

研究題目 病態脳においてグリア細胞から発信される痩身シグナルの解明

研究組織

研究代表者：村尾直哉（宮崎大学医学部機能生化学）

共同研究者：片桐豊雅（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

多くの神経変性疾患に共通する表現型の一つが痩身であるが、不随意運動やカロリー摂取低下などの患者行動だけでは説明できない病態メカニズムがあると考えられる。我々は、神経変性疾患のメカニズムとして、持続的な小胞体ストレスに着目してきた。これまでに作製した中枢神経系特異的な小胞体ストレス誘導マウス (Derlin-1 nKO マウス) は、協調運動障害、記憶障害など、様々な神経症状を呈すると同時に、全身性代謝亢進と顕著な痩身を示す (Sugiyama et al., iScience. 2021)。さらにこの Derlin-1 nKO マウスの解析により、持続的小胞体ストレスによって反応性アストロサイトおよびミクログリアの増生と活性化を伴う脳内慢性炎症が惹起されること、さらにその領域で Fibroblast growth factor 21 (Fgf21) が有意に発現上昇することを発見した (未発表)。Fgf21 は、主に肝臓で産生され、脂肪組織などを活性化し全身代謝を亢進させる内分泌ホルモンとして知られている。そのため我々は、神経変性疾患に罹患した脳内のグリア細胞から非典型的に産生される Fgf21 が全身性の代謝に関わる視床下部に作用することで、カロリー過剰消費による痩身と予後不良性に関与する可能性を考えた。

申請時点では、慢性脳内炎症部位のグリア細胞から産生されると考えられる Fgf21 と Derlin-1 のダブルノックアウトマウスを作製し、高脂肪食負荷時の体重変化の検討を行っていた。その結果、ダブルノックアウトマウスでは Derlin-1 単独の欠損で見られた痩身の表現型がキャン

セルされ、野生型マウスと同様に肥満を呈する傾向にあるという結果が得られていた。このことから、慢性炎症部位から分泌される Fgf21 は痩身シグナルのキープレイヤーであると考えられた。しかしながら、Fgf21 は細胞外分泌因子であることから、必ずしもその産生場所と作用場所が一致していない可能性があり、具体的にどのような脳部位における神経回路や遺伝子発現変動が最終的な代謝亢進につながっているのかについては不明な点が多く残されている。

そのため本共同研究では、Derlin-1 単独の欠損マウスと Derlin-1, Fgf21 ダブルノックアウトマウス双方の小脳や線状体 (慢性炎症状態) および視床下部 (代謝調節に密接に関与) といった Fgf21 の産生、作用候補領域に着目し、RNA-seq 解析を行う。これにより、網羅的に変動する遺伝子群を捉え、脳内 Fgf21 シグナルと関わる重要な標的分子を捉えることを目的とした。本共同研究により、慢性炎症状態にある病態脳グリア細胞から発信される末梢への代謝シグナル連関を解明し、神経変性疾患患者の Quality of life (QOL) 向上に資することを目指した。

[1-2]研究の方法・経過

1) 小胞体品質管理の破綻に起因する慢性炎症脳部位における Fgf21 シグナル関連因子の同定

痩身を伴う小胞体品質管理が破綻した慢性脳炎症マウスにおいて、Derlin-1-Fgf21 シグナルの作用脳領域とその病態分子メカニズムを解明するために、Derlin-1 を欠損したマウス (Derlin-1 nKO マウス) と Derlin-1 と Fgf21 両

方を欠損させたマウス (Derlin-1, Fgf21 nKO マウス) それぞれの線状体、小脳、視床下部領域の遺伝子発現を RNA-seq 解析により比較検討する。これにより、Derlin-1-Fgf21 依存的に変動する代謝亢進に関連し得る脳領域および候補因子を同定する。

2) 慢性炎症病態脳における Derlin-1-Fgf21 依存的な痩身メカニズムの解明

RNA-seq 解析より同定された Derlin-1-Fgf21 の標的領域および分子が痩身にどのように関与するかについてのメカニズム解明を行う。具体的には、Derlin-1-Fgf21 依存的な経路が全身代謝に関わる褐色脂肪組織や肝臓での代謝プロセスにどのように関係しているかについて、高脂肪食を負荷した Derlin-1 nKO マウスと Derlin-1, Fgf21 nKO マウスにおいてウェスタンブロッティングによるタンパク質の生化学的解析、精製 mRNA を用いた遺伝子発現解析などを用いて代謝関連因子の比較解析を行う。さらに、1) で同定された因子をその脳領域特異的に shRNA ウイルスによるノックダウンを行う。これにより、上記の末梢における代謝関連因子の変動が改善されるかを確認する。さらに、高脂肪食負荷時の体重変化を解析することで、慢性炎症を伴う病態脳の痩身に関わる新規経路の重要性を証明する。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

本研究では代謝慢性脳内炎症部位のグリア細胞から産生されると考えられる Fgf21 と Derlin-1 のダブルノックアウトマウスにおいて、高脂肪食負荷時の体重変化の検討を継続して行った。その結果、ダブルノックアウトマウスでみられていた Derlin-1 単独の欠損で見られた痩身の表現型のキャンセルについては有意な差ではなく、Derlin-1 欠損マウスの代謝亢進に関しては、Fgf21 は責任因子とは言い切れないことが示唆された。そのため、再解析を行う必要が出てきた。一方で、うつ状態の指標として用いられるシヨ糖嗜好性試験において、Derlin-1 nKO マウスでみられたシヨ糖摂取量の減少が Derlin-1, Fgf21 ダブルノックアウトマウスでキャンセルされることがわかった。シヨ糖摂取量の調節には代謝調節と同様に視床下部領域が密接に関わっているため、当初の予定通りの領域を解析領域として定めた。現在、脳領域のサンプリング及び今年度の共同研究費用を用いて試薬の準備

等を進めている。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本共同研究では、シヨ糖摂取量の抑制機構に小胞体品質管理機構が関わり、この病態メカニズムのひとつとして慢性炎症脳領域における Fgf21 の発現上昇の関与を明らかにした。今後の RNA-seq 解析により得られる結果は、これまで不明であった脳内慢性炎症を伴ううつ病等において、脳内での小胞体品質管理の破綻を介した Fgf21 の発現上昇が関わるという結果だけでなく、その作用点や下流シグナルの特定にも迫ることができると考えられる。そのため、うつ等に関わる食欲や嗜好性の低下を抑制するためのより特異的な治療法等の開発につながるものと期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

なし

[3-2] 学会発表

なし

[3-3] 成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

小胞体品質管理が破綻した慢性脳炎症マウスにおいて、Derlin-1-Fgf21 シグナルの作用脳領域及び下流のシグナルの解析や特定を行う上では、今後さらに詳細に Fgf21 の発現や作用を個々の細胞レベルで解析する必要が出てくると考えられる。そのため、個々の細胞を各脳領域から分離、培養する準備や、シングルセルを用いた網羅的な解析を計画していく必要がある。