

小胞体ストレスとパーキンソニズム発症の関連に関する研究

著者	北尾 康子
著者別表示	Kitao Yasuko
雑誌名	平成19(2007)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2005-2007
ページ	7p.
発行年	2008-04
URL	http://doi.org/10.24517/00049271

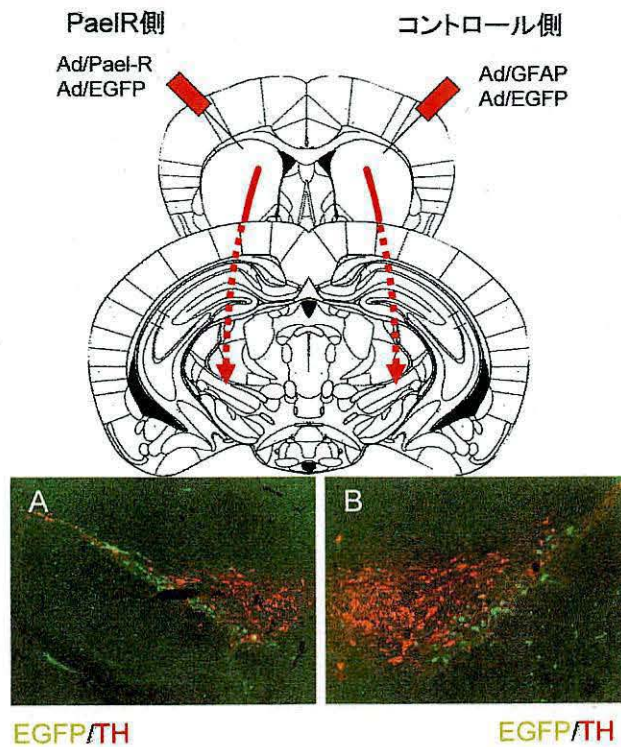
研究成果報告書

研究課題名

小胞体ストレスとパーキンソニズム発症の関連に関する研究

課題番号17500226

平成17年度～平成19年度科学研究費補助金（基盤研究(C)）研究成果報告書



金沢大学附属図書館

平成20年 4月



代表者

北尾 康子
(金沢大学大学院医学系研究科 助教)

1300-05169-8

パーキンソン病(PD)は黒質ドーパミン神経の選択的変性により、進行性の運動障害をきたす原因不明の神経変性疾患である。これまで PD の病態解明には、主に、①PD 全体の5-10%を占める家族性 PD 関連遺伝子の同定・解析を中心とした方法と、②MPTP や6-OHDA 等の神経毒投与後に起こる黒質神経細胞死モデルを用いる方法が用いられて来た。そしてそのいずれの方法においても、黒質神経細胞内における細胞内ストレス（特に酸化ストレス）の増加、ミトコンドリアの機能障害、蛋白分解系であるユビキチン-プロテアソーム系の障害等が報告されている。しかし、近年の細胞生物学的アプローチにより、これらの事実に加えて、ミトコンドリアとは異なる細胞内小器官、小胞体の機能障害（小胞体ストレス）も PD 発症に関わる可能性が示唆されるようになってきた。

我々は、これまで、低酸素暴露したアストロサイトから複数の小胞体ストレス蛋白をクローニングする事に成功し、それらの遺伝子解析を通じて、小胞体ストレスが様々な神経細胞死、例えば虚血性神経細胞死、興奮性アミノ酸による神経細胞死、遅発性神経細胞死、発生段階における神経細胞死に深く関わっていることを報告してきた。本研究においては、我々が独自にクローニングした小胞体ストレス蛋白 ORP150 の他、若年性遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子の一つであり、ユビキチン架橋酵素である Parkin、さらに Parkin の基質として同定された蛋白質 Pael 受容体(Parkin associated endothelin like receptor: PaelR)を用いて、パーキンソニズムにおける小胞体ストレスの重要性を明らかにする事を目指した。

PaelR は膜貫通型の受容体であるため小胞体内でタンパク修飾を受け細胞膜に輸送されるが、その構造が極めて複雑であるため、発現によって強い小胞体ストレスが惹起されることが分かっている。我々は、先ず、PaelR 遺伝子を神経特異的に発現するアデノウイルスベクターを作製し、それをマウス線条体から逆行性に黒質緻密層 (SNpc) に感染させ、SNpc に PaelR を発現させる系を構築した。次に、同モデルを利用して、①PaelR 発現により引き起こされる SNpc での神経細胞死が、小胞体機能の脆弱な ORP150 KO マウスや Parkin KO マウスで強くみられること、②この脆弱性が GRP78 や Parkin 遺伝子など、小胞体関連蛋白の強制発現では改善されるが、HSP70 など細胞質局在のストレス蛋白の強制発現では改善されないことを確認した。つまり、Pael 受容体由来の神経細胞死には、小胞体ストレスの制御が極めて重要であることが明確になった。

