

## ○令和5年度奨励研究

「軸索変性疾患におけるニューロフィラメントの  
量的変化とその影響について」

人間科学センター 教授 内田 敦子

## 1. 研究目的

ニューロフィラメントは軸索突起の骨組みを支える主要なフィラメント上の蛋白質であり、その量の増加に伴い軸索直径が増大することが示唆されている。また筋萎縮性側索硬化症（ALS）に代表される軸索変性疾患では軸索近位部と遠位部での存在量が著しく異なっているが、観察される蛋白質の分布異常と病態との関連性、並びにその相関性を生み出す原因について言及した報告はみとめられないなど、分布異常をもたらす現象については、不明な点が多い。そこで本研究では、ニューロフィラメント量の分布の変化が軸索、並びに神経組織に与える影響を明らかにし、その生理学的意味を明らかにすることを目的とする。この意義が明らかになれば、軸索変性疾患の病態解明の糸口が得られるのではないかと考えている。

## 2. 研究方法

本研究では、①ニューロフィラメントの量的変化が、細胞レベルでの軸索形態に及ぼす影響を明らかにし、②ニューロフィラメント(NF)の有無が神経組織の強度に与える影響を測定するために、ニューロフィラメントを欠損したモデル動物を確立し、そのモデル動物とニューロフィラメントをもつコントロール動物から、取り出した神経組織、並びに神経細胞を用いて、それぞれの強度、並びに形態学的差、分子レベルでの違いを比較した。さらに固定保存してあったモデルマウスから取り出した神経組織を用いて、形態学的違いを明らかにした。

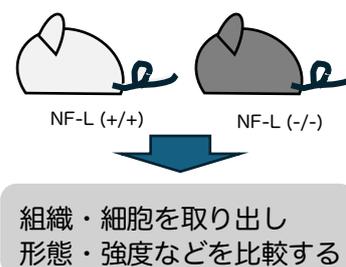


図1 実験方法

また、すでに作成済みのニューロフィラメント欠損マウスの凍結精子から、人工授精により動物復活に取り組み、それと並行して、動作解析などの観察に優れた、モデルラット作成の準備を進めている。

## 3. 研究結果

固定し保存してあったニューロフィラメント欠損マウスと、コントロール群から取り出した坐骨神経の直径を比較したところ、ニューロフィラメント欠損マウスでは、軸索直径が明らかに小さいことが示された。また以前測定したモデル動物の尾で測定し神経伝導速度も、軸索直径の大きなコントロール動物の方が大きかった。

これらの結果をもとに、より行動実験を行いやすい、モデルラット作成のための準備（動物作成に必要なベクター調整など）を開始し、さらなる解析を検討しているところである。

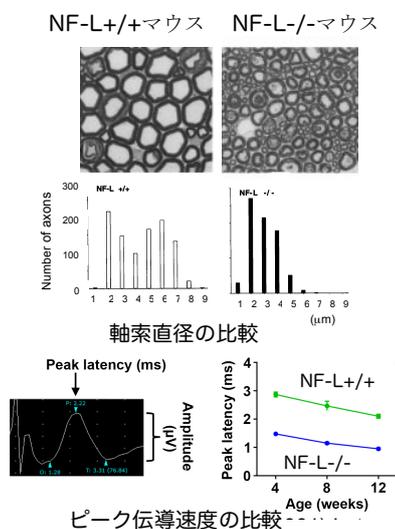


図2 ニューロフィラメント欠損が神経組織に与える影響

#### 4. 考察（結論）

ニューロフィラメント欠損動物では、神経軸索直径が減少し、それにもない神経伝導速度も低下していることが明らかになった。老化や多くの軸索変性疾患では、末梢側でニューロフィラメントが減少していること、またその原因はニューロフィラメント蛋白が末梢側に運ばれる時の輸送速度が低下していることが、研究代表者の先行研究で明らかになっていることから、この動物の組織を用いて軸索へのメカニカルストレスに対する耐性強度を比較すれば、ニューロフィラメントの量的変化が、軸索の強度、脆弱性などにも影響を与えることを示すことができるのではないかと考えている。このことが明らかになれば、糖尿病などで認められる末梢神経障害にも、ニューロフィラメントが関与している可能性を示唆することができるだろう。今後、継続してこの研究を進めていくことで、軸索変性疾患と、細胞骨格ニューロフィラメントの因果関係を明らかにすることができるのではないかと考えている。

一方、臨床現場において、血漿中のニューロフィラメント蛋白量の増加が、軸索変性疾患のバイオマーカーとして使用されるようになってきているが、これらの蛋白質がどのような課程を経て血漿中に流入するかについてはわかっていない。バイオマーカーとして使用されているニューロフィラメントの神経細胞内、軸索内での動態、血漿中に存在する意義を明らかにすることで、バイオマーカーとしての信憑性を確立することもできるようになると考えている。

#### 5. 成果の発表（学会・論文等、予定を含む）

- ・ MBoC Research Highlights from special issue on Cell Biology and Nervous System “invitation speaker”  
(May 22, 2024)
- ・ Stone EJ, Uchida A and Brown A (Stone EJ & Uchida A :contributed equally)  
The Effect of Charcot-Marie-Tooth Disease Mutations in Neurofilament Light on Neurofilaments（登校準備中）
- ・ Uchida A, Peng L, Brown A  
Regulation of neurofilament length and transport by a dynamic cycle of phosphor-  
Dependent polymer severing and annealing  
Molecular Biology of the cell (2023) Vol 34(7) doi: 10.1091/mbc.E23-01-0024

#### 6. 参考文献

Charcot-Marie-Tooth Disease Type 2E/1F Mutant Neurofilament proteins assemble into Neurofilaments.

Stone EJ, **Uchida A** and Brown A

Cytoskeleton (Hoboken) (2019) Jul;76(7-8):423-439. (doi: 10.1002/cm.21566)

\*Stone EJ. and A.U. contributed equally to this work.

Local Acceleration of Neurofilament Transport at Nodes of Ranvier.

Walker CL\*, **Uchida A**\*, Li Y, Trivedi N, Fenn JD, Monsma PC, Lariviere RC, Julien

JP, Jung P, Brown A

J Neuroscience (2019) Jan23;39(4):663-677

(doi:10.1523/JNEUROSCI.2272-18.2018.)

\*C.L.W. and A.U. contributed equally to this work.

Live-Cell imaging of neurofilament transport in cultured neurons.

**Uchida A**, Monsma PC, Fenn D and Brown A

Methods Cell Biol. (2016) 131:21-90. (doi: 10.1016/bs.mcb.2015.07.001.)

Dynamic regulation of neurofilament length by a cycle of severing and end-to-end annealing.

**Uchida A**, Çolakoğlu G, Wang L, Monsma PC and Brown A

Proc Natl Acad Sci USA (2013) 110(29):E2696-705. (doi:10.1073/pnas.1221835110)

Neurofilaments in aged animals.

Hisanaga S, Sasaki T, **Uchida A**

Cytoskeleton of the Nervous System (2011) 3:325-345.

Morphological and biochemical changes of neurofilaments in aged rat sciatic nerve axons.

**Uchida A**\*, Tashiro T, Komiya Y, Yorifuji H, Kishimoto T, Hisanaga S

J Neurochem (2004) 88(3):735-45.

\*Corresponding author (doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.02201.x.)