

バソプレシンニューロンにおける小胞体ストレスは細胞死とオートファジーを引き起こす

名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学の川口 頌平 大学院生（筆頭著者）、同大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科の萩原 大輔 病院講師（責任著者）、同大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学の有馬 寛 教授（責任著者）、ドイツ・ハイデルベルク大学 Central Institute of Mental Health の Valery Grinevich 教授らの国際共同研究グループは、バソプレシン（AVP）^{*1}ニューロンにおいて小胞体シャペロン^{*2}BiP をノックダウン^{*3}すると小胞体ストレス^{*4}が誘導され細胞死が引き起こされること、その際に生じるオートファジー^{*5}は細胞を保護していることを明らかにしました。

BiP は主要な小胞体シャペロンの1つであり、小胞体でのタンパクの折りたたみや異常タンパクの分解に関わっています。小胞体ストレスが生じると、小胞体ストレス応答により BiP などの小胞体シャペロンの発現は増加しますが、それでも小胞体ストレスが改善されない場合には、最終的には細胞死が引き起こされることが知られています。これまでに本研究グループは、AVP ニューロンでは BiP が強く発現していることを見出しており、今回の研究では AVP ニューロンにおける BiP の役割の解明を目指しました。

AVP ニューロンにおいてのみ BiP に対する shRNA^{*6}を発現するアデノ随伴ウイルス^{*7}を AVP ニューロンの存在する神経核に注入することにより、AVP ニューロン特異的 BiP ノックダウンマウスを作成することに成功しました。このマウスでは、AVP ニューロンにおいて小胞体ストレスと細胞死が誘導されました。また、免疫電子顕微鏡法^{*8}による検討にて、この細胞死はアポトーシス^{*9}ではなく、オートファジーの活性化を伴っていることが判明しました。さらに、オートファジー阻害薬であるクロロキン（CQ）を投与すると、BiP ノックダウンによる AVP ニューロンの細胞死が加速しました。以上の結果は、BiP が AVP ニューロンの維持に重要な役割を担っていることを明らかにするとともに、この過程で誘導されるオートファジーは細胞死に対して細胞を保護していること意味しています。今後、このメカニズムをさらに詳しく解明していくことにより、小胞体ストレスに関連する多くの疾患に対する新しい治療法の発見に繋がることが期待されます。本研究は、英国科学誌「Scientific Reports」（英国時間 2020 年 11 月 12 日付電子版）に掲載されました。

ポイント

- BiP は主要な小胞体シャペロンの1つであり、小胞体内におけるタンパクの折りたたみや異常タンパクの分解に関わっています。
- バソプレシン (AVP) ニューロンにおいて BiP をノックダウンすることで、AVP ニューロンの小胞体ストレスと細胞死を引き起こすとともに、オートファジーが誘導されました。
- この過程で誘導されるオートファジーは、細胞死に対して保護的であることが判明しました。
- このメカニズムをより詳しく解明することで、小胞体ストレスに関連する多くの疾患に対する新しい治療法の発見に繋がることが期待されます。

1. 背景

小胞体は分泌タンパクや膜タンパクの産生を担う細胞内小器官であり、BiP に代表される小胞体シャペロンによりタンパクの折りたたみが行われます。種々の要因により正常な構造に折りたたまれない異常タンパクが小胞体に蓄積した状態を、小胞体ストレスと呼びます。全身の細胞には小胞体ストレスに対する防御機構である小胞体ストレス応答が備わっており、小胞体ストレスが生じると小胞体シャペロンの発現が増加しタンパクの折りたたみや異常タンパクの分解が促進されます。それでもなお小胞体ストレスが改善されない場合には、最終的には細胞死に至ることが知られています。

抗利尿ホルモンである AVP は、主に視床下部^{*10}の視索上核および室傍核^{*11}に存在する AVP ニューロンで産生され、軸索輸送により下垂体後葉^{*12}に運ばれ貯蔵されます。血漿浸透圧の増加や循環血液量の減少により体循環に分泌され、腎臓に作用し水の再吸収を促進します。

本研究グループはこれまでに、AVP ニューロンでは定常状態においても強い BiP の発現を認め、脱水下では AVP の発現増加に比例して BiP の発現も増加することを報告しておりますが、AVP ニューロンにおける BiP の役割は未だ明らかになっていませんでした。

