

2021年1月6日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

一次繊毛が生み出す環境ストレス耐性機構の解明 ー細胞表面に存在する小さな毛のような構造が果たす意外な役割ー

米国チルドレンズ・ナショナル病院の鳥居正昭准教授、橋本（鳥居）和枝准教授、米国イェール大学のパスコ・ラキッチ教授、慶應義塾大学医学部生理学教室の石井聖二特任講師、岡野栄之教授らのグループは、一次繊毛欠損マウスを用いて、細胞に生えた「毛」のように見える一次繊毛が環境ストレスから新生児の大脳皮質を保護する役割があること、またその詳細なメカニズムを解明しました。

われわれは、人体への健康の影響が懸念される化学物質などの環境汚染物質や、感染症を引き起こすウイルスや細菌など、さまざまな危険にさらされて生きています。このような生物にとって好ましくない外的要因を「環境ストレス」と呼びます。生後早い時期の、経験に応じて神経ネットワークが柔軟に変化する時期である「臨界期」では、さまざまな環境ストレスに対して大脳皮質（注1）の耐性が低下する期間が存在します。そこで、研究チームは、その期間で特に伸長する一次繊毛に着目しました。

まず、研究チームは、大脳皮質でのみ一次繊毛を欠損するマウスを作製し、臨界期中に環境ストレスを与えたところ、斑点状の活性型カスパーゼ3（注2）が、特に大脳皮質の第5層の神経細胞に多数検出されることがわかりました。そこで、研究チームは、環境ストレスを与えた一次繊毛欠損マウスの大脳皮質の第5層神経細胞を詳細に調べたところ、神経細胞数は減少していない一方、樹状突起（注3）の長さや分岐数が減少し、変性（注4）が見られることを明らかにしました。次に、研究チームは、一次繊毛に依存して活性化される、環境ストレス応答性の細胞内シグナル伝達経路（注5）の探索を行い、活性型インスリン様成長因子1（以下、IGF1・注6）受容体が大脳皮質の神経細胞の一次繊毛膜上に集積し、PI3K/Aktシグナル伝達経路が活性化されていることを発見しました。さらに、Aktタンパク質を活性化する薬剤をアルコールと同時に一次繊毛欠損マウスに投与すると、大脳皮質の樹状突起の変性を回復できることを発見しました。以上から、臨界期以降の大脳皮質の神経細胞は、一次繊毛を起点とした環境ストレスへの耐性機構を獲得していることが考えられます。

本研究成果は、学術科学雑誌『Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America』の2021年1月5日号（米国東部時間 EST）に掲載されました。

1. 研究の背景と概要

脳の神経ネットワークは、生後の体験・経験によって成長します。生後の早い時期に、経験に応じて神経ネットワークが柔軟に変化する時期のことを「臨界期」と呼びます。臨界期に相当する発達中の子供が、親からの虐待などの精神的なストレスや、麻酔薬、抗てんかん

薬、アルコールなどの「環境ストレス」にさらされると、神経ネットワークの形成が阻害され、その結果、認知機能が低下することが報告されています。動物を用いた実験でも、これまでに生後 7 日目のラットやマウスの新生児が環境ストレスを受けると、成長後に記憶や学習、行動、運動機能に障害が見られる一方、胎児期や生後 14 日目以降に環境ストレスを受けても、顕著な行動異常があまり見られないことが報告されてきました。このことから、ラットやマウスの大脳皮質の神経細胞は、臨界期に相当する生後 2 週間に環境ストレスに対して耐性を失い、この時期に環境ストレスを受けた脳は、生涯にわたって行動異常を起こさせる不可逆的な損傷を受けると考えられてきました。近年、世界における発達障害児の増加（注 7）は著しく、この増加の主な原因は遺伝ではなく環境ストレスであることが確定的となってきました。従って、さまざまな環境ストレスから臨界期の脳を保護することは、社会的ニーズの高い問題であると考えられます。

これまでに米国チルドレンズ・ナショナル病院の橋本（鳥居）和枝准教授・鳥居正昭准教授の研究チームは、アルコール、メチル水銀などの環境ストレスから胎生期のマウス大脳皮質を保護するための機構として、熱ショック応答（注 8）を同定し、詳細な解析を行ってきました（Hashimoto-Torii K. et al, *PNAS*, 2011; Hashimoto-Torii K. et al, *Neuron*, 2014; Ishii S. & Hashimoto-Torii K., *Front Cell Neurosci.*, 2015; Torii M. et al, *PNAS*, 2017; Ishii S. et al., *Nat. Commun.*, 2017; Mohammad S. et al, *Nat. Neurosci.*, 2020）。しかし、成体の大脳皮質の神経細胞では、環境ストレスに対して熱ショック応答の活性化は起こらないため、熱ショック応答に代わる、新たな保護機構を同定する必要性がありました。

