

脳由来神経栄養因子BDNF遺伝子発現制御機構の解明

～ 脳・神経系の高次機能発現や
疾患原因の解明そして創薬研究を目指して～



福地 守

富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）分子神経生物学

外部環境からの情報や刺激は脳・神経系の発達に必須である



外部環境からの情報や刺激は脳・神経系の発達に必須である

外部環境からの情報や刺激が脳・神経系の発達・機能発現に
重要であることを強く支持するヒトで得られた（偶然的）事実

1. Is your brain really necessary ?

大脳が著しく薄いIQ128の数学に長けた大学生
幼い頃に水頭症 → 大脳がほとんど無いといってもいい状態

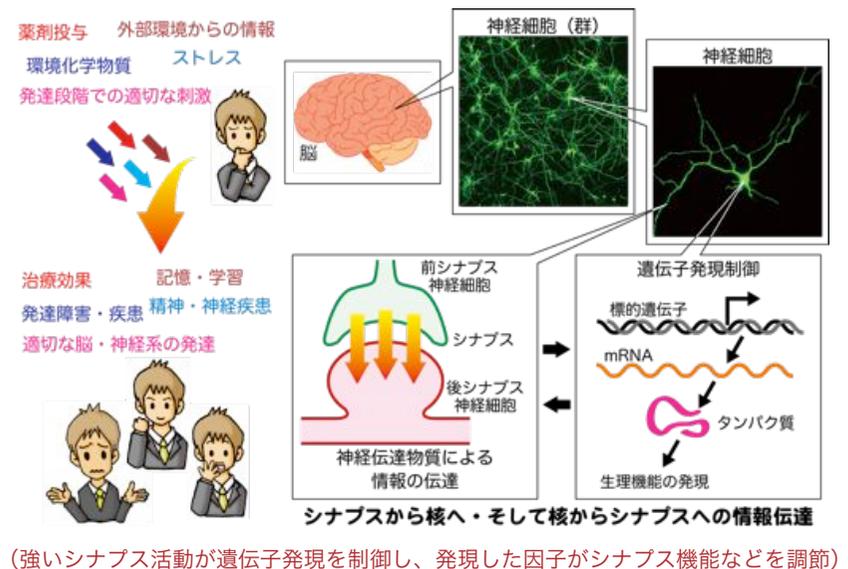
* 幼く脳が柔軟な時期であったため、外部からの刺激・情報を受け
脳の他領域が大脳の機能を代替 !?

2. Victor of Aveyron (アヴェロンの野生児)

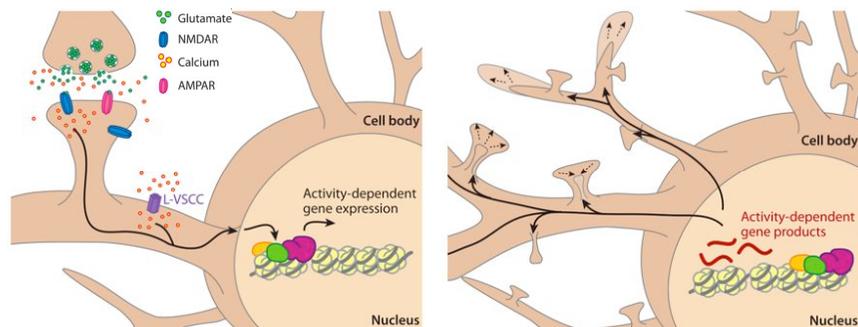
1797年頃にフランスで捕獲された野生児。
発達期に社会隔離 → 人間性の欠如（後の訓練でも回復せず）

* 脳・神経系の重要な発達期に外部環境から適切な情報・刺激を
受けなかったため、人間性が非可逆的に欠如 !?

脳・神経系の発達や機能発現には遺伝子発現が必須である



シナプス～核の間の情報伝達



神経伝達物質による情報が核内へ伝えられ
情報に応じた遺伝子発現が調節される
(シナプスから核へ)

発現した因子により神経細胞の形態的・
機能的な変化が起こる
(核からシナプスへ)

Cohen and Greenberg, *Annu Rev Cell Dev Biol* (2008)

神経活動に依存して発現が変化する遺伝子群の例

Table 1
Summary of activity-regulated, neuronal immediate-early genes.

Category	Gene	Structure/function of gene product	Reference
Transcription factors	<i>c-fos</i>	A bZIP protein; a component of AP-1 complex	Greenberg and Ziff (1984); Morgan et al. (1987)
	<i>fos B</i>	A bZIP protein; a component of AP-1 complex	Hope et al. (1992); Dragunow et al. (1992)
	<i>c-jun</i>	A bZIP protein; a component of AP-1 complex	Saffen et al. (1988); Cole et al. (1990)
	<i>junB</i>	A bZIP protein; a component of AP-1 complex	Saffen et al. (1988); Cole et al. (1990)
	<i>zif268/egr1/krox24/NGFI-A</i>	A zinc finger protein	Cole et al. (1989); Worley et al. (1993)
	<i>egr2/krox20</i> <i>egr3/pilot</i> <i>nur-77/NGFI-B</i>	A zinc finger protein A zinc finger protein An orphan hormone receptor	Bhat et al. (1992) Yamagata et al. (1994a) Watson and Milbrandt (1989); Wisden et al. (1990)
Postsynaptic proteins	<i>Arc/arg3.1</i> <i>homer1a/ves11s</i>	A regulator of AMPAR trafficking An inducible form of EVH proteins	Lyford et al. (1995); Link et al. (1995) Brakeman et al. (1997); Kato et al. (1997)
	Intracellular signaling	Rheb	A Ras homolog protein; regulating mTOR pathway
RSG2		A regulator of heteromeric G-protein signaling	Ingi et al. (1998)
<i>SNK/PIK2</i> <i>Cox-2</i> BDNF		A polo-like kinase An inducible cyclooxygenase A member of neurotrophin family	Kauselmann et al. (1999) Yamagata et al. (1993) Hughes et al. (1993); Lauterborn et al. (1996)
Secretory factors	Activin β A	A member of the TGF- β superfamily	Andreasson and Worley (1995); Inokuchi et al. (1996) Tsui et al. (1996)
	Narp	A neuronal pentraxin; presynaptically released	Qian et al. (1993)
	Tissue-plasminogen activator (tPA)	An extracellular serine protease	Yamagata et al. (1999)
Membrane proteins	Arcadin	A protocadherin family protein	Nedivi et al. (1993); Naeve et al. (1997)
	CPG15/neuritin	A GPI-anchored protein; promoting neurogenesis	