また、我々は、本研究を遂行する過程で、小胞体ストレスモデル動物であるメグシン過剰発現ラット(Tg Meg rat)の海馬及び SNpc に、①神経細胞内凝集体形成、②小胞体ストレスの増加、そして③神経細胞死を観察した。このことは、海馬同様 SNpc の神経細胞が特に小胞体ストレスに対して脆弱であることを示唆している。

本研究を通じて、小胞体ストレスとパーキンソニズム発症の関連がより明らかになった。今後、小胞体ストレス制御を用いた神経保護法の開発が可能になると期待される。

研究組織

研究代表者： 助教 北尾 康子 (金沢大学大学院医学系研究科)
研究分担者： 教授 小川 智 (金沢大学大学院医学系研究科)
研究分担者： 准教授 堀 修 (金沢大学大学院医学系研究科)

交付決定額

	直接経費(円)	間接経費(円)	合計(円)
平成17年度	1,200,000	0	1,200,000
平成18年度	1,100,000	0	1,100,000
平成19年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,400,000	330,000	3,730,000

研究発表

(1) 雑誌論文

Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, Yoshiuchi K, Hatazaki M, Matsuoka TA, Ozawa K, Ogawa S, Hori M, Yamasaki Y, Matsuhisa M. Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *J Biol Chem.* 2005; 280(1): 847-851

Bando Y., Katayama T., Taniguchi M., Matsuo N., Ishibashi T., Ogawa S., Tohyama M. RA410/Sly1 suppresses MPP+ and 6-hydroxydopamine induced cell death in SH-SY5Y cells. *Neurobiology of Disease* 2005; 18: 143-151

Ozawa K, Miyazaki T, Hori O, Kitao Y, Tamatani T, and Ogawa S. The ER chaperone 150 kDa Oxygen Regulated Protein (ORP150) improves insulin resistance in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes.* 2005; 54(3): 657-663

Aleshin AN, Sawa Y, Kitagawa-Sakakida S, Bando Y, Ono M, Memon IA, Tohyama M, Ogawa S, and Matsuda H. 150-kDa oxygen-regulated protein attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2005; 38(3): 517-25.

Inagi R, Onogi H, Nangaku M, Ueyama H, Kitao Y, Ogawa S, Kurokawa K, Couser WG, and Miyata T. Involvement of endoplasmic reticulum (ER) stress in podocyte injury associated with a novel transgenic model of serpinopathy. *Kidney International.* 2005; 68: 2639-2650

Nakatani Y, Kaneto H, Hatazaki M, Yoshiuchi Y, Kawamori D, Sakamoto K, Matsuoka T, Ogawa S, Yamasaki Y, and Matsuhisa M. Increased stress protein ORP150 autoantibody production in Type 1 diabetic patients. *Diabet. Med.* 2006; 23: 216-219

Hori O, Miyazaki M, Tamatani T, Ozawa K, Takano K, Okabe M, Ikawa M, Hartmann M, Mai P, Stern M, Kitao Y, and Ogawa S. Deletion of SERP1/RAMP4, a component of the endoplasmic reticulum (ER) translocation sites, leads to ER stress. *Mol. Cell. Biol.* 2006, 26 :4257-67.

Takano K, Kitao Y, Inagi R, Momoi T, Matsuyama T, Miyata T, Yoneda Y, Iso H, Stern DM, Hori O, Ogawa S. A rat model of human FENIB (familial encephalopathy with neuroserpin inclusion bodies). *Biochem Biophys Res Commun.* 2006, 346:1040-1047

Ohse T, Inagi R, Tanaka T, Ota T, Miyata T, Kojima I, Ingelfinger JR, Ogawa S, Fujita T, Nangaku M. Albumin induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in renal proximal tubular cells. *Kidney International*. 2006, 70: 1447-1455.

Kouroku Y, Fujita E, Tanida I, Ueno T, Isoai A, Kumagai H, Ogawa S, Kaufman RJ, Kominami E, Momoi T. ER stress (PERK/eIF2 α phosphorylation) mediates the polyglutamine-induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation. *Cell Death Differ*. 2007, 14(2): 230-239.

