

令和 2 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	アルギニンメチル化に着目した神経軸索髄鞘化の新規分子メカニズムの解明	
研究者所属・氏名	研究代表者：東洋医学研究所 石野雄吾 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

脳内の神経回路網を構成する要素の一つであるオリゴデンドロサイト(OL)は、神経軸索に髄鞘を形成することで、神経細胞間的高速で精緻なコミュニケーションを可能としている。これまで OL の髄鞘形成に関与する分子メカニズムは精力的に解析され、重要な知見も蓄積されてきた。しかしながら、依然として不明な点が多く、特にタンパク質の翻訳後修飾が関与する分子メカニズムについて未解明な点が多いと考えた。本研究ではタンパク質翻訳後修飾の一つであるアルギニンのメチル化に着目し、OL の髄鞘形成にどのような影響を与えるか新規の分子メカニズムを解明することを目的とした。

2. 研究経過及び成果

オリゴデンドロサイトの分化・成熟に関してタンパク質のメチル化修飾の影響を調べるために、培養下においてオリゴデンドロサイト前駆細胞を用いて解析を行った。

まず発達期のマウス脳からオリゴデンドロサイト前駆細胞を回収し、増殖条件下で 2 日間、分化条件下においては 5 日間アルギニンメチル化酵素阻害剤で処理した。すると、増殖マーカーや分化マーカーを発現する細胞が対照群に比べて阻害剤処理によって有意に減少することが観察された。より詳細に分子レベルの解析をするために、細胞の分化開始から 24 時間または 72 時間で RNA を抽出し、定量的 PCR を行ったところ、特にオリゴデンドロサイトの分化に関連のある Sox10, Cnp, Myrf といった遺伝子の発現が減少していることが確かめられた。

オリゴデンドロサイトの単独培養によってアルギニンメチル化が細胞の増殖や分化に重要な役割を担っていることが確かめられたので、これが神経細胞軸索の髄鞘化にまで影響を及ぼすか観察することにした。神経細胞としてはマウス胎生期の後根神経節の神経細胞を用いた。まず、神経細胞単独で培養することで軸索を十分に伸長させた。そこに、発達期のマウス脳から回収したオリゴデンドロサイト前駆細胞を共培養し、2 日間の増殖期間を経た後、オリゴデンドロサイトの分化を誘導した。分化開始と同時にアルギニンメチル化酵素阻害剤で処理することで、髄鞘化にどのような影響を及ぼすか検討した。2 週間の共培養期間の後に、髄鞘化の様子を観察したところ、対照群では多数のオリゴデンドロサイトが神経軸索を髄鞘化している様子が確認できたが、阻害剤添加群では、オリゴデンドロサイトが断片化し十分には髄鞘化されていないことがわかった。また、髄鞘化時に神経軸索とオリゴデンドロサイト間に集積するタンパク質の局在を細胞染色によって調べたところ、対照群と比べて阻害剤添加群では著しくタンパク質の局在性が低下していることが確かめられた。以上のことから、オリゴデンドロサイトにおけるタンパク質のアルギニンメチル化が神経軸索の髄鞘化に重要な役割を担っていることが明らかになった。

さらに、今後の研究に向けて、より詳細に分子メカニズムを解析することを目的にして、オリゴデンドロサイトにおいてアルギニンメチル化されるタンパク質の同定を行った。これまでに報告されているオリゴデンドロサイトの分化に関連する遺伝子、特に転写因子について、アルギニンのメチル化修飾をウエスタンブロット法によって解析したところ、実際にアルギニンがメチル化されているタンパク質を複数同定することができた。これらの遺伝子についてより詳細な解析を行うことで、アルギニンメチル化がどのようなメカニズムでオリゴデンドロサイトの髄鞘化を制御するかの新たな知見を与えることができると期待される。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究課題での解析は *in vitro* の培養系が中心となった。今後は、今回得られた結果がマウスなどのモデル生物において実際に体内でも同様なことが起こることを確かめる。特に発生・発達期の正常な髄鞘形成過程におけるアルギニンメチル化の重要性を検討するとともに、実験的に脱髄を起こした状態から再髄鞘化する過程においてもアルギニンメチル化がどのように関与するのか検討する。加えて、今回同定されたアルギニンメチル化修飾を受けるタンパク質についてその機能を詳細に解析する。アルギニンのメチル化によって転写因子の機能が制御されることが想定されるので、メチル化の有無でどのような機能変化が起こるかマイクロアレイや次世代シーケンス法を用いた遺伝子発現解析やタンパク質の免疫沈降実験および質量分析を行うことで、オリゴデンドロサイトの髄鞘化にどのような影響を与えるか解析する。

ある種の精神疾患では、メチル基供与体レベルの低下が報告されており、タンパク質メチル化レベルの低下と精神疾患発症との関連性が指摘されている。近年では精神疾患においてオリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現異常が報告されており、オリゴデンドロサイトを起点とした精神疾患との関連性も興味深い。本研究で得られた結果を基にして、タンパク質メチル化異常とオリゴデンドロサイトの機能異常から精神疾患の病態解明へつなげることを目指す。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
神経化学会	ポスター	2020年9月9日
神経化学会	ポスター	2021年9月30日