

報道機関 各位

平成 25 年 11 月 13 日

新 潟 大 学

“中枢神経損傷からの再生治療” に大きな期待がかかる 「糖鎖合成酵素の制御方法」の開発

【研究成果のポイント】

- I 神経再生阻害因子とされるコンドロイチン硫酸の発現を制御する方法を開発
- II 糖鎖合成酵素の発現制御システムを解明
- III 脊髄損傷治療など今後の中枢神経再生治療へ向けた新しい方法を提唱

研究成果の概要

新潟大学医学部の五十嵐道弘教授および武内恒成准教授らと、同大学・脳研究所、慶応大・医学部、愛媛大・医学部、神戸薬科大、東京都医学研の共同研究チームは、コンドロイチン硫酸(CS)糖鎖合成酵素 T1 の遺伝子欠損マウスが、脊髄損傷の劇的な回復を引き起こすことを発見しました。このマウスでは、損傷部位の縮小や神経の突起である軸索の顕著な伸長再生が起り、さらにはヘパラン硫酸(HS)という、CS と合成系を共有しかつ CS とは逆の神経伸長活性を持つ分子の発現を高めていました。この研究から、この T1 酵素は神経損傷や神経難病の改善に向けて絶妙な標的であることを解明しました。

さらに損傷脊髄に限定してこの遺伝子の抑制にも成功し、今後の iPS 細胞移植などと併用することで、治療法の無かった脊髄損傷などの中枢神経の病態への再生医療につながる成果であると期待されます。本研究に関する論文は、オンライン限定の学際的ジャーナルとして国際的に高く評価されている『Nature Communications』に掲載されました。

成果に至った経緯など

CS はグリコサミノグリカンという糖鎖の一種で細胞外に広がって細胞外基質を構成し、組織の維持に重要な役割を果たします。しかし神経損傷時や神経変性疾患では、反応性グリア細胞が増殖して CS を大量に合成します。これは中枢神経を守る生体防御に有利な面も大きいのですが、神経の軸索という突起の伸長を抑え、再生阻害因子として機能します。CS の効率的分解による再生促進の研究は近年活発に報告されていますが、現実的な治療としては難しいといわれています。

今回、新潟大学医学部の武内恒成准教授・五十嵐道弘教授らと上記の共同研究チームは、この CS 合成酵素 T1 の遺伝子欠損マウスを作り、脊髄損傷から劇的な回復を示すことを発見しました。

このマウスは運動機能の回復実験からも修復が顕著で、組織像からも神経再生が確認されただけでなく、損傷部位は正常の 50%に縮小しました。さらにこのマウスでは損傷後、CS の減少と相反して、軸索の伸長を促進する HS の合成が 20 倍以上に著増して、想像以上の回復を示すことを発見しました。HS 合成上昇による相乗効果は、CS を分解する等、他の方法では全く得られない結果でした。そのため、この CS 糖鎖合成酵素 T1 は、脊髄損傷をはじめとする中枢神経損傷や神経難病の治療に向けて絶妙な治療のターゲットとなるものと考えられます。

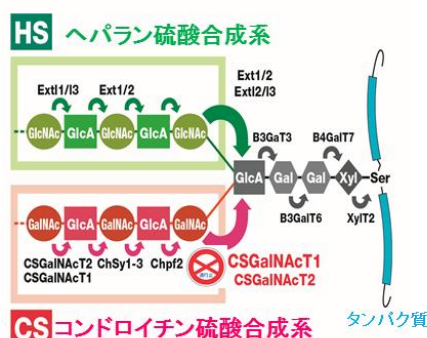
さらに同グループは、脊髄損傷後のマウスの損傷部だけで T1 遺伝子の発現抑制（遺伝子ノックダウン）法を開発し、上述のマウス全身でこの T1 の発現を抑える（遺伝子ノックアウト）ことと同様に、損傷後の回復効果を高めることに成功しました。これは治療への可能性も大きく示唆しています。

