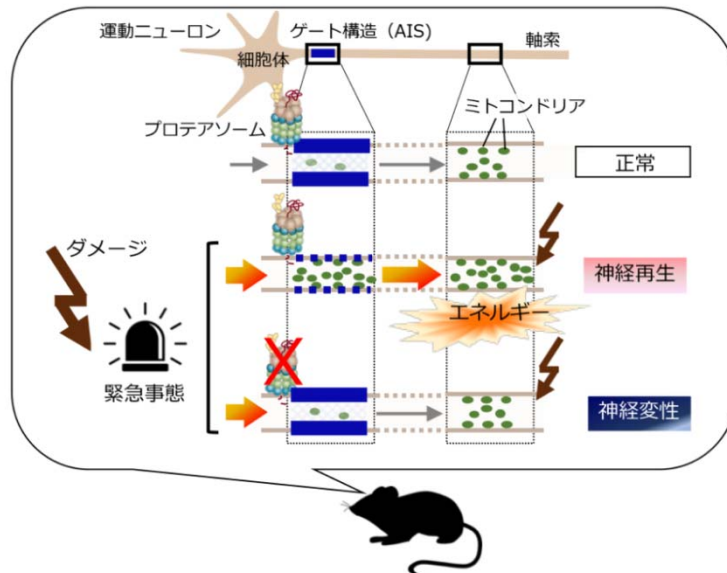




運動神経障害時の軸索物流選別システムの一時的分解は神経細胞を変性から守る ～神経変性を防ぐ新たな仕組みの解明～

名古屋大学大学院医学系研究科機能組織学の桐生寿美子准教授、木山博資教授の研究グループは、京都大学大学院医学研究科臨床神経学の高橋良輔教授、大阪大学大学院連合小児発達学研究科の吉村武講師、名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学の勝野雅央教授との共同研究により、新たな神経保護機構を解明しました。神経の障害に直面した運動ニューロン※¹が軸索※²入り口にある軸索物流選別のためのゲート構造（AIS 構造）※³を敢えて一時的に分解し、生存に必要な物流を活発にし、神経変性を免れる仕組みをマウス生体内で明らかにしました。

細胞内で起こる様々な生理的反応は蛋白質の分解を介して時間空間的に巧みに調節されます。そのような蛋白質分解を請け負う主力はプロテアソーム※⁴です。運動ニューロンが軸索損傷を受けた際にも、プロテアソームが適切に蛋白質分解を行うことにより細胞の状態を障害に適応させ保護すると考えられます。一方、運動神経変性疾患※⁵である筋萎縮性側索硬化症(ALS)ではプロテアソーム機能が破綻しており、疾患による障害を受けた運動ニューロンは変性・脱落します。しかしこれまで、障害に直面した運動ニューロン内でプロテアソームがどのようなメカニズムで細胞保護に働くかわかっていませんでした。

このメカニズムを明らかにするため、本研究グループは、ニューロンがダメージを受けるとプロテアソームを欠損させ、且つ、ミトコンドリアを蛍光標識するユニークなマウスを開発しました。このマウスを使うことで、障害を受けるとすぐに運動ニューロン軸索入り口にあるゲート構造がプロテアソームの標的となり積極的に破壊されることが明らかになりました。軸索への物流を選別するゲート構造が一時的に消失すると、健康なミトコンドリア※⁶が細胞体から軸索へ迅速かつ大量に届くようになり、軸索はダメージに耐えるに十分なエネルギーを確保できる巧妙な仕組みが明らかになりました。ところが神経変性疾患 ALS モデルマウスでは、プロテアソーム機能不全のため、疾患によるダメージに直面しても運動ニューロンはこの緊急応答のスイッチを入れられないことがわかりました。疾患早期に失われているこのような緊急時の軸索内物流調節メカニズムを修復作動させることにより、治療や創薬への新たな扉を開くことが期待されます。

本研究成果は科学雑誌「The EMBO Journal」に掲載されました（2022 年 8 月 25 日、中央ヨーロッパ夏時間）。

ポイント

- 脳内の障害を受けたニューロンのみで遺伝子操作を可能にするマウスの作製により、ダメージに対する応答に光を当てこれまで埋もれていたメカニズムを発見することができました。
- このマウスを用い、軸索入り口にある物流選別装置をプロテアソームにより一時的に分解することで、障害を受けた運動ニューロンを変性から守る仕組みが明らかになりました。
- 今回発見したメカニズムが神経変性疾患の病態解明を一步前進させ、新たな治療・創薬の標的となることが期待されます。