2. 研究成果

AVP ニューロンにおいてのみ BiP に対する shRNA を発現するアデノ随伴ウイルスを作成し、このウイルスをマウス視索上核および室傍核に注入することにより、AVP ニューロンにおいてのみ BiP をノックダウンすることに成功しました。このマウスでは、AVP ニューロンにおいて小胞体ストレスが誘導されるとともに、高度の AVP ニューロンの細胞死を認めました (図 1)。また、免疫電子顕微鏡にて AVP ニューロンを観察すると、アポトーシスを示唆する所見は認めず、オートファジーの活性化を伴っていることが判明しました (図 2)。さらに、オートファジー阻害薬であるクロロキン (CQ) を投与すると、BiP ノックダウンによる AVP ニューロンの細胞死が加速しました (図 3)。以上の結果は、BiP は AVP ニューロンの維持に重要であることを明らかにするとともに、小胞体ストレスにより引き起こされる AVP ニューロンの細胞死の過程で誘導されるオートファジーは、細胞死に対して保護的であること意味しています。

3. 今後の展開

小胞体ストレスは糖尿病や神経変性疾患などの多くの病気に関係することが分かっており、そのメカニズムを解明することは、これらの疾患の治療の開発に繋がると考えられます。今後、さらに BiP を含む小胞体シャペロンの役割や小胞体ストレスにおけるオートファジーの役割のより詳細なメカニズムが解明できれば、様々な疾患に対する新たな治療法が解明されることが期待されます。

図 1 : BiP ノックダウンによる AVP ニューロン数の変化

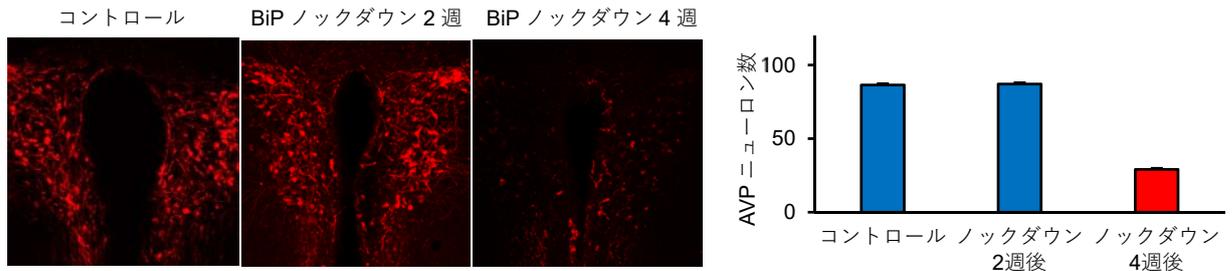


図 2 : BiP ノックダウン下の AVP ニューロン電子顕微鏡像 (オートファジーの活性化)

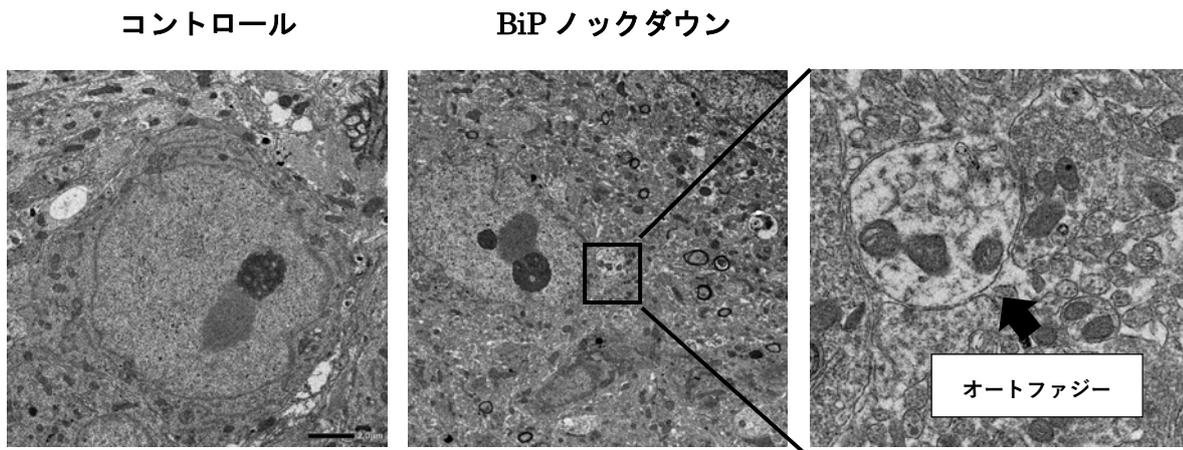
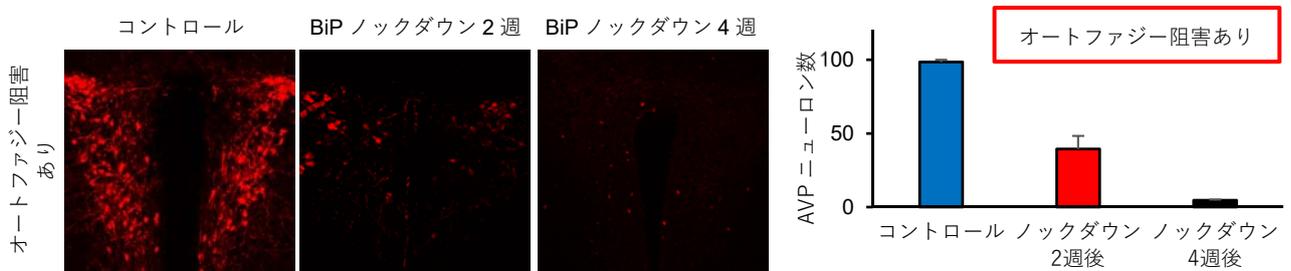