研究の発展性 と 将来への展開・期待

脊髄損傷など中枢神経損傷に対してはこれまで手段が限られ、根本的治療法がありませんでした。そのため深刻な麻痺などの後遺症は非常に大きな社会問題でもあります。そのため近年、とくに iPS 細胞

や神経幹細胞の移植によって脊髄損傷からの治療を目指す方向性が日本では特に大きく取り上げられています。今回の成果は、全く新しい原理に基づく、T1 分子を標的とした神経損傷に関する治療法を提案するものでもあります。とくに、遺伝子ノックダウンによって治療回復を引き出すことにも成功しており、治療方向性を提案しました。今後の日本国内での iPS 細胞を利用した脊髄損傷など中枢神経再生治療との併用によってさらには治療効果を期待させるものでもあります。またこれらの研究は将来の神経疾患の難治性を解消する原理に発展することも期待されます。

図 1) コンドロイチン硫酸合成系の経路



コンドロイチン硫酸 (CS) (左下: 赤) の糖鎖はタンパク質 (右: 青) から伸び、合成には多種類の酵素が働く。本研究では、タンパク質から伸び出す四糖の後に CS 鎖合成起点にある CSGalNAcT1 (コンドロイチン硫酸 GalNAc 転移酵素; T1) を標的とした。この T1 遺伝子欠損マウスを作製した (図内: 通行止の部分) ところ、脊髄損傷の劇的な回復を見た。T1 遺伝子を発現抑制すると、ヘパラン硫酸 (HS) (左上: 緑) の合成が促進され、神経突起の伸長因子 HS が発現上昇したためでもあった。

正常マウスの脊髄損傷部



T1 遺伝子欠損マウスの脊髄損傷部

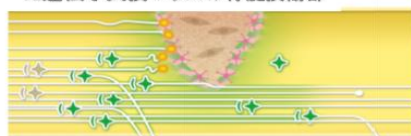


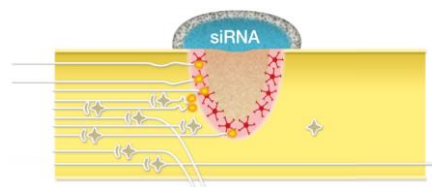
図 2) 脊髄損傷からの回復の概念図

通常のマウスでは脊髄損傷部には大きな瘢痕ができるが、T1 遺伝子を欠損させて CS 発現量が低下したマウスでは瘢痕部が縮小した。さらに通常は認められない神経の伸長因子 HS が合成され、さらに神経再生伸長をさらに促進していた。

ピンク : コンドロイチン硫酸 (CS)
 緑 : ヘパラン硫酸 (HS)
 赤 : CS を発現する反応性グリア細胞

図 3) 脊髄損傷部特異的に遺伝子抑制し、回復させることにも成功

本研究から、T1 は中枢神経の損傷や疾患の治療に向けてよい治療標的になることが証明された。しかし全身性の遺伝子抑制は、治療方策として改善の余地がある。本研究では、さらに損傷部のみ組織特異的に遺伝子発現抑制する方法を開発した。遺伝子抑制 (遺伝子ノックダウン) のために用いる核酸配列 (siRNA) を見だし、損傷部に定置して浸透させ、効果的にデリバリーする T1 遺伝子ノックダウンに成功した【左図】。この方法で通常のマウス (野生型) が、T1 ノックアウトマウスと同様に、脊髄損傷後の大きな回復を示した。iPS 細胞移植等の再生治療と併用可能で、損傷後修復治療に光を与えるものである。



【論文情報】 著者 : Kosei Takeuchi 【武内 恒成】ほか18名
 “Chondroitin sulphate N-acetylgalactosaminyl-transferase-1 inhibits recovery from neural injury”

(日本語訳 : CSGalNAcT1 は脊髄損傷の回復を阻害する)

Nature Communications 日本時間 11月13日 (水) 午前1時 電子版

本件に関する問合せ先

<研究について>

新潟大学医学部副学部長・生化学第二 (教授)
 五十嵐 道弘 (論文責任者)