Only a subset of immediate-early genes are listed.

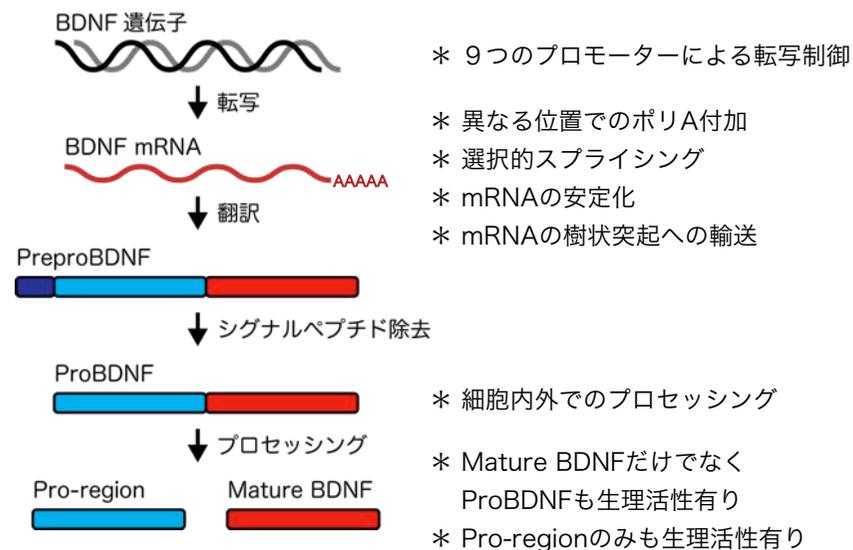
Okuno, *Neurosci Res* (2011)

脳由来神経栄養因子 BDNF

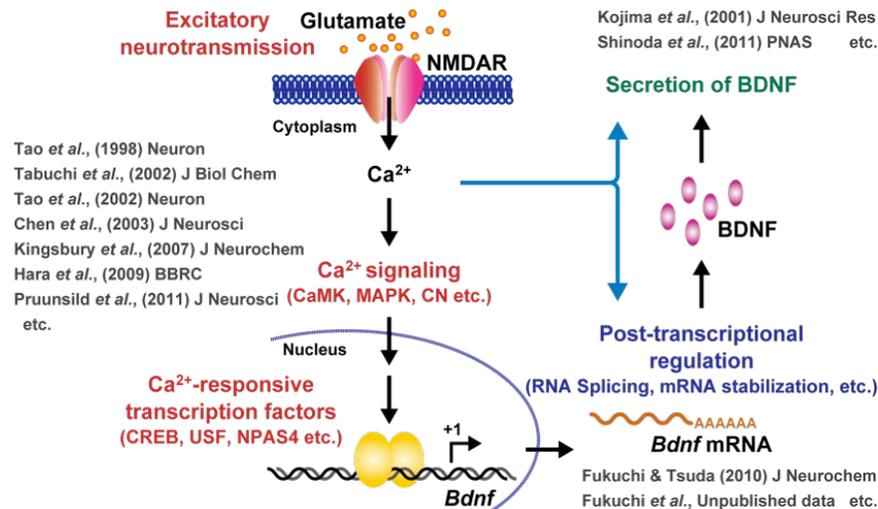
- BDNF: Brain-derived neurotrophic factor
- 1982年にブタの脳より単離、同定された分泌性タンパク質
- 神経栄養因子ファミリー (NGF, NT-3, NT-4/5) の一員
- 神経ネットワーク形成や記憶の固定化など様々な高次脳機能発現に必要
Park & Poo (2013) *Nat Rev Neurosci*
Bekinschtein et al. (2014) *Neuropharmacology*
Leal et al. (2015) *Brain Res*
- アルツハイマー病などの神経変性疾患において脳内BDNF発現量が低下
- うつ病などの精神疾患においては血清中BDNF量も低下
- 抗うつ薬の長期投与によりうつ病で低下したBDNF量が回復
Murer et al. (2001) *Prog Neurobiol*
Mizui et al. (2014) *Neurosci Med*
Shimizu et al. (2003) *Biol Psychiatry*

BDNFは神経・精神疾患のバイオマーカー!? 創薬ターゲット!?

