

## 長寿遺伝子産物 SIRT1（サーチュイン）の活性化で 神経難病 ALS マウスが延命 —神経難病の治療法開発へ期待—

名古屋大学環境医学研究所の渡邊征爾助教、山中宏二教授らと本学大学院理学研究科・木下専教授らの共同研究チームは、長寿遺伝子産物「サーチュイン」として知られる脱アセチル化酵素 SIRT1 の働きを脳で高めることにより、神経難病 ALS（筋萎縮性側索硬化症）モデルマウスの延命効果をもたらすことを明らかにしました。

ALS は、大脳から脊髄を経由して筋肉に指令を出す運動ニューロン（神経細胞）が徐々に死に至る神経難病です。認知機能や人格が保たれたまま、全身の筋肉の麻痺が進行し、多くは発症から 2-5 年以内に呼吸筋の麻痺により人工呼吸器なしには生存できなくなることが深刻な問題です。特定の異常タンパク質が蓄積することで、運動神経細胞が死に至ることが知られていますが、大多数は原因不明であり、原因や病態の解明と治療法の開発が強く求められています。

共同研究チームの木下グループは脳・脊髄で SIRT1 の量を通常の 3 倍程度に増やすように遺伝子操作した SIRT1 マウスを作成し、山中グループが ALS モデルマウスと交配して発症時期や生存期間への効果を検討しました。その結果、SIRT1 を増量させた ALS モデルマウスでは、発症後の進行が遅れ、生存期間が延長しました。

作用機序を探索するため、脊髄に蓄積する異常タンパク質や、その処理に関わるタンパク質を解析したところ、SIRT1 が熱ショックタンパク質 HSP70i を増加させ、遺伝性 ALS の原因となる変異型 SOD1 タンパク質の分解を促すことがわかりました。SIRT1 の働きを活性化するといわれるレスベラトロールは赤ワインなどに含まれる天然化合物ですが、SIRT1 活性化効果の高い化合物が開発できれば、ALS や類縁の神経難病において異常タンパク質の蓄積を抑える治療薬となる可能性が期待されます。本研究成果は、英国学術誌 *Molecular Brain* に平成 26 年 8 月 29 日付で掲載されました。

なお、国立循環器病研究センターの猪原匡史医長らは同じ SIRT1 マウスを用いて、血管性認知症の予防効果を明らかにしました。SIRT1 の活性化が様々な神経疾患の治療に有効である可能性を示す研究結果として注目されます。

\* 本研究は、文部科学省科学研究費、JST-CREST、厚生労働科学研究費、内藤記念科学振興財団より研究助成を受けて行われ、理化学研究所、藤田保健衛生大学、生理学研究所、京都大学、慶應義塾大学との共同研究による成果です。

# 長寿遺伝子産物 SIRT1 (サーチュイン) の活性化で 神経難病 ALS マウスが延命 -神経難病の新たな治療法開発へ期待-

## 【概要】

名古屋大学環境医学研究所の渡邊征爾助教、山中宏二教授らと、本学大学院理学研究科・木下専教授らの共同研究チームは、長寿遺伝子産物として知られる酵素「サーチュイン」(SIRT1)を脳で働かせることにより、神経難病 ALS (筋萎縮性側索硬化症) の延命効果をもたらすことを明らかにしました。

共同研究チームの木下グループは、SIRT1 の量を脳・脊髄で通常の3倍程度に増やすように遺伝子操作した SIRT1 マウスを作成し、山中グループが ALS モデルマウスと交配して発症時期や生存期間への効果を検討しました。その結果、SIRT1 を増量させた ALS モデルマウスでは、発症後の進行が遅れ、生存期間が延長しました。生存期間延長の機序を探索するため、脊髄に蓄積する異常タンパク質や、その処理に関わる熱ショックタンパク質の量を測定したところ、SIRT1 が熱ショックタンパク質 HSP70i を増加させるように働き、遺伝性 ALS の原因となる変異型 SOD1 タンパク質の分解を促すことを見いだしました。

本研究は、SIRT1 の活性化を通じて、病巣での異常タンパク質の蓄積を抑制することにより、ALSをはじめ、異常タンパク質の蓄積による難治性神経疾患の新たな治療法開発に結びつく研究成果と考えられます。