Takano K, Tabata Y, Kitao Y, Murakami R, Suzuki H, Yamada M, Iinuma M, Yoneda Y, Ogawa S, Hori O. Methoxyflavones protect cells against endoplasmic reticulum (ER) stress and neurotoxin. *Am. J. Physiol.*, 2007 292(1): C353-C361.

Kitao Y, Imai Y, Ozawa K, Kataoka A, Ikeda T, Soda M, Namekawa K, Kiyama H, Stern DM, Hori O, Wakamatsu K, Ito S, Itohara S, Takahashi R, and Ogawa S. Pael receptor induces death of dopaminergic neurons in the substantia nigra via endoplasmic reticulum stress and dopamine toxicity, which is enhanced under condition of parkin inactivation. *Human Mol. Genetics*. 2007,16(1): 50-60

Namba T, Hoshino T, Tanaka K, Tsutsumi S, Ishihara T, Mima S, Suzuki K, Ogawa S, Mizushima T. Up-regulation of 150-kDa oxygen-regulated protein by celecoxib in human gastric carcinoma cells. *Mol Pharmacol*. 2007, 71(3): 860-870

Bai J, Nakamura H, Kwon YK, Tanito M, Ueda S, Tanaka T, Hattori I, Ban S, Momoi T, Kitao Y, Ogawa S, Yodoi J. Thioredoxin-1 prevents mitochondria- and endoplasmicreticulum-mediated neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Antioxid Redox Signal*. 2007, 9: 603-608

Imuta N, Hori O, Kitao Y, Tabata Y, Yoshimoto T, Matusyama T, Ogawa S. Hypoxia-mediated induction of heme oxygenase type I and carbon monoxide release from astrocytes protects nearby cerebral neurons from hypoxia-mediated apoptosis. *Antioxid Redox Signal*. 2007, 9: 543-552.

Ogawa S, Kitao Y, and Hori O. Ischemia-induced neuronal cell death and stress response. *Antioxid. Redox Signal*. 2007, 9: 573-587

Kitao Y, Matsuyama T, Takano K, Tabata Y, Yoshimoto T, Momoi T, Yamatodani A, Ogawa S, Hori O. Does ORP150/HSP12A protect dopaminergic neurons against MPTP/MPP(+)-induced neurotoxicity? *Antioxid Redox Signal*. 2007, 9: 589-595.

Tabata Y, Takano K, Ito T, Iinuma M, Yoshimoto T, Miura H, Kitao Y, Ogawa S, Hori O. Vatanol B, a resveratrol tetramer, regulates endoplasmic reticulum (ER) stress and inflammation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007 Jul;293(1):C411-8

Takano K, Kitao Y, Tabata Y, Miura H, Sato K, Takuma K, Yamada K, Hibino S, Choshi T, Iinuma M, Suzuki H, Murakami R, Yamada M, Ogawa S, Hori O. A dibenzoylmethane (DBM) derivative protects dopaminergic neurons against both oxidative stress and endoplasmic reticulum (ER) stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007 Dec;293(6):C1884-94.

Miyata T, Takizawa T, Izuhara Y, Kitao Y, Hori O, Ogawa S, Morita Y, Takagi S, and Strihou CY. A novel inhibitor of advanced glycation and endoplasmic reticulum stress reduces infarct volume in rat focal cerebral ischemia. *Brain Res*. 2007 Dec 5;1183:124-37

(2) 学会発表

発表者：堀 修, 小川 智、北尾 康子 他

タイトル：Regulation of endoplasmic reticulum (ER) stress at translocational site into the ER

学会名：The American Society for Cell Biology
場所：サンフランシスコ、米国
月日：12/12/2005

発表者：田端 善行、堀 修、小川 智、北尾 康子他、
タイトル：A screening system for compounds to protect cells against endoplasmic reticulum (ER) stress
学会名：The American Society for Cell Biology
場所：サンフランシスコ、米国
月日：12/12/2005

発表者：高野 桂、堀 修、小川 智、北尾 康子 他、
タイトル：OVEREXPRESSION OF MEGSIN INDUCES NEURONAL DEGENERATION: ROLE OF THE ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS RESPONSE
学会名：The American Society for Cell Biology
場所：サンフランシスコ、米国
月日：12/12/2005

発表者：堀 修、小川 智、北尾 康子 他
タイトル：Deletion of SERP1/RAMP4, a component of the endoplasmic reticulum (ER) translocation sites, leads to ER stress.
学会名：第20回国際生化学・分子生物学会議／第79回日本生化学会大会／第29回分子生物学会年会
場所：京都
月日：6/19/2006