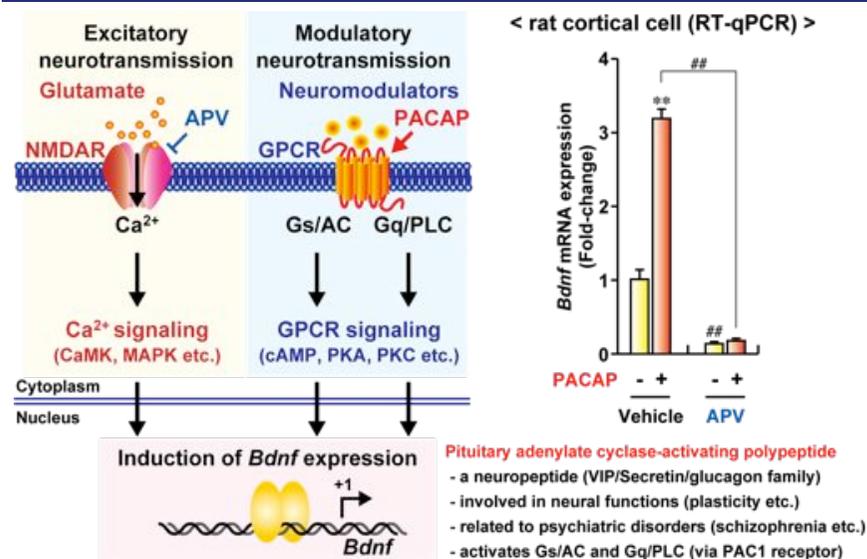
BDNF発現は転写や転写後、翻訳後の段階で様々な制御を受ける



神経活動は積極的にBDNF発現を誘導する

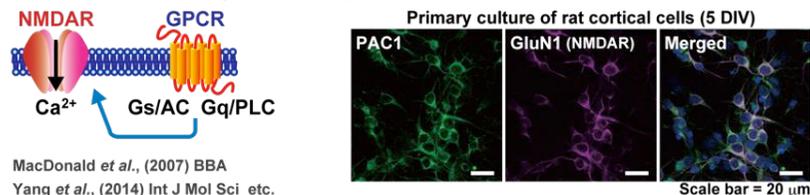


GPCR活性化はNMDARを介してBDNF遺伝子発現を誘導する

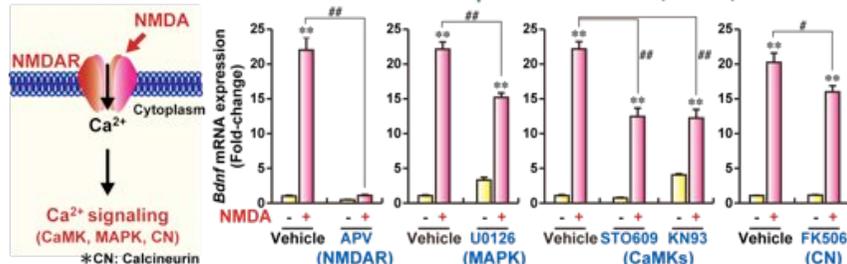


GPCR活性化はNMDARを介してBDNF遺伝子発現を誘導する

Modulation of NMDAR by GPCR Expression of NMDAR and PAC1 in the same neurons

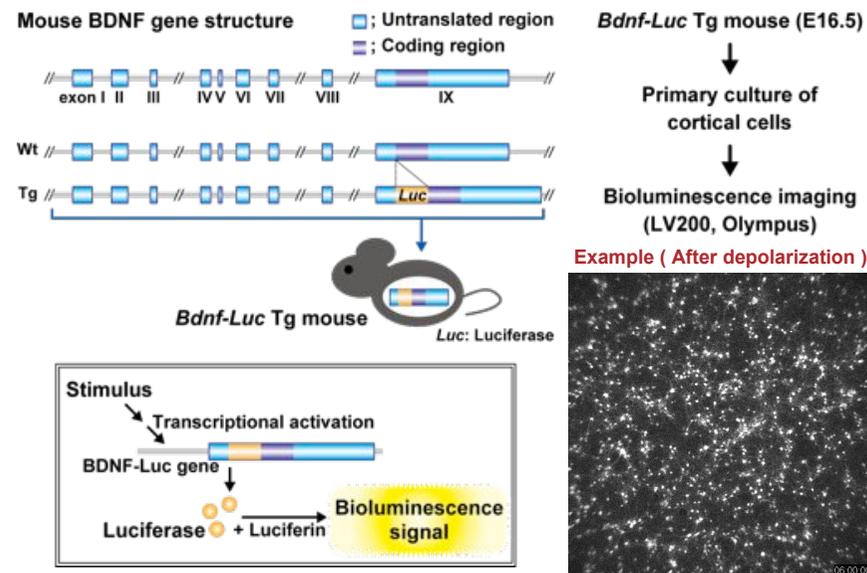


Direct activation of NMDAR induces Bdnf expression via MAPK, CaMK, and CN



GPCR活性化が単にNMDARを活性化するためBDNF遺伝子発現が誘導されるわけではない!!