## 【ポイント】

○SIRT1 量を増加させた ALS モデルマウスでは生存期間が延長

○SIRT1 の活性化によって転写因子 HSF1 の活性化が起こり、熱ショックタンパク質 HSP70i の量が増加

○HSP70i の増加に伴い、遺伝性 ALS の原因となる変異型 SOD1 タンパク質の蓄積量が減少

○SIRT1 の活性化を通じた神経疾患の治療法開発に結びつく可能性

## 【背景】

ALSは、大脳と脊髄にある運動神経細胞が、徐々に死に至る原因不明の神経難病です。思考や認知の能力が保たれたまま、全身の筋肉の麻痺が進行し、さらに呼吸をつかさどる筋肉が麻痺するため、通常、発症から2-5年以内に人工呼吸器なしには生存できなくなるため、原因の解明と治療法の開発が強く期待されている重篤な疾患です。

ALSの原因は不明ですが、その発症機序の一端として、異常タンパク質が病巣に蓄積して運動神経を傷害することが知られています。ALSの約1割を占める遺伝性ALSでは、遺伝子工学的手法を用いて原因遺伝子の異常を再現するモデル動物を開発して研究を行うことが可能であるため、遺伝性ALSをターゲットとして病態解明に向けた研究が進められています。本邦では約8000人のALS患者さんが闘病しており、また、本邦の遺伝性ALSでは、SOD1 遺伝子<sup>(1)</sup>の優性変異が最も多く、約2割の患者で見られることがわかっています。

これまでの研究結果から、病巣の運動神経細胞やその周囲のグリア細胞に蓄積する異常タンパク質が、神経傷害を引き起こすことが知られており、遺伝子工学的な手法を用いて、これらの異常タンパク質を実験的に除去するとモデルマウスに延命効果があることが判明しています<sup>(2)</sup>。そこで、異常タンパク質を除去する方法として、治療薬開発に応用可能な手法の開拓が期待されていました。

#### 【研究の内容】

SIRT1<sup>(3)</sup>は、ヒストン脱アセチル化酵素として機能し、様々な実験動物に対する寿命延長効果が示されてきましたが、老化だけでなく、様々なストレスに対して細胞保護機能を発揮することが知られています。研究グループは、SIRT1を活性化することにより神経保護機能を発揮することを期待して、SIRT1の量を脳で通常の3倍程度に増やすように遺伝子操作したマウスを作成し、ALSモデルマウス<sup>(4)</sup>の発症時期および生存期間への効果を検討しました。その結果、SIRT1を増量し、活性化させたALSマウスでは、発症時期に変化はみられませんでした。病気の進行を遅らせることによって生存期間を約15日延長することが判明しました（図1）。

さらに、生存期間延長の機序を探るため、脊髄に蓄積する異常タンパク質や、その処理に関わる熱ショックタンパク質<sup>(5)</sup>など関連するタンパク質の量を測定しました。SIRT1が活性化すると、転写因子HSF1タンパク質<sup>(6)</sup>が脱アセチル化して活性型となり、熱ショックタンパク質HSP70i<sup>(5)</sup>の産生を促進しました。さらに、SIRT1を増やしたALSマウスの脊髄では、変異型SOD1タンパク質の蓄積量が減少しました（図2）。

つまり、SIRT1を活性化することで、熱ショックタンパク質を産生する分子スイッチが働き、遺伝性ALSの原因となる変異型SOD1タンパク質の分解を促すことによって運動神経が保護され、モデルマウスの生存期間が延長すると考えられます（図3）。

#### 【成果の意義】

これまで、海外のグループにより、他の神経疾患モデルにおいてSIRT1の神経保護的な役割が検討されてきましたが、遺伝子工学を用いてALSマウスにおけるSIRT1分子そのものの効果を実証した研究は、本研究が世界初となります。SIRT1の働きを活性化するといわれるレスベラトロールは赤ワインなどに含まれるポリフェノールの一種で、サプリメントとしても知られる天然化合物ですが、その効果をさらに高めた化合物を開発することにより、異常タンパク質の神経組織への蓄積が発症に関与するALSをはじめとする神経難病の治療薬の開発が期待されます。

#### 【用語説明】

(1) SOD1 遺伝子(スーパーオキシドジスムターゼ1 遺伝子)：酸素に依存する生物の細胞内で発生する有害な活性酸素であるスーパーオキシドを解毒する反応系を触媒する酵素。遺伝型のALSでは、この遺伝子に変異があり、SOD1タンパク質の性状が変化して凝集しやすくなった結果、神経細胞に異常に蓄積し、神経傷害性を発揮することが知られている。

(2) グリア細胞とALS：運動神経死を特徴とするALSの病態には、運動神経の異常のみではなく周囲のグリア細胞の異常も関与している。研究チームは、遺伝子工学を用いてALSモデルマウスの運動神経、あるいはグリア細胞から変異SOD1タンパク質を除去するとモデルマウスの生存期間が延長することをこれまでに報告している。

Yamanaka K, et al. Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic

lateral sclerosis. **Nature Neuroscience**, 11: 251-253, 2008.