メール : tarokaja@med.niigata-u.ac.jp

新潟大学医学部・生化学第二 (准教授)
 武内 恒成 (連絡担当者)

メール : k-take@med.niigata-u.ac.jp

【用語集と補足説明】

注1 コンドロイチン硫酸 (CS) : ヒト・動物体内にみられるグリコサミノグリカン (ムコ多糖) の一種。コアタンパク質と呼ばれる核となるタンパク質に共有結合したプロテオグリカンとして多くは存在する。軟骨の細胞外基質として多く存在するが、皮膚など結合組織、脳・神経系組織にも広くみられる。特に神経系では成体では、神経再生を阻害する細胞外因子として損傷後の急性期に発現する。

注2 グリコサミノグリカン : タンパク質に結合する二種類の糖の繰り返し構造が長く伸びた糖鎖化合物。全身のいたるところに存在し、細胞外基質の中核的な物質である。タンパク質と結合して複合体をつくり、プロテオグリカンと呼ばれる。

注3 細胞外基質 : 細胞外マトリックスとも言う。細胞と細胞の間の空間を埋めている物質群で、多様な分子から成り立つが、細胞間シグナル伝達など、細胞間のコミュニケーションに必須である。

注4 反応性グリア細胞 : 神経が損傷を受けると、防御反応として損傷部位を囲い込み炎症を最小限に押さえ込むのに寄与する細胞。アストロサイトという細胞が変化したもので、神経損傷や変性疾患時に増殖する。

注5 軸索 : 神経細胞は、多数の突起を有して他の神経細胞とネットワークを作っている。そのうち、出力に当たる1本の長い突起を軸索という。軸索は一本のみであるため、脳や脊髄などの中枢神経系の神経細胞では、軸索が損傷を受けると通常は回復せず、変性して神経細胞死を起こすことが多い。これは神経損傷や、神経変性疾患 (アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症など) の難治性の根源でもある。

注6 脊髄損傷 (脊損) : 交通事故や落下などでの打撃等で強い外力が加わり脊椎を損壊し、その中に保護されていた脊髄が損傷を受ける病態。損傷が大きい場合には、その部位から下の運動機能が障害されて麻痺が残るケースが多い。患者のQOLにも大きな影響が生ずる。脊髄を含む中枢神経系は、一度損傷すると修復・再生されることは無く、決定的治療法は未だ存在しない。現在日本には10万人以上の脊損患者がおり、毎年5000人以上が脊髄損傷を負っているとされる。

注7 ヘパラン硫酸 (HS) : CS同様に動物細胞の表面や細胞外基質に普遍的に存在する多糖で、プロテオグリカンの形で機能するが多い。血液凝固阻害剤として汎用されるヘパリンは、ヘパラン硫酸の類縁物質である。ヘパラン硫酸は、多種多様な生理活性タンパク質と結合し、細胞間のシグナル伝達などに機能する。

【関連する研究費】**科学研究費**

【新学術領域研究】コンドロイチン・ヘパラン硫酸合成酵素の発現制御—脊髄損傷再生・発生・神経機能— (平成24-25年度) 研究課題番号: 24110503【武内 恒成】

【新学術領域研究】リン酸化プロテオミクスに基づくリン酸化神経病態学の確立 (平成24-25年度) 研究課題番号: 24111515【五十嵐 道弘】

【基盤研究C】脊髄損傷修復の阻害機構の制御: コンドロイチン硫酸基KOマウスと治療への新素材応用 (平成23-25年度) 研究課題番号: 23592161【武内 恒成】

【基盤研究A】成長円錐の新規分子マーカー一群及び関連分子の機能・動態解析 (平成22-25年度)
研究課題番号: 22240040【五十嵐 道弘】 【包括型脳科学研究推進支援ネットワーク】 (平成22-26年度)
研究課題番号: 221S0003【木村 實【代表】 分担: 五十嵐 道弘】

他省庁研究費

【農林水産資源を活用した新需要創出プロジェクト 中課題 (4300)】脊髄損傷保護・神経再生材料開発【武内 恒成】