イェール大学のラキッチ教授のグループは、先行研究でマウスの大脳皮質で見られる一次繊毛が、生後 2 週目までに急激に伸長することを明らかにしました。一次繊毛は、細胞外の環境の変化を細胞内に伝えるアンテナとして機能しており、細胞外シグナルの受容体を一次繊毛膜上に蓄積することにより、細胞外シグナルを増強することが知られています。研究チームは、臨界期後半、そして、それ以降の大脳皮質の神経細胞が、一次繊毛の伸長に伴い、環境ストレスに対する耐性を上げているのではないかという仮説を立てました。

2. 研究の成果

この仮説を検証するために、研究チームはまず、大脳皮質でのみ一次繊毛を欠損するマウスを作製し、環境ストレスに対する耐性が特に低下すると考えられる生後 7 日目に、環境ストレスとしてアルコールやケタミン（注 9）を投与しました。その結果、環境ストレスを与えた一次繊毛欠損マウスでは、斑点状の活性型カスパーゼ 3 の検出が、特に大脳皮質の第 5 層の神経細胞で顕著に増加することがわかりました（図 1）。さらに、このマウスの大脳皮質の第 5 層の神経細胞を詳細に調べたところ、神経細胞の細胞死（注 10）は起こっていない一方、アクチンやチューブリンなどの細胞骨格タンパク質の切断に伴って、樹状突起の長さや分岐数が減少していることが明らかになりました。斑点状の活性型カスパーゼ 3 は、細胞死を誘導せず、細胞骨格タンパク質を切断し、神経突起の変性にも関与することが知られており、第 5 層の樹状突起は斑点状活性型カスパーゼ 3 により変性することが示唆されました。

次に、一次繊毛に依存して活性化される、環境ストレスに応答する細胞内シグナル伝達経路の探索を行いました。これまでに、大脳皮質の第 5 層神経細胞の生存には IGF1 が関わっていることや、IGF1 と、それを受け取る構造である IGF1 受容体は、特に大脳皮質の第 5 層神経細胞で発現していることが報告されています。また、IGF1 受容体は一次繊毛の膜に局在することが知られています。そこで、研究チームは、一次繊毛上の活性型 IGF1 受容体の発

現を調べたところ、アルコール非投与群と比較し、アルコール投与群では一次繊毛上の活性型 IGF1 受容体の発現量が増加していることを見出しました。つまり、臨界期にアルコールなどの環境ストレスにさらされると、IGF1 が関わる神経細胞の保護機能が增強され、ストレスに対して防御的に働くこと、一次繊毛はこの增強を促す細胞内のシグナル伝達で重要な役割を果たしていることが示唆されました。そこで、IGF1 の下流シグナル分子である Akt タンパク質を活性化する薬剤である「SC79」を、アルコールと同時に生後 7 日目の一次繊毛欠損マウスに投与したところ、活性型カスパーゼ 3 をほぼ完全に検出しなくなることがわかりました。また、それに伴って、大脳皮質の神経細胞の樹状突起の長さや分岐数も回復することが明らかになりました。

以上の結果から、環境ストレスを加えると、活性型 IGF1 受容体が一次繊毛の膜上に集積することにより受信側でシグナルを増幅させ、神経細胞の保護機能を強化するという、一次繊毛の意外な役割を見出すことが出来ました (図 2)。さらに、正常マウスでは、環境ストレスにさらされても、一次繊毛膜上に集積した活性型 IGF1 受容体が PI3K/Akt 経路を活性化し、カスパーゼ 3 の活性化を抑えることで、大脳皮質の正常な樹状突起を維持している一方 (図 3 上)、一次繊毛欠損マウスでは、IGF1 受容体の活性化・集積が起こらないために、活性化したカスパーゼ 3 がアクチンやチューブリンを切断し、樹状突起が変性してしまうことがわかりました (図 3 下)。また、環境ストレスを与えた一次繊毛欠損マウスにおいても、SC79 を投与することにより、樹状突起の変性を回復させることに成功しました。

