

生物発光を利用した BDNF 遺伝子発現変化の計測 および創薬研究への応用

高崎健康福祉大学 薬学部 薬学科 分子神経科学研究室

福地 守

超高齢社会に突入した我が国において、認知症に代表される加齢に伴う脳神経疾患の患者数の増加が問題視されている。認知症による高次脳機能の低下・破綻は、患者本人の生活の質を著しく低下させるだけでなく、家族などの生活にも多大な影響を与える。さらに、近年の報告では、認知症の社会的費用は医療費・介護費・インフォーマルケアコストを含めると年間約 14.5 兆円に上る可能性が指摘されている。また、近年の管理社会・競争社会の中で生きる現代人は多くのストレスを抱えており、うつ病などの精神疾患による受診者も増加している。このような背景を踏まえ、厚生労働省は 2011 年、地域医療の基本方針となる医療計画に盛り込むべき疾病として指定してきたがん・脳卒中・急性心筋梗塞・糖尿病の 4 大疾病に、新たに精神疾患を加えて「5 大疾病」とする方針を決定した。したがって、我が国において精神疾患への対応や有効な治療戦略の構築は、急務であると言える。

脳由来神経栄養因子 (BDNF; Brain-Derived Neurotrophic Factor) は、1982 年に Barde らによってブタの脳より単離・同定された神経栄養因子の 1 つである。BDNF は、神経細胞の生存や分化、シナプス機能の調節、さらには記憶学習の分子基盤であるシナプス可塑性など、多彩な脳・神経系の高次機能発現に根幹的に重要な因子である。また、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患、うつ病や統合失調症などの精神疾患において、脳内 BDNF 発現量の低下が認められる。したがって、BDNF は脳・神経系の高次機能発現に重要であり、そのため、脳内 BDNF 発現量の低下は様々な脳・神経系の疾患と密接に関係することが示唆される。以上のことから、脳・神経系における BDNF 発現の制御系を理解することは、高次脳機能発現の分子機構の解明、脳・神経系疾患の発症の理解や治療戦略の構築に結びつくことが期待される。

これまで我々は、特に神経細胞における BDNF 遺伝子発現の制御機構の解明を進めてきた¹。この研究の過程で、ホタルの発光酵素であるルシフェラーゼを利用して BDNF 遺伝子発現を計測・可視化可能なトランスジェニックマウス「BDNF-Luc マウス」を作出した。この BDNF-Luc マウス由来の培養神経細胞および生体マウスを用いて、発光イメージングを行うことにより生細胞さらには生体マウスで発光を検出することに成功した^{2,3}。しかし、BDNF は海馬などの脳組織において高く発現しているため、生体 BDNF-Luc マウスを用いて発光イメージングを行った場合には、脳組織からの発光が強く検出されることが予想されたが、実際には脳組織由来と思われる発光を検出することは困難であった。この原因の 1 つとして、発光の組織透過性の問題が考

えられた。ホタルルシフェラーゼの基質である D-ルシフェリンを用いた場合に得られる発光の波長は約 560 nm であり、生体組織中のヘモグロビンなどに吸収されやすく、特に深部組織由来の発光を検出することが困難となる。そこで我々は、近年開発された波長約 680 nm の近赤外領域の発光が得られる新規ルシフェラーゼ基質である AkaLumine の水溶性を向上させた塩酸塩「TokeOni」を用いて、生体 BDNF-Luc マウスの脳組織由来の発光が検出されるか検討した。その結果、TokeOni を用いて発光イメージングを行った場合、脳組織と思われる領域由来の発光を検出することに成功した。また、TokeOni を用いた場合、マウスの頭部の皮膚の有無によらず脳組織由来の発光が検出可能であり、非侵襲的に生体マウスで BDNF 遺伝子発現変化を可視化可能であることが示された。この方法を利用して、神経活動依存的な BDNF 遺伝子発現の誘導を生体マウスで可視化することに成功した。将来的には、本手法を用いることで、記憶学習の形成・維持・消去時の脳内 BDNF 遺伝子発現の変化や脳・神経系の疾患の発症・重症化と脳内 BDNF 遺伝子発現変化との関連性を直接的に解析可能であることが期待される。

また我々は、BDNF-Luc マウス由来の培養神経細胞を用いて、神経細胞において BDNF 遺伝子発現を活性化する薬剤を簡便に探索可能なスクリーニング系を開発した⁴。この方法は、化合物さらには植物などからの抽出物の BDNF 遺伝子発現誘導能の有無を評価することが可能である。本講演では、このスクリーニング系についても紹介したい。また、神経細胞において BDNF 遺伝子発現を誘導するある食材の抽出物の記憶学習に与える影響についても簡単に紹介したい。脳内 BDNF 量は、加齢に伴い減少すること、また脳内 BDNF 発現量が高いほど加齢に伴う認知機能の低下が緩やかであることが報告されている。さらに、BDNF 量の低下はアルツハイマー病の患者で認められるだけでなく、認知症の前段階である軽度認知障害からアルツハイマー病への進行とも関連することが指摘されている。したがって、本スクリーニング法によって得られた活性物質は、脳内 BDNF 発現量を高め、加齢に伴う認知機能低下の防止やアルツハイマー病の発症や進行の抑制に役立つことが期待される。また、先述した発光イメージングを組み合わせることで、活性物質投与後の脳内 BDNF 遺伝子発現変化と記憶学習能の変化の相関を解析することが可能であり、抗認知症薬スクリーニングの新たな戦略になりうることが期待される。

(参考文献)

1. Fukuchi M, Tsuda M. *Front Biosci (Landmark Ed.)*, 22, 1052-1072 (2017).
2. Fukuchi M, *et al.* *J Neurosci*, 35, 5606-5624 (2015).
3. Fukuchi M, *et al.* *Sci Rep*, 7, 4949 (2017).
4. Fukuchi M, *et al.* *Sci Rep*, 9, 11833 (2019).

【 学歴 】

2001 年 3 月 富山医科薬科大学薬学部薬学科 卒業
2003 年 3 月 富山医科薬科大学大学院薬学研究科博士前期課程 修了
2006 年 3 月 富山医科薬科大学大学院薬学研究科博士後期課程 修了
博士（薬学）

【 職歴 】

2006 年 4 月 富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）助手
2007 年 4 月 富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）助教
2017 年 4 月 高崎健康福祉大学薬学部薬学科 准教授

【所属学会】

Society for Neuroscience（北米神経科学学会）
日本神経科学学会
日本神経化学会
日本薬学会
日本生化学会
日本分子生物学会

【 受賞歴 】

2015 年 5 月 第 19 回日本生化学会北陸支部奨励賞
2016 年 11 月 平成 28 年度日本薬学会北陸支部学術奨励賞