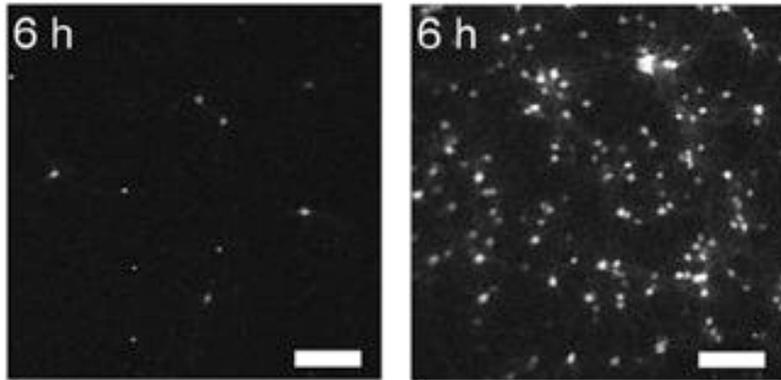
発光酵素ルシフェラーゼを利用したBDNF遺伝子発現の可視化



PACAPによるBDNF遺伝子発現誘導は培養日数により変化する

< 5 DIV >

< 14 DIV >

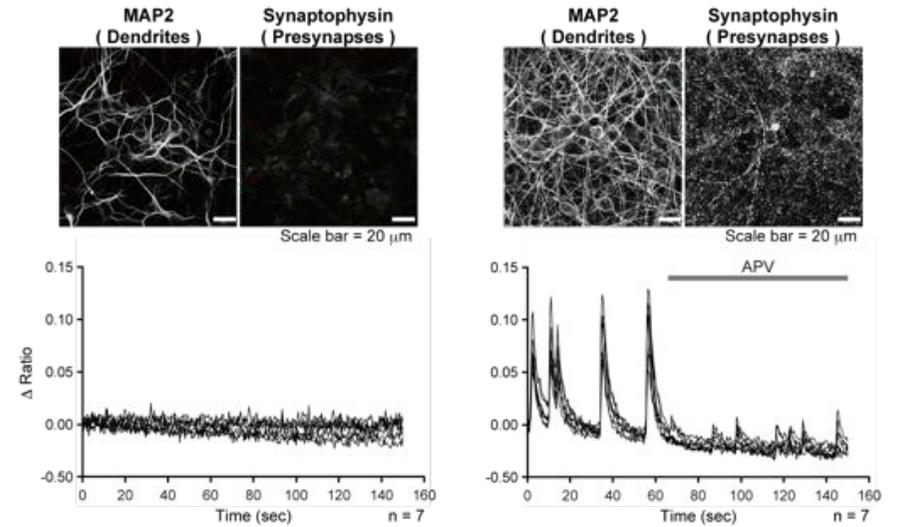


Scale = 200 μ m

培養日数に伴う神経細胞の構造的・機能的な成熟化

< 4 ~ 5 DIV >

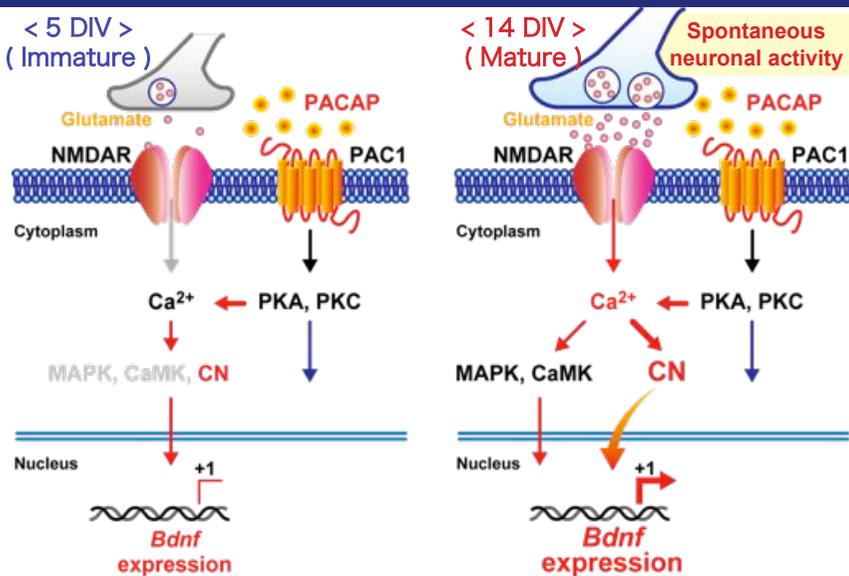
< 14 DIV ~ >



活動的なNMDARがPACAPによるBDNF遺伝子発現には必要 !?

< 5 DIV >
(Immature)

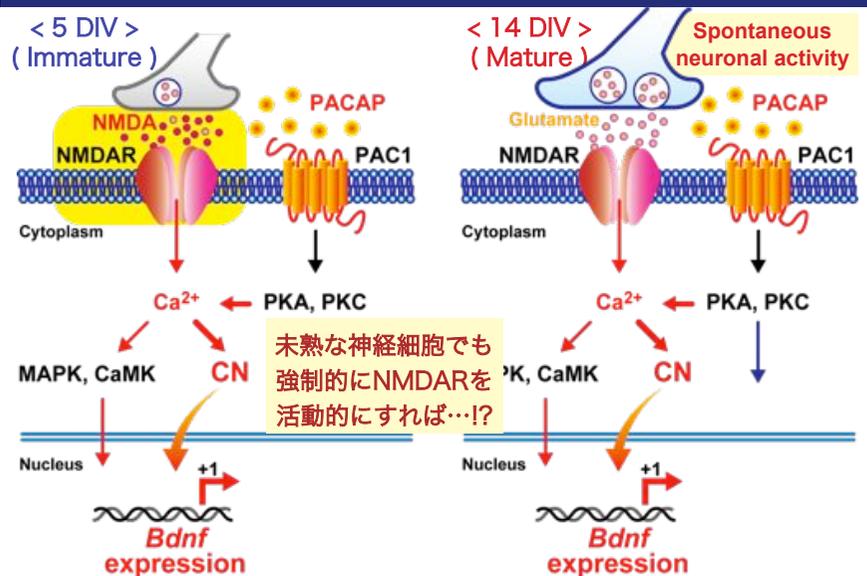
< 14 DIV >
(Mature)



活動的なNMDARがPACAPによるBDNF遺伝子発現には必要 !?

