

老化神経幹細胞の若返りによるニューロン産生の復活と認知機能の改善

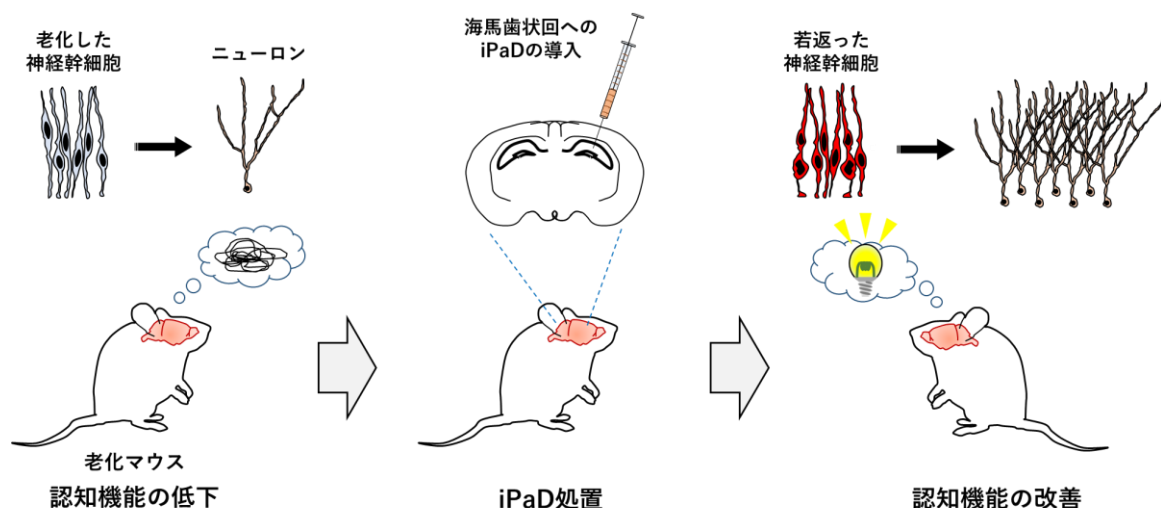
概要

京都大学ウイルス・再生医科学研究所 貝瀬峻 研究員、影山龍一郎 客員教授、生命科学研究科 今吉格 教授、小林妙子 准教授、山田真弓 助教、末田梨沙 同博士課程学生、朴文恵 同博士課程学生、福井雅弘 医学研究科博士課程学生らの研究グループは、老化神経幹細胞が *Plagl2* の強制発現と *Dyrk1a* の抑制によって若返ることを発見しました。

神経細胞（ニューロン）の元となる神経幹細胞は、大人の脳にも存在しますが、胎生期とは異なり、増殖能やニューロン産生能は低下します。大人の神経幹細胞はある程度増えてニューロンを産生し、これらのニューロンは記憶や学習に重要な役割を果たします。しかし、老化とともに神経幹細胞は増殖能やニューロン産生能をほぼ完全に失ってしまい、その結果、認知機能が低下します。このような老化状態の神経幹細胞を若返らせて増殖能やニューロン産生能を復活させることが可能かどうかは明らかになっていませんでした。

本研究において、胎生期に高発現する遺伝子を強制発現あるいは老齢期で高発現する遺伝子をノックダウンすることによって成体脳に内在する神経幹細胞の若返りが可能かどうか調べたところ、亜鉛フィンガータンパク質 *Plagl2* の強制発現とダウン症候群関連キナーゼ *Dyrk1a* のノックダウンの組み合わせ（*inducing Plagl2* and *anti-Dyrk1a* = *iPaD*）で老化神経幹細胞を効率よく若返らせることに成功しました。若返った神経幹細胞は少なくとも3ヶ月以上の間増え続けて多数のニューロンを産生すること、その結果、老化マウスの認知機能が改善することが明らかになりました。老化とともにクロマチン構造が変化して胎生期に働く遺伝子は発現が低下し、逆に老齢期で働く遺伝子は発現が増加しますが、*iPaD* によってこれらの現象が逆転しました。この成果は、認知症に対して、内在性神経幹細胞の若返りによるニューロン補充療法の開発に繋がると期待されます。

本成果は、2021年12月16日に米国の国際学術誌「*Genes & Development*」にオンライン掲載されました。



1. 背景

脳を構成する神経細胞（ニューロン）は、神経幹細胞から生まれます。胎生期には、神経幹細胞は活発に増殖して多くのニューロンを産み出しますが、大人になると神経幹細胞は休眠状態になります。このような休眠状態の神経幹細胞は時折活性化して増殖し、一定数のニューロンを産生しますが、これらのニューロンは学習や記憶に重要な役割を担っていることが知られています。しかし、神経幹細胞の増殖能やニューロン産生能は加齢とともに低下し、老化時にはほぼ消失します。その結果、新たなニューロン産生が起こらなくなり、認知機能が低下します。老化神経幹細胞を若返らせて認知機能を回復させる試みが数多くなされてきましたが、その効果は限定的でした。

これまでの研究から、Wnt シグナルや Notch シグナルの活性化、あるいは BMP シグナル^{注1}の抑制によって成体脳に内在する神経幹細胞が増殖してニューロン産生を起こすことが報告されてきましたが、老齢期では期待したほどの効果は見られませんでした。また、細胞周期を活性化させることで老化神経幹細胞を増殖させることはできましたが、ニューロンはほとんど産生されませんでした。したがって、老化神経幹細胞はどこまでニューロン産生能を復活できるのかはよくわかっていませんでした。

