

## 長寿医療研究開発費 平成23年度 総括研究報告

### 創薬モデル動物開発研究に関するプロジェクト（22-17）

主任研究者 津田 玲生 国立長寿医療研究センター 創薬モデル動物開発  
研究 PT（プロジェクトリーダー）

分担研究者

なし。

#### 研究要旨

超高齢化社会を迎える我が国において、高齢者に発症する疾患の予防・治療法の開発が急務である。本研究プロジェクトでは高齢者に特有の疾患のうち認知症および老人性難聴に着目して、ショウジョウバエとマウスを使ったモデル動物の確立を行ってきた。本年度は老人性難聴のショウジョウバエモデルに関する研究を学術論文として報告し、マウスモデル確立のため新たな Tg マウスを作成した。一方、認知症のモデルとしてはアルツハイマー病(AD)の原因因子である A $\beta$ 42 および6種類の変異 A $\beta$ を発現する Tg ショウジョウバエを作成してその作用を検討した。その結果、N末端ピログルタミン化 A $\beta$  (Pyroglutamate Amyloid- $\beta$ : pGlu-A $\beta$ )および8番目のセリンがリン酸化された A $\beta$  (A $\beta$ 42<sup>S8D</sup>)について、強い神経変性効果と神経機能低下の誘導が観察された。さらに、AD発症の新規解析システムの確立を目指して、マウスの感覚神経細胞である内耳有毛細胞に Ab42 を発現するシステムを作成して発現を検討した。

#### A. 研究目的

認知症や老人性難聴は罹患率が非常に高いにもかかわらず、発症メカニズムの解明および予防・治療薬の開発が遅れている。この主な要因としては、これら加齢性疾患の発症には長い時間がかかることが挙げられ、短時間で定量的な解析が行えるモデルシステムの開発が求められている。本研究では、個体レベルでの解析に優れるショウジョウバエおよびヒトへの外挿が容易なマウスを用いて、老人性難聴および認知症に焦点を絞り、発症メカニズム解析から治療・予防薬の開発までを行えるモデルシステムの構築を目的としている。

#### B. 研究方法

##### ①老人性難聴の発症メカニズム解明および治療薬開発

老人性難聴の発症原因としては感覚細胞の長期生存維持が関わっていることが予想さ

れている。本研究では、老人性難聴のモデルと考えられている加齢性難聴疾患の一つ OASD (Ocular albinism with late-onset sensorineural deafness) に注目して、解析モデルの確立を行っている。これまで、OASD の発症には TBL1 と呼ばれる転写抑制因子の変異が関わることが示されており、TBL1 が感覚細胞の生存維持に機能していることが予想されているが詳細は明らかになっていない。ショウジョウバエモデルに関してはショウジョウバエ TBL1 ホモログである Ebi の機能を詳細に解析してストレスシグナルの下流で細胞死関連の遺伝子発現抑制に機能していることを報告している(Lim et al., PLoS ONE 7: e37028, 2012)。さらにマウスに関しては、TBL1 に OASD 変異を導入したものを内耳有毛細胞で発現する Tg マウスを用いて表現型を観察した。

## ②認知症の発症メカニズム解明および治療薬開発

本研究では AD の発症に重要な関与が考えられているアミロイドβ蛋白質(Aβ)および凝集性が異なるさまざまな変異を導入した Aβ の計 7 種類をラット *enkephalin* 分泌シグナルに結合したコンストラクトを作成した。これら変異 Aβ を持つショウジョウバエおよびマウス Tg 動物を作成して、Aβ による神経毒性効果をモニターするシステムの確立を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究ではモデル動物を用いることから、当研究所の動物実験の指針に基づいた研究を行った。

## C. 研究結果

### ①老人性難聴の発症メカニズム解明および治療薬開発

OASD の発症原因因子である TBL1 のショウジョウバエホモログ *ebi* が、ストレスシグナルの下流で機能しアポトーシス関連因子の発現を抑制することを明らかにした(Lim et al., PLoS ONE 7: e37028, 2012)。本年度ではさらに、マウスによる OASD 解析モデルを確立するため TBL1 に OASD 変異を導入したコンストラクト (TBL1<sup>OASD</sup>) をマウス内耳有毛細胞で発現する Tg マウスに関して表現型の解析を行なった。その結果、100 dB の騒音曝露後の聴力が 1 週間で減少する感音性難聴の表現型が観察された。

### ②認知症の発症メカニズム解明および治療薬開発

Aβ<sub>42</sub> および凝集性が異なる Aβ 変異体を合計 7 種類作成した。これらをショウジョウバエで過剰発現させて表現型を観察した結果、N 末端がピログルタミル化される Aβ (Pyroglutamate Amyloid-β: pGlu-Aβ) の発現により約 1 週間で複眼光受容細胞の変性が観察された。さらに、神経細胞における過剰発現では 8 番目のセリンがリン酸化された Aβ<sub>42</sub> に類似した Aβ<sub>42</sub>S8D 型の変異で強い行動異常の表現型が観察された。マウスに関しては Aβ<sub>42</sub> あるいは Aβ<sub>42</sub>Arc を *Math1* エンハンサー下で発現する Tg マウスに関して、内耳有毛細胞での発現が観察された。

#### D. 考察と結論

感音性難聴は老人性難聴や加齢性難聴の表現型に共通する部分が多く、モデルシステムと考えられている。今回、TBL1<sup>OASD</sup>の過剰発現系統が感音性難聴の表現型を示したことから、TBL1<sup>OASD</sup>は老人性難聴の発症メカニズム解析の有用なツールになることが示唆された。今後は、ショウジョウバエで得られた知見をマウスモデルに応用することにより、老人性難聴の発症メカニズム解明および治療薬の開発を行なっていきたい。

認知症に関しては、ショウジョウバエを用いた解析から強い神経変性効果および行動異常の表現型が観察されていることから、これらを用いてADの発症を抑制する薬剤を個体レベルのスクリーニングから明らかにしていきたい。得られた候補薬剤に関しては内耳有毛細胞でAβ42を過剰発現するTgマウスの解析系を用いて作用検定していきたい。

#### E. 健康危険情報

なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Lim, Y.M., Hayashi, S., and Tsuda, L.: Ebi/AP-1 suppresses pro-apoptotic gene expression and permits long-term survival of *Drosophila* sensory neurons. **PLoS ONE**, 7: e37028, 2012.

2) Xiang, L., Nakamura, Y., Lim Y.M., Yamasaki, Y., Kurokawa-Nose, Y., Maruyama, W., Osawa, T., Matsuura, A., Tsuda, L.: Tetrahydrocurcumin extends life span and inhibits the oxidative stress response by regulating the FOXO forkhead transcription factor. **Aging** 3: 1098-1109, 2011.

##### 2. 学会発表

1) Tsuda L., Yamasaki, Y., Lim, Y.M. Molecular study of age-related sensorineural hearing loss using *Drosophila*. Exciting Biology Series”Cellular Development: Biology at the interface” sponsored by Developmental Cell, Kobe, Japan, 2011

2) Lim Y., Tsuda, L. Molecular study of age-related sensorineural hearing loss using *Drosophila*. 52th *Drosophila* Research Conference, San Diego, 2011

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

発明者 : 津田玲生、林 永美

発明の名称：トランスジェニック非ヒト動物の確立および認知症の治療薬スクリーニング  
法確立

出願年月日：国内出願 平成 22 年 4 月 7 日

出願番号：特願 2011-85642 (国内)

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

### 3. その他