< 5 DIV >
(Immature)

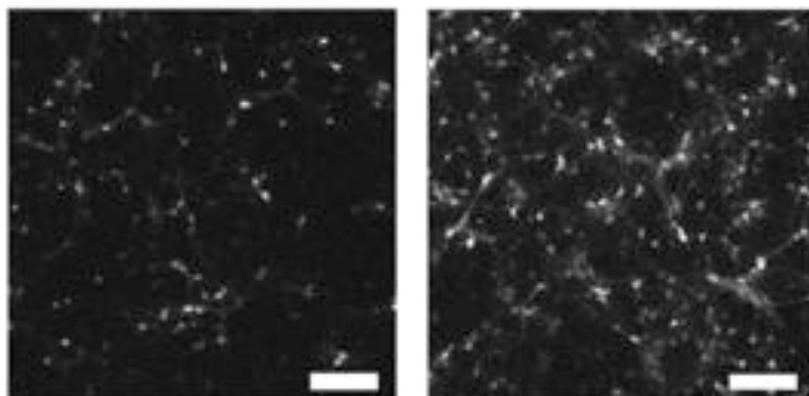
< 14 DIV >
(Mature)



PACAPによるBDNF遺伝子発現はNMDA存在下では増強される

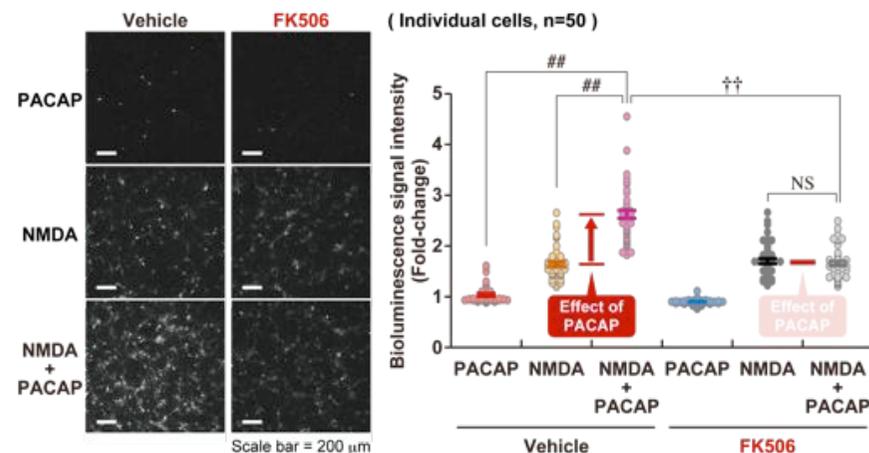
< NMDA, 5 DIV >

< NMDA+PACAP, 5 DIV >



Scale = 200 μ m

PACAPはカルシニューリンを介してBDNF遺伝子発現を誘導する

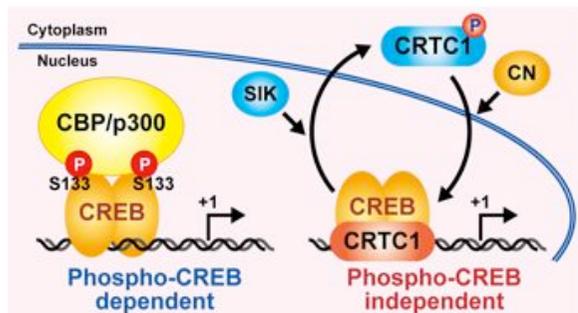


FK506 completely prevents synergistic effect of PACAP on *Bdnf* expression !!

= PACAP selectively activates CN pathway to induce *Bdnf* expression !!

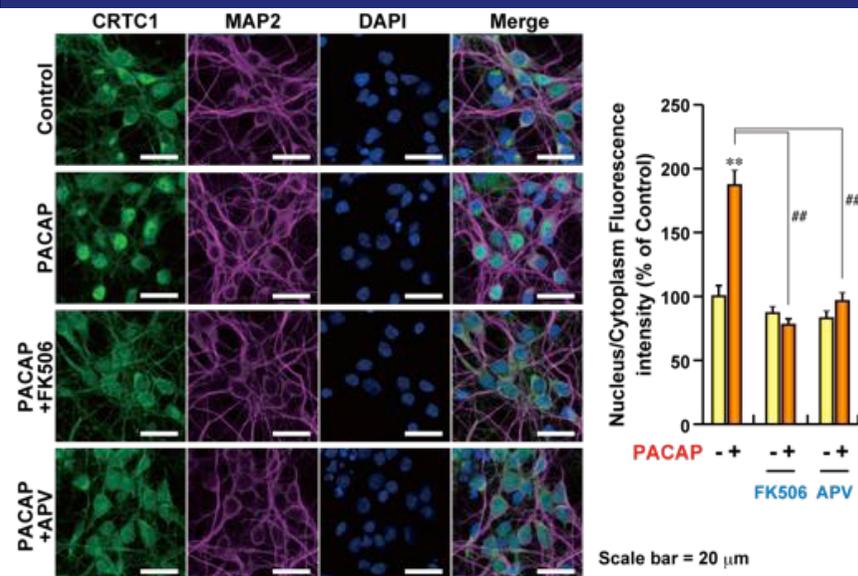
転写制御因子CREBによる標的遺伝子発現の活性化機構

- CRTC1 is a coactivator of CREB.
- CRTC1 activates CREB-dependent transcription in a phospho-CREB-independent manner.
- CRTC1 plays an important role in neural functions including plasticity, learning, and memory.



