



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

GADD34 suppresses eIF2 α phosphorylation and improve cognitive function in Alzheimer's disease model mice

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2023-06-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 早川, 実希 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/00101256

氏名（本籍）	早川実希	（愛知県）
学位の種類	博士	（再生医科学）
学位授与番号	甲第1245号	
学位授与日付	令和5年5月24日	
学位授与要件	学位規則第4条第1項該当	
学位論文題目	GADD34 suppresses eIF2 α phosphorylation and improve cognitive function in Alzheimer's disease model mice	
審査委員	（主査）教授	下畑 享良
	（副査）教授	塩入 俊樹 教授 長岡 仁

論文内容の要旨

【背景と目的】

アルツハイマー病（Alzheimer's disease, AD）は、認知症の7割を占める疾患である。進行性に神経変性が起こり、認知障害や記憶障害を引き起こす。高齢化社会を迎える我が国においては2025年に団塊の世代が全て75歳以上となり、700万人が認知症を発症するとされ、その対策は喫緊の課題である。

これまでにADモデルマウスにおいて、老化に伴い eukaryotic translation initiation factor 2 α (eIF2 α) のリン酸化とそれに引き続く activated transcription factor 4 (ATF4) 発現の上昇をきたすこと、ならびに同マウスにポリフェノールの1種であるケルセチンを摂取させることで、eIF2 α の脱リン酸化を促進する growth arrest and DNA damage-inducible gene 34 (GADD34) が誘導され、eIF2 α -ATF4 シグナルを抑制することを明らかにした。

本研究では、GADD34 の脳における役割を明らかにするために、protein phosphatase 1c (PP1c) に結合し、eIF2 α を脱リン酸化させる部分を切断した GADD34（以下、GADD34.5）を発現するレンチウイルスを作成し、ADモデルマウスの海馬または扁桃体に注入し、局所的に GADD34.5 を発現させた。その後、行動解析にて認知機能への作用を検討した。

【対象と方法】

- GADD34.5 の効果確認：HEK293T 細胞内へ GADD34.5 を遺伝子導入し、ウエスタンブロット（WB）法にて解析を行なった。
- 海馬における物体探索記憶テスト：5-6ヶ月齢のADモデルマウスの海馬へ vector ウイルスまたは GADD34.5 ウイルスを注入し、注入後7-8ヶ月後に新奇物体認識（novel object recognition, NOR）テストと新奇物体位置認識（novel object location, NOL）テストを行った。
- 扁桃体における聴覚恐怖文脈条件付けテスト：5-8ヶ月齢のADモデルマウスの扁桃体へ GADD34.5 を注入し、6ヶ月後に聴覚恐怖文脈条件付けテストを行った。
- GADD34.5 ウイルス注入後のマウス脳内のタンパク質の発現変化：ADモデルマウス脳内へ GADD34.5 ウイルスを注入し、各記憶テストを行った後、注入した部位を採取し、WB法にて eIF2 α , ATF4 の発現を確認した。

【結果】

1. HEK293 細胞内へ GADD34.5 を遺伝子導入したところ、eIF2 α リン酸化および ATF4 発現の減少を認め、全長の GADD34 と同様の機能を確認した。
2. AD モデルマウスの海馬へ GADD34.5 ウイルスを注入したところ、NOR テストにおいては新奇物体探索時間の改善はなかったが、NOL テストにおいて新奇位置物体の探索時間が有意に増加した。
3. AD モデルマウスの扁桃体に GADD34.5 ウイルスを注入し、聴覚恐怖文脈条件付けテストを行ったところ、恐怖学習の指標となるすくみ時間は刺激 1 ヶ月後に control マウスでは刺激 24 時間後と比較して低下したが、GADD34.5 を注入したマウスでは維持されていた。
4. GADD34.5 を注入した AD モデルマウスの脳内の組織を WB 法で確認したところ、海馬・扁桃体のいずれにおいても有意に eIF2a のリン酸化が減少した。

【考察】

統合ストレス応答 (integrated stress response, ISR) が生じると eIF2 α がリン酸化され翻訳の抑制が起こるが、ATF4 など一部の遺伝子の発現は上昇する。低分子の ISR 阻害剤である ISRIB は、eIF2B を活性化し、eIF2 α リン酸化の影響を緩和する。ATF4 の標的遺伝子の一つである GADD34 は、PP1c と結合して eIF2 α -ATF4 経路に負のフィードバックをかける。いずれも ATF4 へ影響を与え、記憶の改善効果が期待される。

物体の位置記憶には海馬の機能が重要であると言われており、AD モデルマウスの海馬へ GADD34.5 を注入することで GADD34.5 が eIF2 α のリン酸化レベルを低下させ、空間記憶は改善したと考えられる。一方、物体の認識には海馬の機能を必要としないため、今回の NOR テストでは探索時間の改善が見られなかったと考えられる。

また、eIF2 α のリン酸化を抑制すると恐怖記憶が増強されることが示されてきた。扁桃体は恐怖の条件付けに重要な役割を担っており、GADD34.5 ウイルスを注入したことにより、eIF2 α のリン酸化レベルが低下し、1 ヶ月後の聴覚恐怖文脈条件付けテストにおいて記憶を保持する傾向が認められたと考えられる。

【結論】

GADD34.5 の発現は脳内の eIF2a の脱リン酸化を促進し、認知機能を改善することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者 早川実希は、アルツハイマー病の記憶に対する GADD34 の効果を検証し、その結果、GADD34 が eIF2 α の脱リン酸化を促進することで、AD における空間認知や文脈的恐怖条件付けの記憶を維持することを示した。本研究の成果は、GADD34 の発現を促進するケルセチンの接種が AD に伴う記憶障害の予防に有効である可能性を示唆するものであり、神経科学の進歩と発展に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

Miki Hayakawa-Ogura, Tana, Toshiyuki Nakagawa, Masanori Itoh: *GADD34* suppresses eIF2 α phosphorylation and improves cognitive function in Alzheimer's disease-model mice.

Biochemical and Biophysical Research Communications 654, 112-119 (2023).

doi:10.1016/j.bbrc.2023.02.077