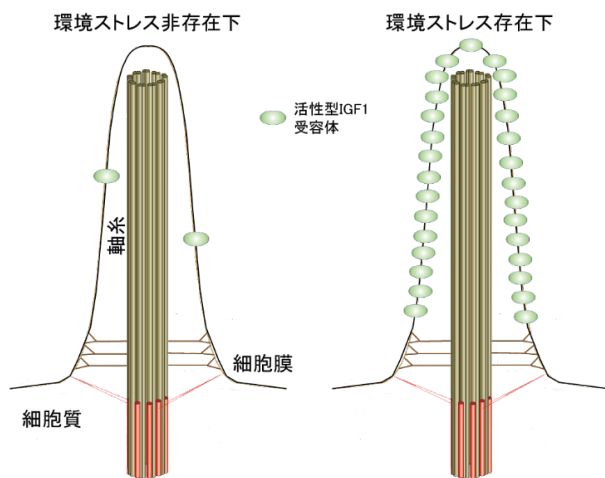
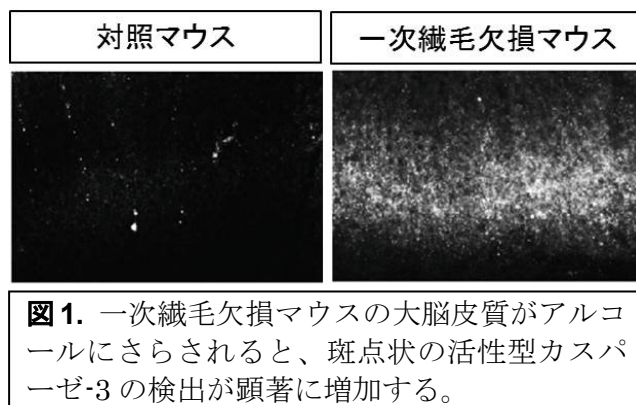


図 2. 環境ストレス非存在下と比べ (左)、環境ストレス存在下では、活性型 IGF1 受容体が一次繊毛膜上に集積する意外な役割を発見した (右)。

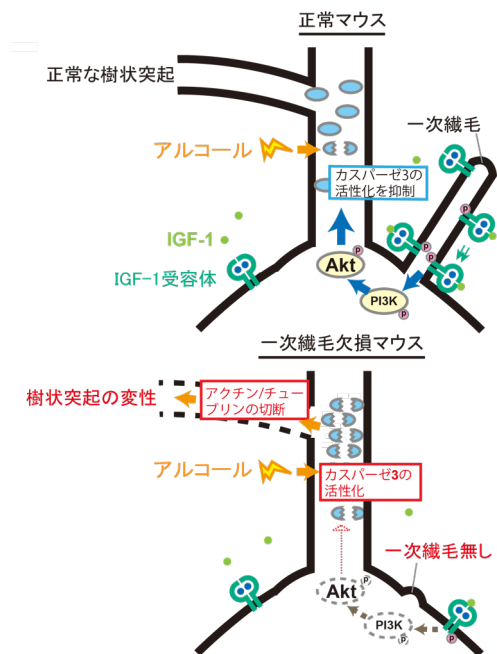


図 3. 正常マウスでは、環境ストレスに応答して、一次繊毛膜上に集積した活性型 IGF1 受容体が PI3K/Akt 経路を活性化し、カスパーゼ 3 の活性化を抑えることで、大脳皮質の正常な樹状突起を維持している (上)。一次繊毛欠損マウスでは、IGF1 受容体の活性化が見られず、活性型カスパーゼ 3 がアクチンやチューブリンを切断し、樹状突起の変性が見られる (下)。

3. 研究の意義・今後の展開

本研究を通じて、一次繊毛を介した環境ストレス応答が、大脳皮質の樹状突起を変性から保護する役割を果たすことを発見しました。研究チームは、これまでに熱ショック応答という胎生期の脳皮質の保護機構を見出してきましたが、今回、臨界期、そして、それ以降においても、新たな脳皮質の保護機構を提唱する根拠となる成果を得ました。一次繊毛の形成異常や機能異常に起因すると考えられている遺伝性疾患は総称して繊毛病と呼ばれ、網膜色素変性症、嚢胞腎、多指症、水頭症、不妊、肥満など、多岐にわたる症状を呈するだけでなく、神経症状を伴うことも多いことが知られています。本研究において得られた知見は、今後、有効な治療法を確立していない繊毛病の神経症状に対して、画期的な治療法の開発の一助になると考えられます。

