試み、孤発性アルツハイマー病の早期診断法開発の実現に向けて取り組んだ。

3. 研究実施体制

(1) 概略図



4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文（原著論文）発表

- Yamashita, T., Higuchi, H., and Tohyama, M. (2002) The p75 receptor transduces the signal from myelin-associated glycoprotein to Rho. *J. Cell Biol.* 157, 565-570.
- Tanaka, H., Yamashita, T., Asada, M., Mizutani, S., Yoshikawa, H. and Tohyama, M. (2002) Cytoplasmic p21^{Cip1/WAF1} regulates neurite remodeling by inhibiting Rho-kinase activity. *J. Cell Biol.* 158, 321-329.
- Kubo, T., Yamashita, T., Yamaguchi, A., Sumimoto, H., Hosokawa, K. and Tohyama, M. (2002) A novel FERM domain including guanine nucleotide exchange factor is involved in Rac signaling and regulates neurite remodeling. *J. Neurosci.* 22, 8504-8513.
- Kubo, T., Yamashita, T. (corresponding author), Yamaguchi, A., Hosokawa, K. and Tohyama, M. (2002) Analysis of genes induced in peripheral nerve after axotomy using cDNA microarrays. *J. Neurochem.* 82, 1129-1136.
- Miyake, S., Yamashita, T. (corresponding author), Taniguchi, M., Tamatani, M., Sato, K. and Tohyama, M. (2002) Identification and characterization of a novel mitochondrial tricarboxylate carrier. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 295, 463-468.
- Miyake, S., Yamashita, T. (corresponding author), Taniguchi, M., Tamatani, M., Sato, K., Kawai, Y., Senba, E., Mitsuda, N., Hori, O., Yamaguchi, A. and Tohyama, M. (2002) Expression of mitochondrial tricarboxylate carrier TCC mRNA and protein in the rat brain. *Mol. Brain Res.* 100, 67-73.
- Che, Y.H., Yamashita, T. (corresponding author), Higuchi, H. and Tohyama, M. (2002) Changes in mRNA for choline transporter-like protein following facial nerve transection. *Mol. Brain Res.* 101, 122-125.
- Che, Y.H., Yamashita, T. (corresponding author) and Tohyama, M. (2002) Changes in mRNA for VAMPs following facial nerve transection. *J. Chem. Neuroanat.* 24, 147-152.
- Yamashita, T. (corresponding author) and Tohyama, M. (2003) The p75 receptor acts as a displacement factor that releases Rho from Rho GDI. *Nature Neurosci.* 6, 461-467.
- Higuchi, H., Yamashita, T. (corresponding author), Yoshikawa, H. and Tohyama, M. (2003) PKA phosphorylates the p75 receptor and regulates its localization to lipid rafts. *EMBO J.* 22, 1790-1800.
- Higuchi, H., Yamashita, T. (corresponding author), Yoshikawa, H. and Tohyama, M. (2003) Functional inhibition of the p75 receptor using a small interfering RNA.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 301, 804-809.

- Hosomi, S., Yamashita, T. (corresponding author), Aoki, M. and Tohyama, M. (2003) The p75 receptor is required for BDNF-induced differentiation of neural precursor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 301, 1011-1015.
- Kasai, K., Yamashita, T. (corresponding author), Yamaguchi, A., Yoshiya, K., Kawakita, A., Tanaka, H., Sugimoto, H. and Tohyama, M. (2003) Induction of mRNAs and proteins for Na/K ATPase $\alpha 1$ and $\beta 1$ subunits following hypoxia/reoxygenation in astrocytes. *Mol. Brain Res.* 110, 38-44.
- Yasuda Y, Katayama T, Imaizumi K, Yatera M, Tohyama M, Kudo T, Takeda M., Familial Alzheimer's Disease linked Presenilin-1 mutants impede translation regulation under endoplasmic reticulum stress., *Biochem Bioph Res Co*, 296(2002)313-8
- Manabe T, Katayama T, Sato N, Kudo T, Matsuzaki S, Imaizumi K, Tohyama M., The cytosolic inclusion bodies that consist of splice variants that lack exon 5 of the presenilin-2 gene differ obviously from Hirano bodies observed in the brain from sporadic cases of Alzheimer's disease patients., *Neurosci Lett* , 328(2002)198-200
- Hori O, Ichinoda F, Tamatani T, Yamaguchi A, Sato N, Ozawa K, Kitao Y, Miyazaki M, Harding HP, Ron D, Tohyama M, Stern DM, and Ogawa S. Transmission of cell stress from endoplasmic reticulum to mitochondria: expression of Lon protease. *J. Cell Biol.* 2002, 157: 1151-1160
- Miyazaki M, Ozawa K, Hori O, Kitao Y, Matsushita K, Ogawa S, and Matsuyama T. Expression of ORP150 (150 kDa oxygen regulated protein) in the hippocampus suppresses delayed neuronal cell death. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22, 979-987

(2) 特許出願

H14年度特許出願件数：1件（研究期間累積件数：4件）