(理化学研究所プレスリリース)

[http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2008/20080204\\_2/20080204\\_2.pdf](http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2008/20080204_2/20080204_2.pdf)

(3) SIRT1、サーチュイン遺伝子：カロリー制限した際に寿命延長効果をもたらす現象の責任遺伝子として知られ、遺伝子発現調節に関わるヒストンの脱アセチル化を触媒する酵素である。哺乳類のサーチュイン遺伝子ファミリーには7種類あり、酵母の老化抑制遺伝子として最初に発見された Sir2 の相同遺伝子が SIRT1 である。SIRT1 の機能として、生体内の様々なタンパク質と相互作用することで、多くの分子を制御し、細胞周期、細胞老化、ストレス抵抗性や代謝に関与している。

(4) ALS モデルマウス：遺伝性 ALS の原因遺伝子 SOD1 に ALS 患者由来の変異を導入した変異ヒト SOD1 遺伝子をマウスに発現したモデルマウスであり、ALS の特徴である運動神経細胞死や筋麻痺を再現し、広く研究に使用されている。

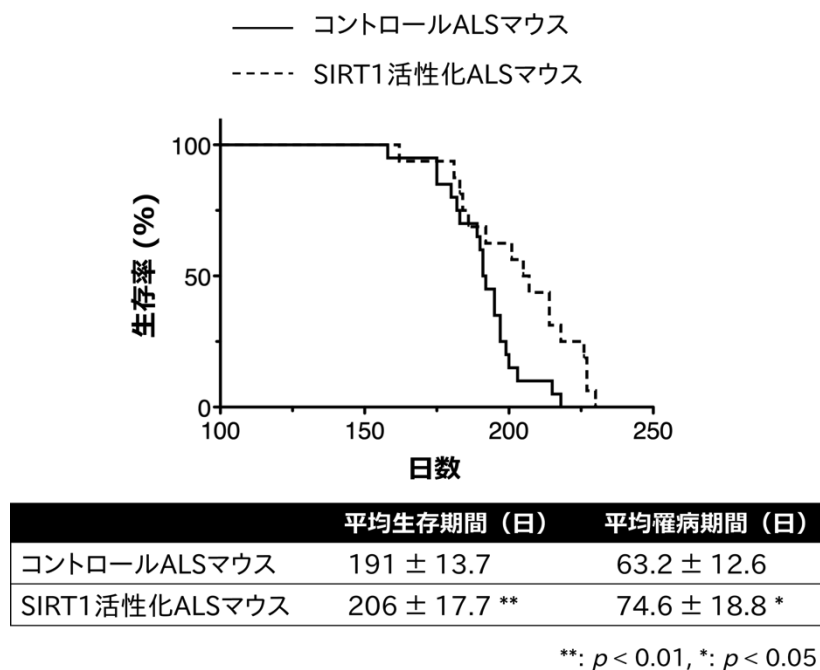
(5) 熱ショックタンパク質、HSP70i、HSF1：細胞が熱などのストレスにさらされた際に発現が誘導されて、細胞を保護する一群のタンパク質であり、タンパク質の折りたたみ（フォールディング）を修復したり、修復不可能な異常タンパク質を分解経路に誘導したりする。Hsp70i (inducible heat shock protein 70) はその代表的なタンパク質であり、HSF1 (heat shock factor 1) は、熱ショックタンパク質の発現制御に関わる因子として知られ、SIRT1 によりその活性が制御されることが最近報告された。