1. 背景

運動神経変性疾患 ALS に対する有効な治療法はいまだ確立されていません。研究グループは、多様な障害に対する運動ニューロンの応答メカニズムを明らかにする基礎的研究が、病態解明に向けて新たな切り口になるのではないかと考えています。それは、ALS 運動ニューロンは疾患によるダメージにうまく対応できないことが原因となり変性・脱落へ至ると考えられるからです。ALS を含む多くの神経変性疾患では蛋白質分解にかかわるプロテアソームが機能不全に陥ることが広く認められており、プロテアソームによるダメージ応答反応がうまく働かないことが予想されます。しかし、そもそもプロテアソームがどのようなダメージ応答に関わっているのか明らかではありませんでした。

ニューロンはエネルギー要求度の高い細胞です。エネルギーを産生するミトコンドリアは、細胞内を盛んに移動することで必要な場所でエネルギーを供給します。細胞体から一本の長い軸索を伸ばしているニューロンでは、健康なミトコンドリアが細胞体から軸索末端までの遠距離を効率良く運ばれることにより、軸索で必要なエネルギーが供給されます。このため、軸索でのミトコンドリアの動きは神経細胞内の状態を鋭敏に反映する良い指標になると考えられます。本研究グループはダメージを受けた運動ニューロン軸索でのミトコンドリアの動きを手がかりに、神経変性を免れるために必要なプロテアソームによる新たなメカニズムを本研究で明らかにしました。

2. 研究成果

本研究グループはまず、ダメージを受けたニューロンだけでミトコンドリアを蛍光標識すると同時に遺伝子操作ができる Atf3:BAC Tg マウスを開発しました。Atf3:BAC Tg マウスの脳では、ダメージを受けたニューロンの細胞体・軸索・樹状突起のミトコンドリアだけを可視化し脳内で 3 次元的に示すことができます（図 1）。またダメージを受けたニューロン内のミトコンドリアの動きを生きたままのマウスで計測することも可能です。このユニークな遺伝子組み換えマウスを運動ニューロン軸索

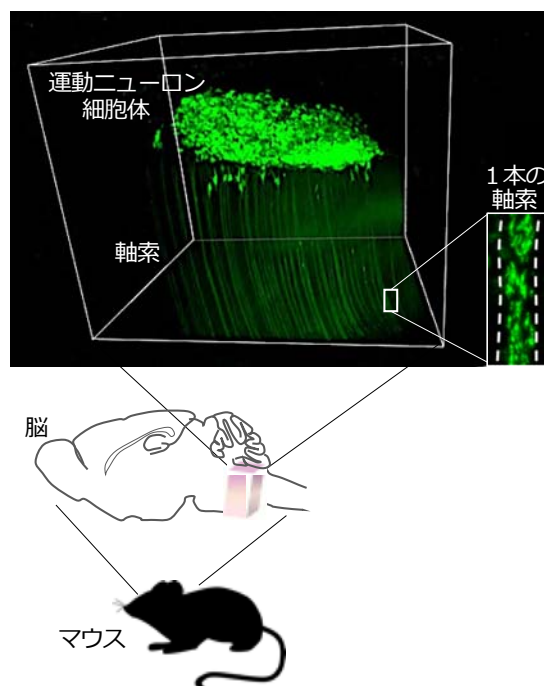


図1 脳内のダメージを受けたニューロンだけが蛍光標識されるマウス

障害を受けたマウスの脳を透明化し3次元で可視化したもの。障害ニューロン内のミトコンドリアが蛍光標識される。1本の軸索内ミトコンドリアがドット状に見える（写真右下）

損傷というシンプルな実験モデルと組み合わせることで、研究グループは軸索損傷時に稼働するプロテアソーム感受性の緊急応答メカニズムを突き止めました。この実験モデルでは、運動ニューロンは軸索損傷に対して耐性を持ち生存・再生することがポイントです。運動ニューロンが障害を受けると、細胞体と軸索のつなぎ目に存在する物流のチェックポイントである AIS 構造が一時的にプロテアソームにより蛋白質分解されることがわかりました。物流選別ゲートが壊されることで、軸索へミトコンドリアが大量に流入し損傷から再生へ向かうために十分なエネルギーを軸索に供給することが可能になります。