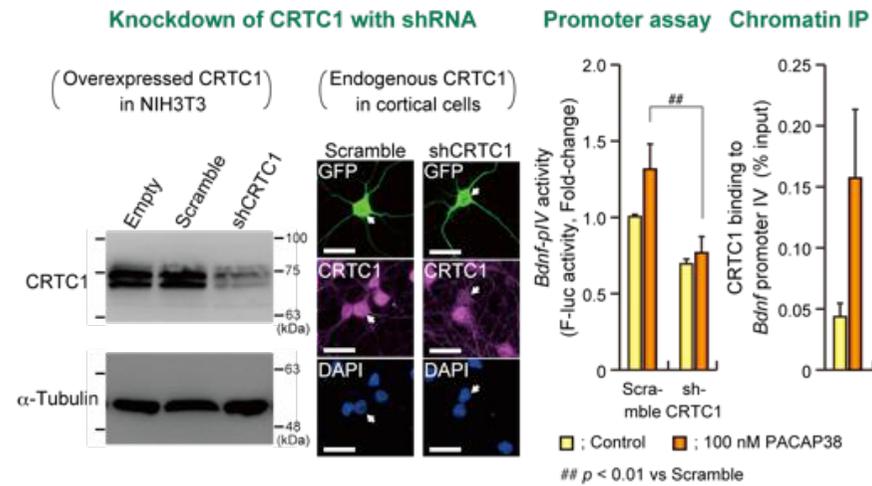
Iourgenko *et al.*, (2003) PNAS
 Conkright *et al.*, (2003) Mol Cell
 Bittinger *et al.*, (2004) Curr Biol
 Zhou *et al.*, (2006) PLoS One
 Kovacs *et al.*, (2007) PNAS
 Sekeres *et al.*, (2012) J Neurosci
 Ch' ng *et al.*, (2012) Cell
 Hirano *et al.*, (2013) Science
 Nonaka *et al.*, (2014) Neuron

