

## 脳・神経の老化：遺伝子発現の精度と統括因子からみる老化脳制御

森 望†

**Brain and Neuronal Aging: Aged Brain Controls *via* Gene Expression Fidelity and Master Regulatory Factors**

Nozomu Mori†

*Department of Anatomy and Neurobiology, Nagasaki University School of Medicine; 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan.*

(Received August 2, 2019)

Providing plausible strategies for brain aging protection should be a critical concern for countries with large elderly populations including Japan. Age-related cognitive impairments and movement disorders, such as Alzheimer's and Parkinson's diseases, are caused by neurodegeneration that primarily initiates in the hippocampus and the midbrain substantia nigra, respectively. Neurons are postmitotic, and therefore, the accuracy of cellular metabolism should be crucial for maintaining neural functions throughout their life. Thus accuracy of protein synthesis is a critical concern in discussing mechanisms of aging. The essence of the so-called "error catastrophe theory" of aging was on the fidelity of ribosomal translation and/or aminoacylation of tRNA. There is evidence that reduced protein synthesis accuracy results in neurodegeneration. Similarly, reduced proteostasis *via* autophagy and proteasomes in aging is crucial for protein quality control and well documented as a risk for aging. In both neurodegeneration and protein quality controls, various proteins are involved in their regulation, but recent evidence suggests that repressor element-1 silencing transcription factor (REST) could be a master regulatory protein that is crucial for orchestrating the neural protecting events in human brain aging. REST is induced in the aged brain, and protects neurons against oxidative stress and protein toxicity. Interestingly, REST is identical with neuron-restrictive silencer factor (NRSF), the master regulator of neural development. Thus NRSF/REST play important roles in both neurogenesis and neurodegeneration. In this review, I summarize the interesting scientific crossover, and discuss the potential use of NRSF/REST as a pharmaceutical target for controlling aging, particularly in relation to brain aging.

**Key words**—aging; brain; gene expression; neurodegeneration; ribosome; translational fidelity

## 1. はじめに

老化は病気ではなく、生物にとってごく自然におこる生理的な現象である。したがって、通常の方からすれば老化そのものは薬学の研究対象にならないのかもしれない。しかし、昨今の超高齢化社会において様々な老年性疾患への関心は高い。中でもアルツハイマー病を始めとする神経変性疾患を制御することは、欧米の先進国や日本だけでなく、巨大人口を抱える中国やインドなどのアジアの諸大国においても今後非常に重要な問題となることは歴然と

している。高齢者の認知症の問題は一個人の病気というだけでなく、それを介護する人たちをも含めた問題となるため、社会における医療経済の視点からも重要視される。アルツハイマー病は老年期の「進行性」の神経変性疾患であって、後戻りすることはできない。それだけに早期発見と早めの介入が肝要である。そうであるならば、まだ病気ではない、いわば「未病」のような老化の段階からの制御を考えるべきであろう。<sup>1)</sup> 老化を制御する、そのためには老化のメカニズムを知り、その根源的なところを押さえることがとても重要になる。<sup>2,3)</sup>

生体組織を構成する細胞の中ではたらく遺伝子やタンパク質、それは数限りないのだが、その中でも制御系の中核になるような遺伝子、いわゆるマスター遺伝子を特定して、それを制御することが期待されよう。<sup>4)</sup> そして、可能であれば低分子性の

長崎大学医学部神経形態学（解剖学第一）（〒852-8523 長崎市坂本 1-12-4）

現所属：\*福岡国際医療福祉大学医療学部（〒814-0001 福岡市早良区百道浜 3-6-40）

e-mail: morinosm@takagigakuen.ac.jp

本総説は、日本薬学会第139年会シンポジウムS17で発表した内容を中心に記述したものである。

化合物を見い出して、それを老化制御の糧とした。それを「くすり」とは呼ばないにせよ、老化制御を実質的に可能とする化合物探索を視野にいれば、それは明らかに薬学の対象分野となるだろう。

本稿では、ほぼ40年前に薬学部の一学生として始めた研究からの遍歴の節々をつなげながら、老化制御、とくに老化脳の制御を考える上での中核となる分子について考察し、老化脳研究の今後を展望する。