発表者：田端 善行、堀 修、小川 智、北尾 康子 他
タイトル：A screening system for compounds to protect cells against endoplasmic reticulum (ER) and oxidative stress.
学会名：第20回国際生化学・分子生物学会議／第79回日本生化学会大会／第29回分子生物学会年会
場所：京都
月日：6/19/2006

発表者：高野 桂、堀 修、小川 智、北尾 康子 他
タイトル：Overexpression of megsin induces neuronal degeneration: Role of the endoplasmic reticulum (ER) stress response.
学会名：第20回国際生化学・分子生物学会議／第79回日本生化学会大会／第29回分子生物学会年会
場所：京都
月日：6/19/2006

発表者：堀 修、小川 智、北尾 康子 他
タイトル：Screening of neuroprotective agents against endoplasmic reticulum (ER) stress and oxidative stress. (小胞体ストレス・酸化ストレス制御物質の探索とその神経保護効果)
学会名：第29回日本神経科学会
場所：京都
月日：7/19/2006

発表者：堀 修、小川 智、北尾 康子 他
タイトル：Methoxyflavones protect cells against endoplasmic reticulum (ER) stress and neurotoxin.
学会名：分子生物学会フォーラム
場所：名古屋
月日：12/6/2006

発表者：堀 修

タイトル：小胞体ストレス制御に基づくライフケア製品の評価と開発

学会名：日本動物実験代替法学会第20回大会

場所：東京

月日：12/8/2006

発表者：堀 修

タイトル：A screening system for compounds to protect cells against endoplasmic reticulum (ER) stress

学会名：6th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Science (Japanese Society for Alternatives and Animal Experiments)

場所：Tokyo, Japan

月日：8/25/2007

発表者：三浦比佳理、北尾 康子、小川 智、堀 修（金沢大学医学系研究科）、

タイトル：Vaticanol B, a resveratrol tetramer, regulates endoplasmic reticulum (ER) stress and inflammation

学会名：第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化学会大会 合同大会

場所：横浜

月日：12/11/2007

(3) 図書

小川 智、堀 修、小胞体ストレス、別冊医学の歩み「レドックス、ストレス防御の医学」25-29、医歯薬出版、2005

小川 智、堀 修 特集：シナプスから核へー核からシナプスへ「神経細胞死とストレス関連遺伝子の発現」生化学 日本生化学会 79(10), 973-978, 2006

堀 修、小川 智 特集：低酸素の血管細胞生物学「虚血に対する小胞体ストレス応答」血管医学 メディカルレビュー社 7(4), 325-331, 2006

小川 智、堀 修 小胞体ストレスと疾患「糖尿病と小胞体ストレス」医学の歩み 医歯薬出版 216(12) 877-880, 2006

研究成果による産業財産権の出願・取得状況

産業財産権の名称：「小胞体ストレス制御化合物とそれを有効成分とする医薬組成物」

発明者：堀 修、小川 智 他

出願者：金沢大学・明治乳業

産業財産権の種類：特許出願（国内）

番号：特願2006-145935

出願年月日：平成18年、5月25日

産業財産権の名称：「ベンゾイルメタン系化合物とそれを有効成分とする医薬組成物」

発明者：堀 修、小川 智 他

出願者：金沢大学・明治乳業

産業財産権の種類：特許出願（国内）

番号：特願2006-222681

出願年月日：平成18年、8月17日

産業財産権の名称：「小胞体ストレス関与物質のスクリーニング法及び小胞体ストレス関与物質のスクリーニング用細胞評価チップ」

発明者：堀 修 他

出願者：金沢大学・北陸先端科学技術大学院大学・バイオデバイステクノロジー

産業財産権の種類：特許出願（国内）

番号：特願2006-320650

出願年月日：平成18年、11月28日

産業財産権の名称：「小胞体ストレスまたは酸化ストレス由来細胞死抑制剤」

発明者：堀 修、小川 智 他

出願者：金沢大学・明治乳業

産業財産権の種類：特許出願（国内）

番号：特願2007-81200

出願年月日：平成19年、3月27日

産業財産権の名称：「小胞体ストレス制御化合物とそれを有効成分とする医薬組成物」

発明者：堀 修、小川 智 他

出願者：金沢大学・明治乳業

産業財産権の種類：特許出願（海外）

番号：PCT/JP2007/60735

出願年月日：平成19年、5月25日

産業財産権の名称：「ピリミジン誘導剤を有効成分とする医薬組成物」

発明者：堀 修、小川 智 他

出願者：金沢大学・明治乳業

産業財産権の種類：特許出願（国内）

番号：特願 2007-306399

出願年月日：平成19年、11月27日