PACAPはCRTC1の核移行を促進する

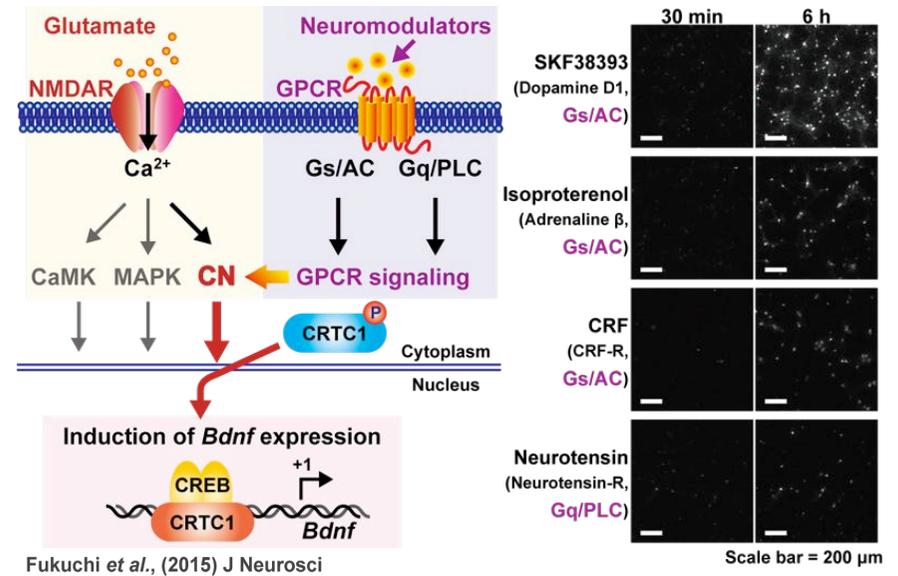


Scale bar = 20 μ m

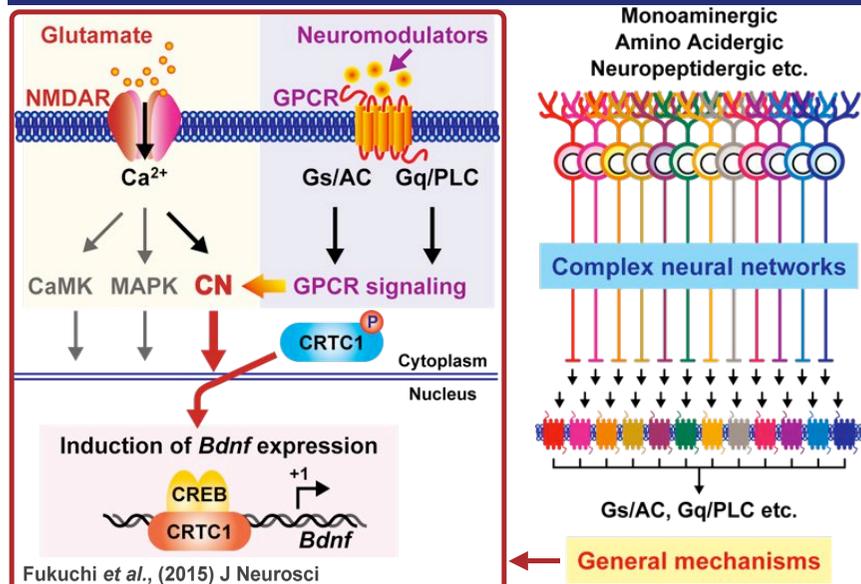
CRTC1はPACAPによるBDNF遺伝子発現誘導に關与する



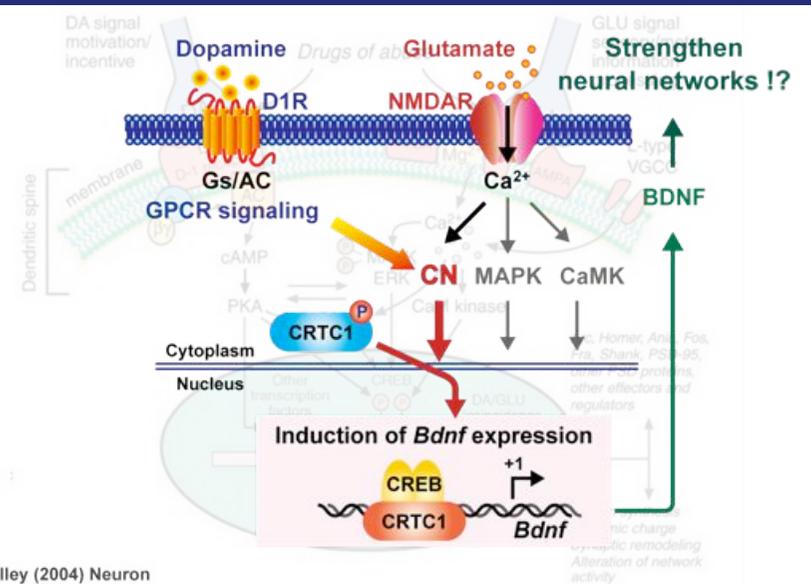
GPCR活性化によるBDNF遺伝子発現誘導機構



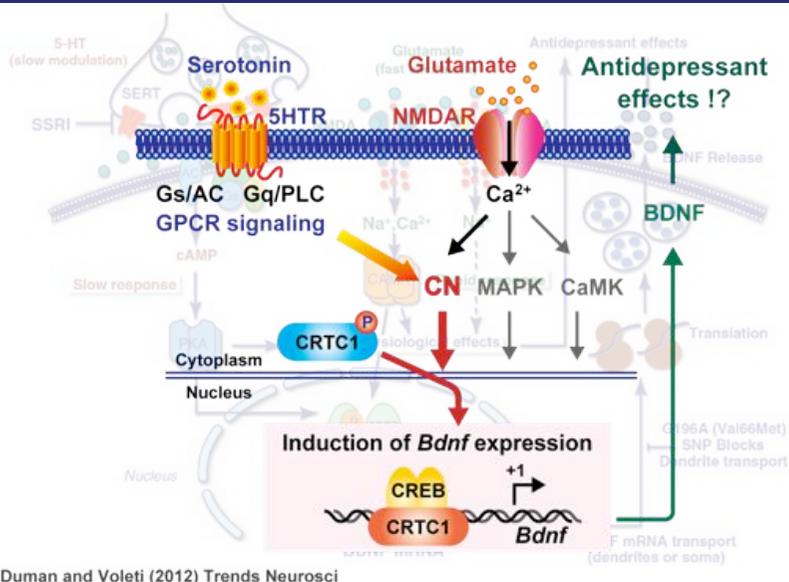
GPCR活性化によるBDNF遺伝子発現誘導機構



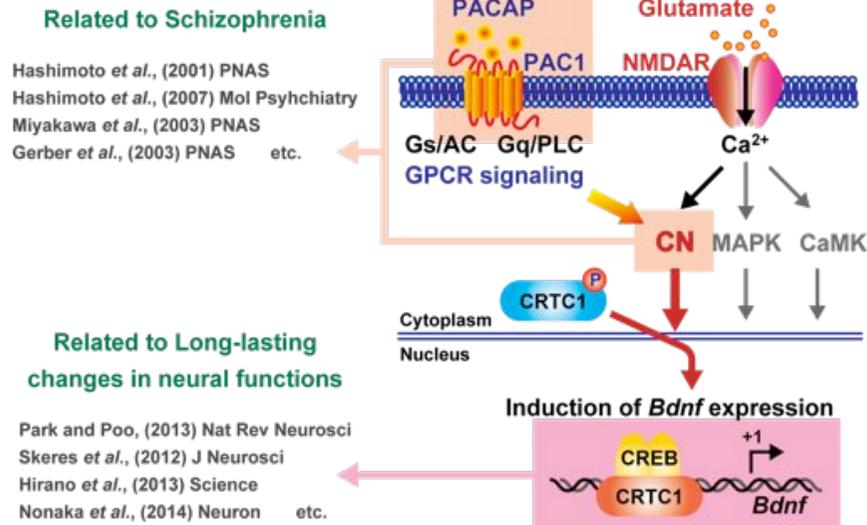
GPCR活性化によるBDNF遺伝子発現制御系が果たす役割？



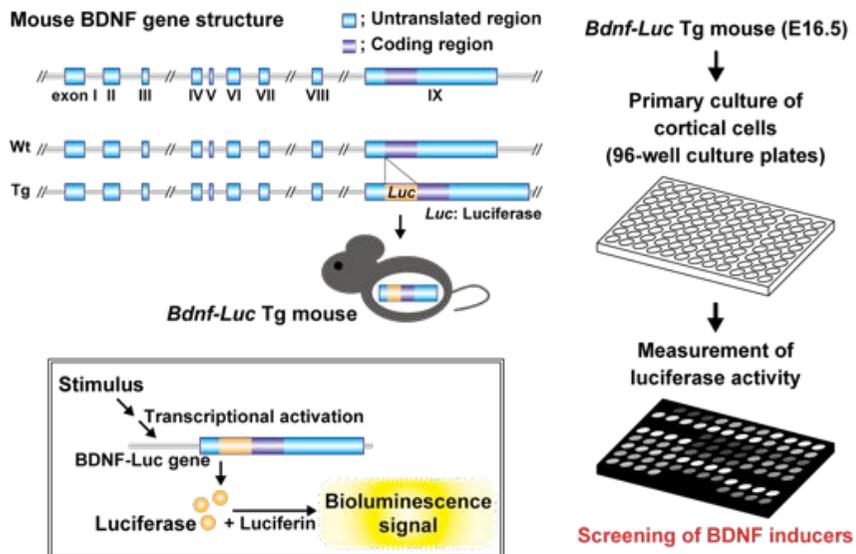
GPCR活性化によるBDNF遺伝子発現制御系が果たす役割？



GPCR活性化によるBDNF遺伝子発現制御系が果たす役割



BDNF-Lucマウスを利用した多検体スクリーニング系の構築

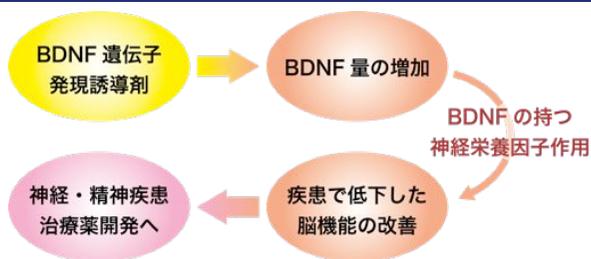


ドーパミン関連の化合物ライブラリーを用いたスクリーニング



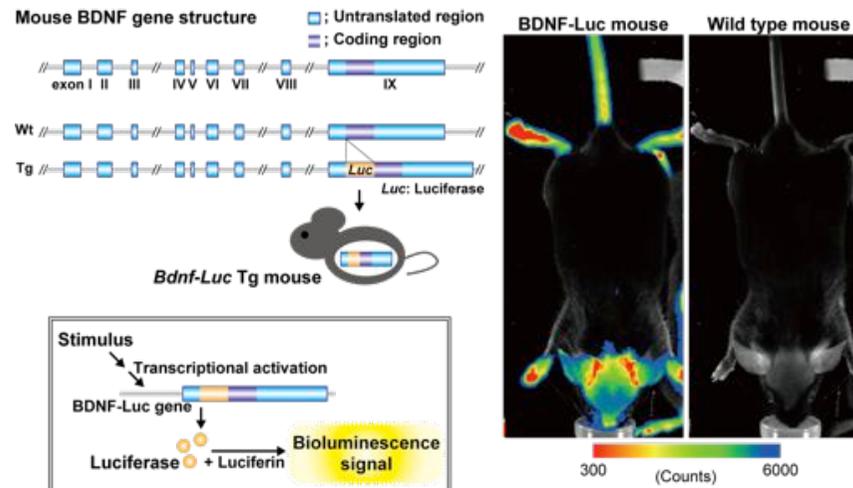
Fukuchi, Unpublished data

BDNF遺伝子発現誘導活性を指標とした創薬研究の可能性



Compound	Disease model	Reference
Fingolimod (BDNF inducer)	Rett syndrome (Mecp2-null mice)	Deogracias et al., (2012) PNAS, 109, pp14230-5