図 3 : オートファジー阻害による BiP ノックダウン下の AVP ニューロン細胞死の加速



4. 用語説明

- ※1 **バソプレシン**：抗利尿ホルモンとも呼ばれ、尿量を制御し、体内の水分量が一定になるよう厳密にコントロールしている。
- ※2 **小胞体シャペロン**：小胞体においてタンパクが正常に折りたたまれるように制御、介助するタンパクの総称。
- ※3 **ノックダウン**：特定の遺伝子の発現を減少させる操作。
- ※4 **小胞体ストレス**：新たに合成されたタンパク質の折り畳みを担う細胞内小器官である小胞体に、適切に折りたたまれなかった異常タンパクが蓄積した状態。
- ※5 **オートファジー**：異常タンパクや傷ついた細胞内小器官を隔離膜で隔離してオートファゴソームを形成しライソソームが融合することで分解する、主要な細胞内分解系の一つ。
- ※6 **shRNA**：二本鎖 RNA と相補的な塩基配列をもつ mRNA を分解することによって遺伝子の発現を抑制する。
- ※7 **アデノ随伴ウイルス**：非常に弱い免疫反応しか引き起こさず、病原性が現在のところ確認されていないウイルス。遺伝子導入にしばしば使用される。
- ※8 **免疫電子顕微鏡法**：抗原抗体反応を利用して電子線の通過を妨げる様な染色をして、電子顕微鏡で観察する技法。
- ※9 **アポトーシス**：細胞死の一種であり、管理・調整された細胞の自殺、プログラムされた細胞死。
- ※10 **視床下部**：脳の中心に位置し、ホルモンや自律神経の調節を行う中枢。
- ※11 **視索上核、室傍核**：視床下部の神経核の一つ。バソプレシンニューロンが存在する。
- ※12 **下垂体後葉**：下垂体は全身の様々なホルモンの働きをコントロールしている脳部位で、前葉と後葉に分けられる。下垂体後葉からは、バソプレシンとオキシトシンの2種類のホルモンが分泌される。

5. 発表雑誌

掲雑誌名：Scientific Reports（英国時間 2020 年 11 月 12 日付電子版）

論文タイトル：Endoplasmic reticulum chaperone BiP/GRP78 knockdown leads to autophagy and cell death of arginine vasopressin neurons in mice

著者：Yohei Kawaguchi¹, Daisuke Hagiwara^{1,2,*}, Takashi Miyata¹, Yuichi Hodai¹, Junki Kurimoto¹, Hiroshi Takagi¹, Hidetaka Suga¹, Tomoko Kobayashi¹, Mariko Sugiyama¹, Takeshi Onoue¹, Yoshihiro Ito¹, Shintaro Iwama¹, Ryoichi Banno^{1,3}, Valery Grinevich² & Hiroshi Arima^{1,*}

*Corresponding authors

所属：1 Department of Endocrinology and Diabetes, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, 466-8550, Japan

2 Department of Neuropeptide Research in Psychiatry, Central Institute of Mental Health, Medical Faculty Mannheim, University of Heidelberg, 68159 Mannheim, Germany

3 Research Center of Health, Physical Fitness and Sports, Nagoya University, Nagoya, 464-8601, Japan

DOI：10.1038/s41598-020-76839-z

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Sci_Rep_201112en.pdf