2. 研究手法・成果

本研究では、老齢期の認知機能低下を回復させるために、老化神経幹細胞を若返らせてニューロン産生能を復活させることを目指しました。そのため、胎生期神経幹細胞で高発現する転写因子 80 種類について強制発現することによって静止状態に維持した神経幹細胞培養系を活性化できるかどうか調べました。高い活性化能を示した転写因子を老齢マウスの神経幹細胞で強制発現させて活性化能を調べたところ、亜鉛フィンガータンパク質 Plagl2 が最も強力な活性化作用を持つことがわかりました。次に、成体期の神経幹細胞で高発現する転写因子あるいはその制御因子をノックダウンすることによって静止状態に維持した神経幹細胞培養系を活性化できるかどうか調べました。ノックダウンによって高い活性化能を示した因子について、Plagl2 の強制発現と組み合わせて老齢マウスの神経幹細胞における機能を調べたところ、ダウン症候群関連キナーゼ Dyrk1a のノックダウンが老化神経幹細胞の増殖能とニューロン産生能とを最も効率良く活性化できることがわかりました。この組み合わせ(inducing Plagl2 and anti-Dyrk1a)を iPaD と命名しました。老化神経幹細胞は増殖能とニューロン産生能とをほぼ完全に失っていましたが、iPaD によって幼若期並みに復活できることがわかりました。その結果、少なくとも 3 ヶ月以上の間増え続けて多数のニューロンを産生しました。さらに、空間記憶を調べるバーンズ迷路試験^{注2}や認識記憶を調べる新奇物体探索試験^{注3}において、老化マウスは記憶低下を示しますが、iPaD 処理によって記憶が改善しました。したがって、iPaD によって機能的なニューロン新生を活性化できることが明らかになりました。

次に、iPaD によって神経幹細胞にどのような変化が引き起こされるか調べたところ、胎生期に働く遺伝子のクロマチン構造^{注4}が開き、老齢期で働く遺伝子のクロマチン構造が閉じること、その結果、老齢期の遺伝子発現パターンが若年期のパターンに変化することがわかりました。私たちのグループは、以前、プロニューラル因子 Ascl1 は静止状態の神経幹細胞では発現していないのに対して、活性化状態の神経幹細胞では発現振動^{注5}が起こることを見出していました。老齢期の神経幹細胞では Ascl1 は発現していませんでしたが、iPaD によって Ascl1 の発現振動が誘導されることがわかりました。

以上のことから、iPaD はクロマチン構造を変えることによって老齢期の神経幹細胞を若返らせて効率良くニューロンを産生させ、学習・記憶能力を改善できることが示されました。この研究成果は、今後の認知症の治療に貢献できると期待されます。

3. 波及効果、今後の予定

本研究は、老化マウスの脳に内在する神経幹細胞を若返らせて長期間ニューロンを産生することに成功しました。今後は、マーモセットなどの霊長類でも同様の効果があるのかどうかを解析する予定です。ヒトの脳内にも多くの休眠状態の神経幹細胞が存在します。神経幹細胞を活性化させて新たな神経細胞を作り出す技術に応用することで、アルツハイマー病などの脳疾患に対して、自身のもつ神経幹細胞から神経再生する治療法の開発に繋がると期待できます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、特別推進研究（21H04976）、AMED-CREST「全ライフコースを対象とした個体の機能低下機構の解明」研究開発領域（JP20gm1110002）、日本学術振興会科学研究費（20H03260）の支援を受けて行われました。

<用語解説>

1 Wnt シグナル、BMP シグナル、Notch シグナル：Wnt や BMP は分泌タンパク質で、それぞれ特異的な受容体に結合して細胞増殖や分化を制御する。Notch は膜タンパク質で、Notch に作用するリガンド・タンパク質を発現する細胞と接触すると細胞増殖や分化を制御する。

2 バーンズ迷路試験：暗い場所に逃避できる穴の位置を記憶する学習能力や記憶能力を測定する試験

3 新奇物体探索試験：新奇物体により興味を持つ性質を利用して、既知と新奇物体との探索時間を比較することで、記憶の強さを評価する。

4 クロマチン構造：DNA はヒストン・タンパク質に巻きついてヌクレオソームを形成し、ヌクレオソームはさらに凝集してクロマチンと呼ばれる高次構造をとる。一般に、凝集の度合いが強いと遺伝子は発現しにくくなる。

5 発現振動：遺伝子発現の量が周期的に増減を繰り返すこと。

<研究者のコメント>

今回開発した技術について霊長類動物モデルでも同様の活性があるかどうかを検証し、認知症の新たな治療法開発に発展させたいと考えています。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Functional rejuvenation of aged neural stem cells by Plagl2 and anti-Dyrk1a activity

（Plagl2 と抗 Dyrk1a 活性による老化神経幹細胞の機能的若返り）

著 者：Takashi Kaise, Masahiro Fukui, Risa Sueda, Wenhui Piao, Mayumi Yamada, Taeko Kobayashi, Itaru Imayoshi, and Ryoichiro Kageyama

掲 載 誌：Genes & Development DOI：10.1101/gad.349000.121