

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究班 分担研究報告

## Sigma-1 receptor の蓄積は種々の神経変性疾患の核内封入体に共通する

研究分担者 若林孝一（弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座）  
共同研究者 三木康生、森 文秋、今 智矢、丹治邦和  
（弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座）  
豊島靖子、高橋 均（新潟大学脳研究所病理学分野）  
柿田明美（同 生命科学リソース研究センター）  
吉田眞理（愛知医科大学加齢医科学研究所）  
佐々木秀直（北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野）

### 研究要旨

Sigma-1 receptor (SIGMAR1) は小胞体 (ER) 分子シャペロンの一つで、異常蛋白を ER 関連分解に運ぶことに関わっている。近年、SIGMAR1 の遺伝子変異が frontotemporal lobar degeneration-motor neuron disease の発症に関与することが報告された。今回、種々の神経変性疾患における SIGMAR1 の局在と機能について検討した。SIGMAR1 の蓄積は種々の神経変性疾患における核内封入体に共通してみられ、SIGMAR1 は核と細胞質間を行き来している可能性が示唆された。SIGMAR1 は ER 関連分解を介して核内異常蛋白の分解に関与している可能性がある。

### A. 研究目的

SIGMAR1 は ER 分子シャペロンの一つで、新生された蛋白の折り畳みだけでなく、異常蛋白を ER 関連分解へ運ぶことにも関与している。最近、SIGMAR1 の遺伝子変異が frontotemporal lobar degeneration-motor neuron disease の発症に関与することが報告された。しかし、神経変性疾患に出現する封入体における SIGMAR1 の関わりは明らかではない。そこで、種々の神経変性疾患における SIGMAR1 の局在と機能について検討した。

### B. 研究方法

免疫組織化学的検討には、TDP-43 proteinopathy (孤発性 ALS、FTLD-TDP)、タウオパチー (Alzheimer 病、Pick 病、PSP、CBD、嗜銀顆粒性認知症、海馬硬化)、シヌクレイノパチー (Parkinson 病、Lewy 小体型認知症、多系統萎縮症)、ポリグルタミン病 (Huntington 病、DRPLA、SCA1-3)、核内封入体病、正常対照の剖検脳組織を用いた。培養細胞 (HeLa cell) に exportin 1 (核から細胞質への移行に関与) 阻害剤である leptomycin B と ER ストレッサーの thapsigargin を投与し、SIGMAR1 の局在を蛍光染色で、蛋白量をウェスタンブ

ロットで解析した。

### **(倫理面への配慮)**

本研究で使用した剖検脳組織は研究に用いることに関し文書により家族の同意が得られたものである。また、他施設からの脳組織は、書類による審査を経て譲渡されたものであり、倫理上問題はない。

## **C. 研究結果**

免疫組織化学的に正常対照では神経細胞の胞体が淡く SIGMAR1 陽性を呈した。神経変性疾患ではポリグルタミン病と核内封入体病の核内封入体が SIGMAR1 陽性であった。さらに、TDP-43 陽性核内封入体 (SCA2 と海馬硬化) 黒質のメラニン含有神経細胞の核内に認められるマリネスコ小体も SIGMAR1 陽性であった。その他の疾患に出現する封入体は SIGMAR1 陰性。培養細胞では、無処理群で細胞質に微細顆粒状の SIGMAR1 陽性構造物を認めた。Leptomycin B 投与により SIGMAR1 は核内に移行し、p62 と共局在した。Thapsigargin 投与でも SIGMAR1 は核内に移行した。ウェスタンブロット解析では、leptomycin B および thapsigargin 投与ともに核内の SIGMAR1 量は同程度に増加した。ER ストレスマーカーである Bip は thapsigargin 投与群に比べ leptomycin B 投与群で発現量が少なかった。

## **D. 考察**

SIGMAR1 の免疫原性は神経変性疾患に認められる核内封入体に共通して認められた。また、核から細胞質への移行を抑制することにより SIGMAR1 が核内に蓄積すること、ER ストレスによって核内に

SIGMAR1 が蓄積することが示された。これより、SIGMAR1 は細胞質と核を行き来しており、ER 関連分解を介して核内異常蛋白の分解に関与している可能性がある。

## **E. 結論**

SIGMAR1 は細胞質と核の間を移動し、ER 関連分解を介して神経変性疾患に認められる核内封入体の分解に関与している可能性がある。

## **F. 健康危険情報**

該当なし。

## **G. 研究発表**

### **1. 論文発表**

- 1) Wakabayashi K, Tanji K, Odagiri S, Miki Y, Mori F, Takahashi H: The Lewy body in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. *Mol Neurobiol* 2013; 47: 495-508
- 2) Odagiri S, Tanji K, Mori F, Miki Y, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K: Brain expression level and activity of HDAC6 protein in neurodegenerative dementia. *Biochem Biophys Res Comm* 2013; 430: 394-399
- 3) Tanji K, Maruyama A, Odagiri S, Mori F, Itoh K, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K: Keap1 is localized in neuronal and glial cytoplasmic inclusions in various neurodegenerative diseases. *J Neuropathol Exp Neurol* 2013; 72:

