

長寿医療研究開発費 平成22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 研究所・創薬モデル動物開発プロジェクトチーム (プロジェクトリーダー)

#### 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。そこで、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なった。その結果、老人性難聴およびアルツハイマー病を解析するショウジョウバエモデルの確立に成功した。マウスモデルに関しては現在、トランスジェニックマウスを作成している。

#### 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プロジェクトチーム (プロジェクトリーダー)

#### 分担研究者

なし。

#### 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

を行う。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を示されており、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。そこで本研究では、ショウジョウバエ TBL1 ホモログ(Ebi)とマウス TBL1 の機能解析モデルを確立し、発症メカニズム解析および感覚細胞の生存維持を支持する薬剤の開発を目指す。

## ②認知症の発症メカニズム解明および治療薬開発

アルツハイマー病(AD)は脳の変性が徐々に進行する疾患で、大脳皮質内に老人斑、神経原線維変化等が生じる特徴を持っている。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)と神経原線維変化の主要な構成因子であるタウ(Tau)蛋白質を中心としてショウジョウバエおよびマウスモデルを確立することにより、AD 発症メカニズムの解析から予防・治療薬の検索を行う。

(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)の解析から、Ebi が c-jun を含む AP-1 転写因子と複合体を形成して JNK シグナルの活性化に伴ったアポトーシス関連因子の発現を抑制することにより感覚細胞の生存維持に働いていることを突き止めた(Lim et al., 投稿中)。さらに、本年度では、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>) を作成して、マウス内耳有毛細胞での発現を試みた。具体的には内耳有毛細胞に特異的な遺伝子発現を行うため、Math1 エンハンサー下に TBL1<sup>OASD</sup> をつないだコンストラクトを作成し、Tg マウスを外注により作成した。

### ②認知症の発症メカニズム解明および治療薬開発

Aβ42 および凝集性が異なる Aβ変異体を合計7種類作成した。さらに、Tau についても野生型およびリジン残基に変異体を持つ Tau 変異体の合計4種類作成した。これらをショウジョウバエおよびマウス感覚細胞で発現させるためにそれぞれの発現ベクターに組み込んだコンストラクトを作成し、外注により Tg ショウジョウバエおよびマウスを作成した。ショウジョウバエモデルを用いた解析から Aβの凝集性の増大に伴って感覚神経細胞の変性効果が増加する傾向があることが確かめられた。

#### D. 考察と結論

老人性難聴のショウジョウバエを用いた解析から、光受容細胞ではストレス応答シグナルであるJNKシグナルが過剰に反応するのを抑制するメカニズムが存在することが明らかになった。マウスモデルによる解析は現在進行中であるが、内耳有毛細胞における音の刺激に対するストレスの誘導に対しても同様な機構が存在することが考えられることから、TBL1変異を内耳有毛細胞で発現するマウスでは感音性難聴の表現型が予想される。

A $\beta$ の凝集性の違いはAD発症と密接に関係していることが予想されていることから、ショウジョウバエモデルで確認された凝集性と神経変性の相関を示すデータから、このシステムがヒトAD発症を研究するモデルになることが期待される。このA $\beta$ による神経変性効果を抑制する薬剤をスクリーニングすることによりアルツハイマー病の発症を抑制する薬剤の同定が期待されることから、現在、個体レベルでのスクリーニングシステムの開発を行っている。ここで得られた薬剤を開発中のマウスモデルで検定することにより、ADの発症を抑制する薬剤を短時間で同定するシステムになることが期待される。

#### E. 健康危険情報

なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yamasaki, Y., Lim, Y.M., Hayashi, S., and **Tsuda, L.** Robust specification of sensory neurons by dual functions of *Charlatan*, a *Drosophila* NRSF/REST-like repressor of *extramacrochaetae* and *hairy*. *Genes to Cell* 16, 896-909 (2011).

##### 2. 学会発表

1) **Tsuda L.**, Lim Y. Molecular study of age-related sensorineural hearing loss using *Drosophila*. Molecular Genetics of Aging, Sept 2010, CSH, USA

#### 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

なし。

##### 3. その他

なし。