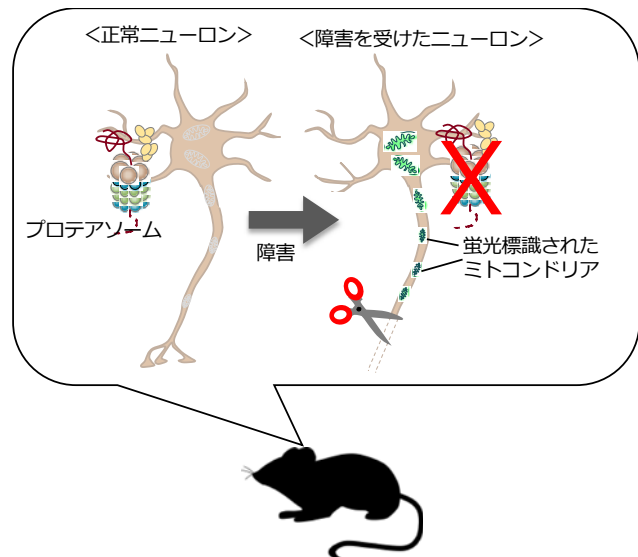


図2 ダメージを受けたニューロンだけでプロテアソームが失われると同時にミトコンドリアが蛍光標識されるマウス

一方、ダメージを受けた運動ニューロンでプロテアソームが機能しない場合（図2）、生存に必要な多様な分子発現やオートファジー※⁷による代償的蛋白質分解など多くのダメージ応答が正常に起こるにも関わらず、AISを一時的に分解する緊急応答メカニズムのスイッチは入らず、結果としてALS様の神経変性に至ることが明らかになりました（図3）。

さらに本研究グループは、ALSなどの神経変性疾患においてもこの緊急応答のメカニズムがうまく作動しないため運動ニューロン変性が生じるのではないかと仮定しました。ALS運動ニューロンではプロテアソームが機能不全に陥ることが知られているからです。そこで、ALSモデルマウスを用いてこれを検証しました。ALSの運動ニューロンは疾患に対して脆弱なものから比較的耐性を持つものまで多様な集団で構成されています。ALSマウスをAtf3:BAC Tgマウスと交配したところ、脆弱性の高い運動ニューロンのうち疾患によるダメージに応答したニューロンだけが選択的に発症前から蛍光標識されることが明らかになりました。これらの運動ニューロンはダメージに応答し生存しようとする反応を示しながらもAIS構造を分解できず、軸索へのミトコンドリア供給量を増やせないことが明らかになりました（図3）。すなわち軸索損傷モデルで見つかった生存への応答がALSモデルでは欠損していることが明らかになりました。