18-28

- 4) Sasaki H, Matsushima M, Hama Y, Nakamura M, Sakushima K, Yabe I, Oba K, Tanji K, Mori F, Wakabayashi K, Kakita A, Takahashi H, Utsumi J: Plasma matrix metalloproteinase-3 correlates with the clinical severity in men with multiple system atrophy. *Neurol Clin Neurosci* 2013; 1(2): 69-77
- 5) Mori F, Tanji K, Toyoshima Y, Sasaki H, Yoshida M, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K: Valosin-containing protein immunoreactivity in tauopathies, synucleinopathies, polyglutamine diseases and intranuclear inclusion body disease. *Neuropathology* 2013; 33: 637-644
- 6) Kon T, Mori F, Tanji K, Miki Y, Wakabayashi K: An autopsy case of preclinical multiple system atrophy (MSA-C). *Neuropathology* 2013; 33: 667-672
- 7) Kon T, Mori F, Tanji K, Miki Y, Toyoshima Y, Yoshida M, Sasaki H, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K: ALS-associated protein FIG4 is localized in Pick and Lewy bodies, and also neuronal nuclear inclusions, in polyglutamine and intranuclear inclusion body diseases. *Neuropathology* 2014; 34: 19-26
- 8) Mori F, Toyoshima Y, Tanji K, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K: FUS co-localizes with polyglutamine, but not with TDP-43 in neuronal intranuclear inclusions in spinocerebellar ataxia type 2. *Neuropathol Appl Neurobiol*, in press
- 9) Mori F, Watanabe Y, Miki Y, Tanji K, Odagiri S, Eto K, Wakabayashi K: Ubiquitin-negative, eosinophilic neuronal cytoplasmic inclusions associated with stress granules and autophagy: an immunohistochemical investigation of two cases. *Neuropathology*, in press
- 10) Miki Y, Mori F, Kon T, Tanji K, Toyoshima Y, Yoshida M, Sasaki H, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi H: Accumulation of the sigma-1 receptor is common to neuronal nuclear inclusions in various neurodegenerative diseases. *Neuropathology*, in press

## 2. 学会発表

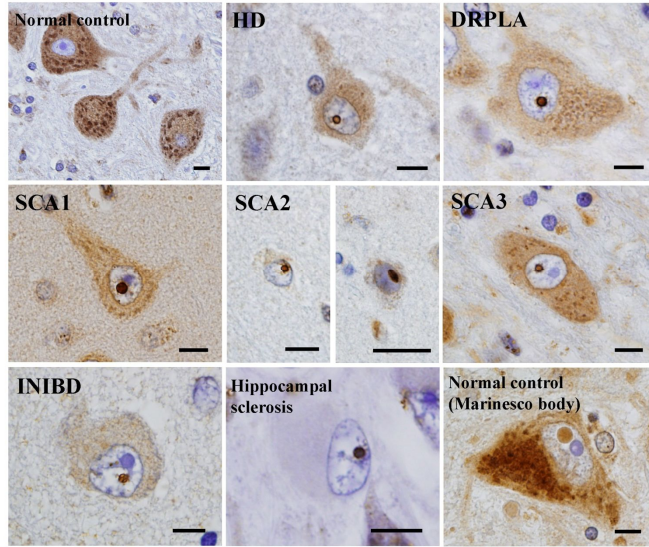
- 1) 丹治邦和, 丸山敦史, 小田桐紗織, 森文秋, 伊東 健, 柿田明美, 高橋 均, 若林孝一: 神経変性疾患脳におけるユビキチンリガーゼ Keap1 の解析. 第53回日本神経病理学会, 2013年4月24-26日, 東京
- 2) 森 文秋, 丹治邦和, 豊島靖子, 佐々木秀直, 吉田眞理, 柿田明美, 高橋 均, 若林孝一: 神経変性疾患における valosin-containing protein の免疫組織化学的検討. 第53回日本神経病理学会, 2013年4月24-26日, 東京
- 3) 丹治邦和, 丸山敦史, 小田桐紗織, 森

文秋,伊東 健,柿田明美,高橋 均,  
若林孝一:アルツハイマー病とシヌク  
レイノパチーにおけるストレス防御  
システム関連タンパク質の検討. 第  
36 回日本神経科学大会, 2013 年 6 月  
20-23 日, 京都市

**H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を  
含む。)**

該当なし。

Sigma-1 receptorの蓄積は種々の神経変性疾患の核内封入体に共通する



Sigma-1 receptor 免疫染色