Leu-Ile (BDNF inducer)	Depression (Repeated forced swim)	Furukawa-Hibi et al., (2011) Behav Brain Res, 220, pp271-80
7,8-DHF (TrkB agonist)	Alzheimer's disease (5xFAD mice)	Devi & Ohno, (2012) Neuropsychopharmacology, 37, 434-44
7,8-DHF (TrkB agonist)	PTSD (Immobilization stress)	Andero et al., (2012) Hippocampus, 22, 399-408

BDNF-Lucマウスを用いたin vivoイメージング



生体の窓

GFPの蛍光やルシフェラーゼの発光 = 可視光線領域 (400 ~ 700 nm)
→ 生体組織を構成する物質により妨害され透過性が悪い!

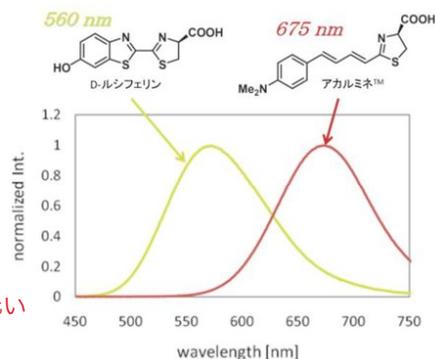
生体の窓 = 近赤外光線 (700 ~ 900 nm) → 透過性が高い!

アカルミネ (和光純薬)

- ・ルシフェリンに代わる基質
- ・670 ~ 680 nmの発光
→ 深部観察に!?

ただし...

- ・水溶性が低い
- ・輝度がD-ルシフェリンよりも低い



和光純薬工業株式会社HPより引用 <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/AkaLumine/>

今後の研究の展開

BDNF遺伝子発現誘導活性を指標とした脳機能改善薬の開発

- 神経系の疾患により低下した脳機能の改善
- 老化に伴う脳機能の低下の予防

BDNF遺伝子発現制御の更なる機構解明を目指して

- BDNF遺伝子発現を制御する分子基盤の解明
(新たな創薬ターゲットの同定へ)

基礎研究を通じて人類の脳と心を守る取り組みに挑戦!