4. 特記事項

本研究は、主にアメリカ国立衛生研究所（鳥居准教授、橋本（鳥居）准教授、ラキッチ教授、石橋准教授）、JSPS 科研費 JP17H06563（研究活動スタート支援、石井聖二）、JP19K07829（科学研究費基盤研究 C、石井聖二）、坂口光洋記念慶應義塾医学振興基金（石井聖二）、川野小児医学奨学財団（石井聖二）、慶應義塾大学内部研究資金（KGRI 長寿・基軸プロジェクト）（岡野栄之）の支援によって行われました。

5. 論文

英文タイトル：Primary cilia safeguard cortical neurons in neonatal mouse forebrain from environmental stress-induced dendritic degeneration

タイトル和訳：一次繊毛は、環境ストレスにより引き起こされる樹状突起の変性から、新生児のマウス前脳における大脳皮質の神経細胞を保護している

著者名：石井聖二、佐々木徹、Shahid Mohammad、Hye Hwang、Edwin Tomy、Fahad Somaa、石橋信之、岡野栄之、Pasko Rakic、橋本（鳥居）和枝、鳥居正昭

掲載誌：Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
DOI：10.1073/pnas.2012482118

【用語解説】

(注 1) 大脳皮質：大脳の表面に広がる神経細胞の灰白質の薄い層のことで、マウスやヒトでは 6 層構造を持つことが知られている。大脳皮質の発生過程では、神経細胞がダイナミックな細胞移動を経て最終配置部位に到達するというのを、共同研究者のラキッチ教授がサルを用いた実験により世界で初めて明らかにした。

(注 2) カスパーゼ 3：カスパーゼは、細胞死や炎症を含む多数のプロセスにおいて中心的な役割を果たすプロテアーゼ（タンパク質やポリペプチドの加水分解酵素）ファミリーの一員である。中でもカスパーゼ 3 は、細胞死反応の重要な調節因子の 1 つとして同定された。カスパーゼは初め不活性型の前駆体として発現するが、切断されることで活性型となる。

(注 3) 樹状突起：神経細胞の一部として、外部からの刺激や他の神経細胞から送り出される情報を受け取るために、樹木の枝のように分岐した複数の突起のこと。

- (注 4) 変性：神経病理学では、ある特定の神経細胞群が徐々に障害を受けて、最終的には脱落してしまうこと。
- (注 5) 細胞内シグナル伝達経路：細胞外のホルモンや成長因子、栄養などの環境変化の情報が細胞内に伝わる経路のこと。最終的に細胞の応答を導く。
- (注 6) インスリン様成長因子 1 (Insulin-like growth factor 1; IGF1)：細胞の成長と増殖を刺激する Akt シグナル伝達経路を活性化する天然の因子の中で最も強力なもの 1 つであり、細胞死の強力な阻害因子でもある。
- (注 7) 発達障害児の増加と環境ストレスについて：アーミッシュという米国に居住するオランダ系民族集団は、移民当時の生活スタイルを堅持して近代文明を拒否している。発達障害の一つである自閉症の発症率は、米国人の平均 (2016 年の米国 11 州での調査で罹患率は 1.85%) と比較すると、アーミッシュでは、この数十年で年数人程度であり、著しく少ない (Rajalakshmi K., *Autism-Open Access*, 2015)。従って、環境ストレスのうち、近代文明に浸っている一般米国人が曝露し、アーミッシュの人たちが曝露していないものが、発達障害の一因である可能性が考えられる。
- (注 8) 熱ショック応答：あらゆる生物が持つ根幹的なストレス応答で、さまざまな障害に対し保護効果を持つ。この応答は、生物の生存に必須であると考えられている。
- (注 9) ケタミン：麻酔薬として長年使用されてきたが、乱用薬物でもあるため、日本では 2007 年から麻薬に指定された。近年、欧米ではうつ病の治療に使われ始めている。
- (注 10) 細胞死：細胞が何らかの理由により細胞膜や核などの破綻をきたし、修復不可能となった不可逆的状态のこと。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 生理学教室

特任講師 石井 聖二 (いしい せいじ)

TEL : 03-5363-3747 FAX : 03-3357-5445 E-mail : seiji@a7.keio.jp

<http://www.okano-lab.com>

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学

信濃町キャンパス総務課：山崎・飯塚

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612 E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>

※本リリースのカラー版をご希望の方は【本リリースの発信元】までご連絡ください。