#### 【論文名】

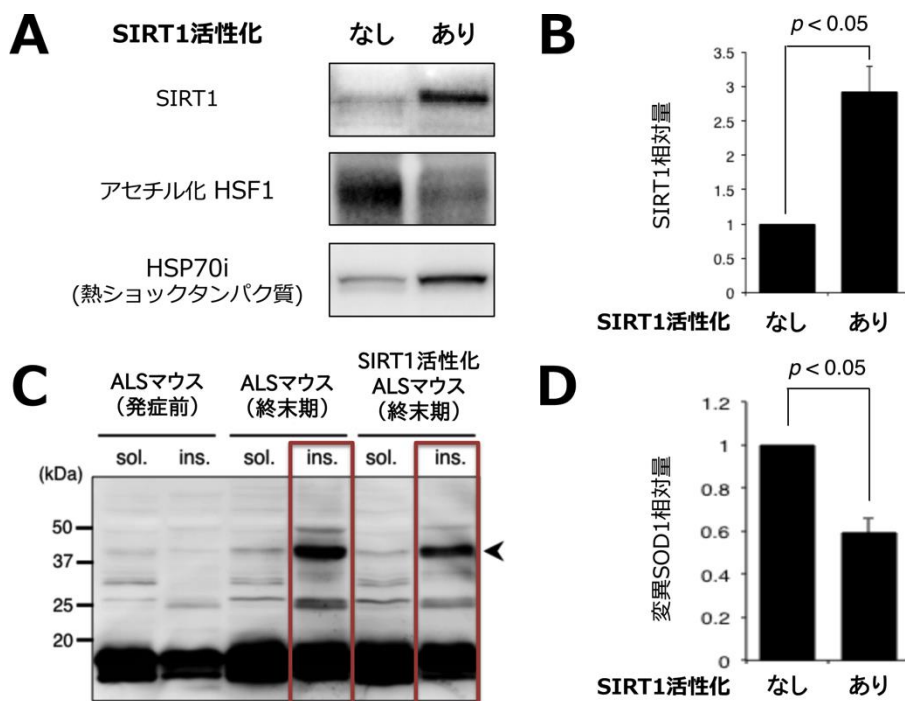
“SIRT1 overexpression ameliorates a mouse model of SOD1-linked amyotrophic lateral sclerosis via HSF1/HSP70i chaperone system” (SIRT1 の過剰発現は HSF1/HSP70i 分子シャペロン経路を介して SOD1-ALS モデルマウスの病態を改善する)

Seiji Watanabe, Natsumi Ageta-Ishihara, Shinji Nagatsu, Keizo Takao, Okiru Komine, Fumito Endo, Tsuyoshi Miyakawa, Hidemi Misawa, Ryosuke Takahashi, Makoto Kinoshita, and Koji Yamanaka (渡邊征爾, 上田(石原)奈津実, 永津真司, 高雄啓三, 小峯起, 遠藤史人, 宮川剛, 三澤日出巳, 高橋良輔, 木下専 & 山中宏二)

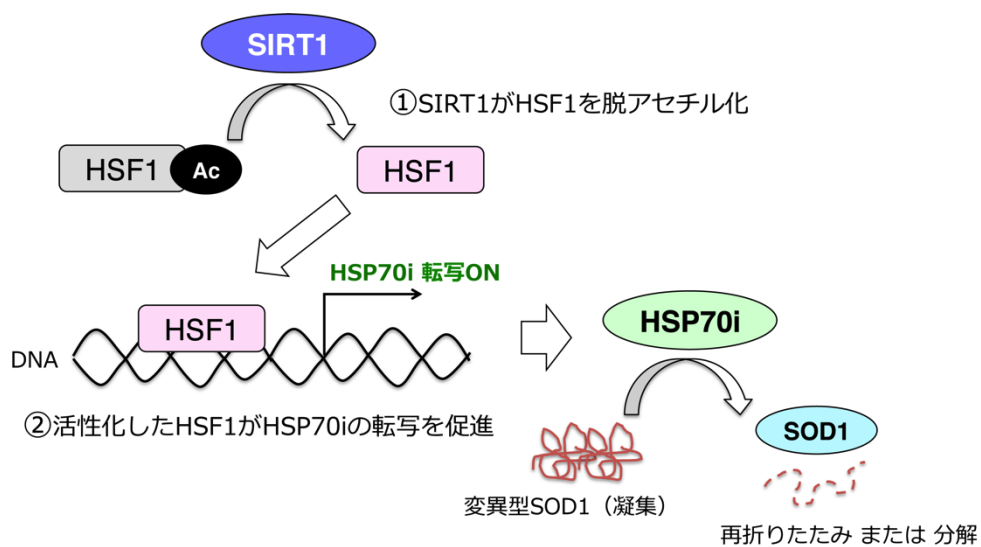
【参考図】



(図 1) SIRT1 活性化 ALS マウスでは、生存期間と罹病期間が平均して約 15 日延長した。



(図 2) SIRT1 量を増加、活性化させたマウスの脊髄では、SIRT1 の量が約 3 倍に増加し(A, B)、アセチル化 HSF1(不活性型 HSF1)が減少して熱ショックタンパク質 HSP70i が増加した(A)。また、これに伴って異常蓄積する変異 SOD1 タンパク質の量が減少した(C 矢頭, D)。



(図 3) SIRT1 活性化による変異 SOD1 の毒性軽減メカニズム.