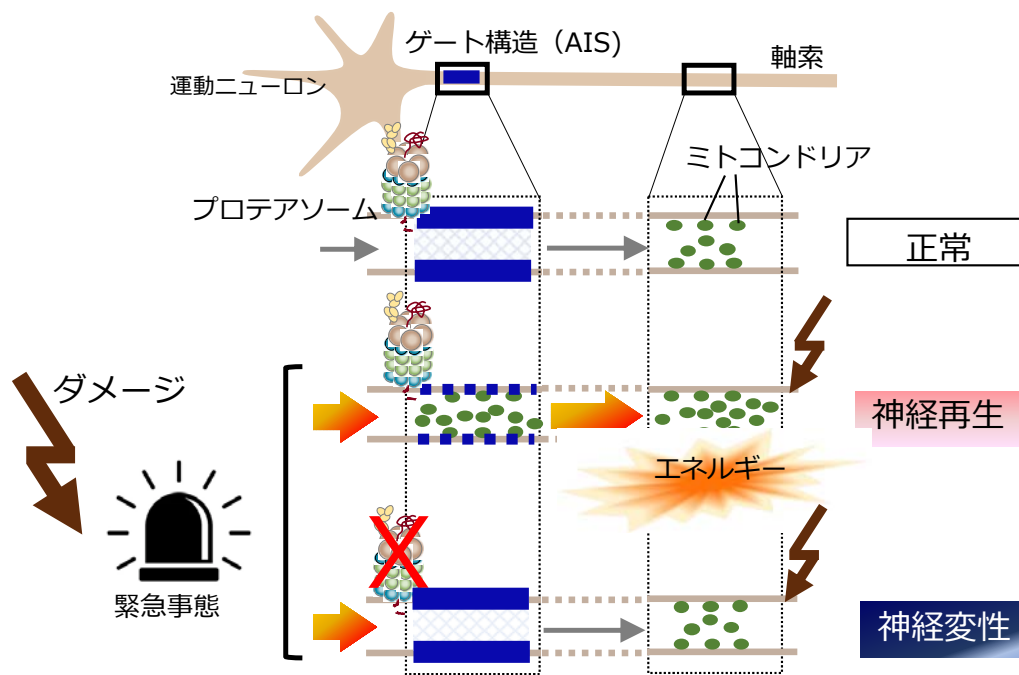


図3 ダメージという緊急事態に対応しゲート構造を分解することで軸索を守る仕組み

3. 今後の展開

脳内でダメージを受けたニューロン特異的に遺伝子操作しダメージに対する応答を浮かび上がらせることで、これまで埋もれていた神経変性を回避するための重要なメカニズムを見出すことができました。ダメージに応答したプロテアソームがどのように局所で活性化し AIS 構造を選択的に分解するのか現時点では解明されていませんが、おそらく周囲のグリア細胞を巻き込んだ制御機構があるのではないかと考えられます。そのため、様々な細胞が混在する生体内でダメージ応答メカニズムを解明する基礎研究の意義は高いと考えています。また、神経変性疾患とミトコンドリアの関係は古くから示唆されています。しかし、ミトコンドリアはあらゆる細胞に存在するため、生体での研究はどうしても限定的になってしまいます。こうした壁を乗り越え、病態解明に向けこのマウスの利点を有効に活用しながら研究を展開し、創薬や治療につなげていきたいと考えています。

4. 用語説明

※1 運動ニューロン

直接骨格筋を動かすために必要な神経細胞（＝ニューロン）。細胞体から出る1本の長い軸索が筋肉まで到達し、神経筋接合部で筋収縮のための神経伝達物質（アセチルコリン）を放出します。

※2 軸索

ニューロンの細胞体から出る多数の突起のうちの1本が軸索です。運動ニューロンの軸索は非常に長く、ヒトでは筋肉に到達するまで1メートル以上になる場合もあります。軸索の先端で神経伝達物質を放出するため、必要な物資やミトコンドリアが細胞体から長い距離を運ばれてきます。

※3 AIS 構造

AIS は Axon initial segment の略で日本語では軸索初節と呼ばれ、軸索の起始部にある高度に特殊化された区画です。成熟ニューロン特有の構造で、この部位にはチャネル受容体や接着分子など特殊な蛋白質が密集し特徴的な構造をしています。ここは活動電位を発生させる場であると同時に軸索へ運ばれるべき物資とそうでない物資を選別する場でもあります。

※4 プロテアソーム

細胞内に二つある主要な蛋白質分解系のうちの一つであり蛋白質をリサイクルするために必要なシステムです。

※5 運動神経変性疾患

運動ニューロンが徐々に変性していく病気の総称。

※6 ミトコンドリア

細胞内に存在する細胞内小器官。細胞のあらゆる活動に必要なエネルギー(ATP)を産生します。分裂融合を繰り返し、細胞内を移動します。品質の劣ったミトコンドリアからは活性酸素や毒性分子などが漏出し、細胞死を誘導してしまいます。このような劣化したミトコンドリアはオートファジーなどにより取り除かれます。

※7 オートファジー

プロテアソーム以外のもう一つの主要な蛋白質分解系。プロテアソームと連携し細胞内の不要蛋白質や劣化ミトコンドリアなどを処理します。

5. 発表雑誌

掲雑誌名 : The EMBO Journal

論文タイトル : Impaired disassembly of the axon initial segment restricts mitochondrial entry into damaged axons

著者 : Sumiko Kiryu-Seo^{1*}, Reika Matsushita¹, Yoshitaka Tashiro^{2,6}, Takeshi Yoshimura^{3,4}, Yohei Iguchi⁵, Masahisa Katsuno⁵, Ryosuke Takahashi², Hiroshi Kiyama^{1*}

所属名 :

¹ Department of Functional Anatomy and Neuroscience, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya 466-8550, Japan

² Department of Neurology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto 606-8507, Japan

³ Department of Child Development and Molecular Brain Science, United Graduate School of Child Development, Osaka University, Suita, Osaka 565-0871, Japan

⁴ Department of Neuroscience, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030, USA,

⁵ Department of Neurology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya 466-8550, Japan

⁶ Present address: Department of Aging Neurobiology, Center for Development of Advanced Medicine for Dementia, National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, 474-8511, Japan
DOI : 10.15252/emboj.2021110486

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/EMB_220826en.pdf