

学 位 論 文 要 旨

博士課程 ①・乙	第 号	氏 名	杉山 崇史
<p>[論文題名]</p> <p>ERAD components Derlin-1 and Derlin-2 are essential for postnatal brain development and motor function (小胞体関連分解に関わる Derlin-1 と Derlin-2 は脳の発達と運動機能に必須である) iScience, 24(7):102758, doi:10.1016/j.isci.2021.102758</p> <p>[要 旨]</p> <p>【背景】</p> <p>脳が正常に発達してその機能を維持するために、神経細胞は、外部からの信号を受け取る樹状突起を伸長させ、信号の伝達を担うシナプスを形成する必要がある。しかし、老化した脳や病態脳では、この神経突起やシナプス形成が抑制されるとともに、脳萎縮が観察される。</p> <p>神経細胞の突起伸長やシナプス形成には、神経細胞膜を形成したり、小胞輸送等を促進したりする必要がある。そのため、タンパク質やコレステロール等の活発な合成が必要になり、小胞体が果たす役割は大きいことが知られているが、これまでに多くの病態脳では小胞体の品質悪化が報告されている。小胞体は翻訳されたタンパク質を修飾する場であるが、正しい高次構造をとっていない不良タンパク質が小胞体内に蓄積すると小胞体ストレスの状態になる。しかし、細胞は小胞体ストレス状態を回避するため Unfolded protein response とよばれる品質管理機構を有しており、この小胞体品質管理に重要な小胞体関連分解に関わる膜分子として Derlin-1 (Der11) と Derlin-2 (Der12) がある。又、小胞体は、コレステロール合成に関わる膜型転写因子 SREBP-2 の活性化の最初のステップを担う場所であり、コレステロール合成にとって重要な細胞小器官としても知られている。</p> <p>上記のように、脳が発達する際には小胞体が果たす役割は大きい、詳細なメカニズムは不明な点が多い。そこで今回は小胞体品質管理機構に着目して、Der11 と Der12 の中枢神経特異的欠損マウス (nKO マウス) をそれぞれ作製し、これらが脳の発達に関わるメカニズムについて解析した。</p> <p>【結果】</p> <p>Der11, Der12 それぞれの中枢神経特異的欠損マウスは、どちらも脳全体が萎縮し、特に運動の調整に関わる線条体と小脳が有意に縮小していた。脳の萎縮は一般的に神経</p>			

細胞脱落に起因するとされているが、どちらのマウスも神経細胞脱落は認めなかった。一方で、線条体と小脳においてゴルジ染色を用いて神経の形態を解析したところ、神経突起の短縮が観察された。以上から、今回のマウスの脳萎縮は神経突起（主に樹状突起）が短縮していることに起因していることが示唆され、加えて Derlin family が神経突起形成に重要な役割を担うことが明らかとなった。さらに、線条体と小脳は運動機能に重要な役割を持つことから、行動解析を実施したところ、Der11 nKO マウスと Der12 nKO マウスともに Rotarod テストと Beam テストで協調運動障害を認め、萎縮が目立つ線条体と小脳の機能障害に対応する運動障害も明らかとなった。

Der11 と Der12 を中枢神経特異的に欠損することで、神経突起が短縮するメカニズムについて、まず小胞体品質の変化に着目した。どちらのマウスにおいても、4 週齢の小脳で小胞体ストレスと小胞体関連分解に関連するマーカーは上昇していたことから、少なくとも小脳において小胞体ストレスが惹起されていることが示唆された。しかし、Der11 nKO マウスの大脳皮質由来の初代培養神経細胞に小胞体ストレスを緩和する 4-phenylbutyric acid を作用させたところ、ストレスは軽減したが、神経突起の長さは変わらなかった。以上から、Derlin family 欠損による神経突起伸長の障害に小胞体ストレスは関与していないと考えられた。

神経突起伸長に関連する分子メカニズムを明らかにするため、Der11 nKO マウスの 4 週齢の小脳を用いて RNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行った。その結果、コレステロール合成に関連する遺伝子群が上昇している傾向を捉え、同じ週齢の Der11 nKO マウスと Der12 nKO マウスの小脳を用いて定量的 real-time PCR を行い、コレステロール合成に関連する主要な遺伝子群の発現が減少していることを確認した。さらに Western blotting を行い、コレステロール合成に関連する遺伝子群を制御する SREBP-2 の活性化が抑制されていることを突き止めた。最後に、Der11 nKO マウスの大脳皮質由来の初代培養神経細胞でも見られていた樹状突起の短縮が、レンチウイルスを用いて SREBP-2 の活性化部位を高発現させることで抑制することを確認した。

【考察】

今回の研究結果から、小胞体膜上の Derlin family が SREBP-2 の活性化を制御することでコレステロール合成を誘導し、神経細胞発達時の樹状突起の伸長を促す働きを担うことで、脳の正常な発達に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに本発見のユニークな点として、Derlin family の機能不全による小胞体ストレスそのものは、脳萎縮の直接の原因ではなかったという点も挙げられる。本研究成果は、Derlin family による SREBP-2 活性制御を介したコレステロール合成が、脳神経細胞の重要な役割を担い、その破綻が脳萎縮に繋がるという、新たな分子メカニズムを見出した重要な知見といえる。

備考 論文要旨は、和文にあつては 2, 000 字程度、英文にあつては 1, 200 語程度