## 2. エラーカタストロフ：タンパク質合成の精度問題

人間の仕事と同じで、生体内における化学反応はすべて百パーセント完璧とはいかない。分子にゆらぎがあるように細胞内の化学反応を司る酵素群にもやはりゆらぎがある。1960年代に英国のOrgelは老化を普遍的に説明する仮説としてエラーカタストロフ説を提唱した。<sup>5,6)</sup> 遺伝子発現系の中心となるDNAポリメラーゼであれRNAポリメラーゼでも、その合成の反応の精度は百パーセント完璧ではない。このような発現装置に生じたエラーは増幅されて、エラーの蓄積が進み、いずれ破局に陥るであろう。それは核酸のレベルでもまたタンパク質合成のレベルでも起こり得る。この「エラーカタストロフ説」は前世紀の60年代から70年代にかけて多くの議論がなされていた。しかし、その実験的検証がないことに気づいて、薬学の一学徒として初めて老若動物（マウス）でのリボソームの翻訳精度を比較した。結果は、リボソームの翻訳精度は老若動物で変わらない。実験精度の範囲内で有意な変化は見い出せなかった。<sup>7,8)</sup> ということ、Orgelの説を否定して、老化の分子機構としては妥当ではない、と結論した。その後の他の報告も大方この結論を支持している。<sup>9-12)</sup>

## 3. タンパク質の合成と分解における品質管理：リボソームとオートファジー

しかし、最近の研究動向から改めて考え直すと、老化制御を考える上でタンパク質の品質管理、クオリティーコントロールは重要な研究分野になっている。<sup>13,14)</sup> タンパク質は合成をするためにエネルギーを必要とするが、実は分解にもエネルギーを必要とする。いわゆるユビキチン・プロテアソーム系 (ubiquitin proteasome system; UPS) のことだが、そのような基質選択的な分解系だけでなくより大がかりな分解系であるオートファジーも老化制御の視

点からとても重要な分野となっている。<sup>15-19)</sup> 最近ではタンパク質の品質管理というとこれらの分解系のことばかりが話題になるが、リボソーム上でのタンパク質合成のレベルでも分解のレベルでもともに品質管理は行われているということを再確認すべきであろう (Fig. 1)。タンパク質の一生として考えれば、リボソーム上での精度問題は生まれたときの、あるいは幼若期の管理であり、UPSやオートファジーは壮年期や老年期での品質管理に相当する。近年、オートファジー機能の老化への重要性が認識されている状況からすると、どうも合成時の精度は老化で低下しないが、分解時の精度が悪くなっている。それはとりもなおさず、分解系の装置そのものが既に老いているからである。老化の影響を色濃く受けるのはリボソーム系ではなくオートファジー系であるというのはごく理にかなったことと思われる。

では、この2つのシステムの寿命への寄与についてはどうだろうか？ 最近面白いことに、このリボソーム上でのタンパク質合成の精度のよしあしが生物の寿命と相関することがわかってきている。例えば、通常のマウスやラットの寿命については多少の系統差があるとはいえだいたい3-4年である。それに対してハダカデバネズミ (Naked mole-rat) は30年ほどの寿命を持つ。このハダカデバネズミとマウスの細胞でタンパク質合成精度を比較すると長命のハダカデバネズミのほうがはるかに高い翻訳精度だった。<sup>20)</sup> さらに、ハムスターやモルモット、リスやビーバーなど、他の十数種類のげっ歯類で比較してみると、やはり寿命が長い動物ほど翻訳精度が高いという結論に達している。<sup>21)</sup> 生物毎のオートファジー効率と生物寿命との関係については知られていないが、タンパク質の品質管理に係わる装置そのもののクオリティーが、片や老化にまた他方は寿命に相関するというのは興味深い。

老化制御にからんでもう1つ重要なことがある。



森 望

長崎大学名誉教授、福岡国際医療福祉大学教授、1976年東京大学薬学部卒、東邦大学薬学部助手ののち1984年に渡米、1990年南カリフォルニア大学助教授からJSTさきがけ研究者、国立長寿医療研究センター部長、長崎大学医学部（第一解剖）教授等を歴任、2019年より現職。研究テーマは「脳の老化と寿命制御」。

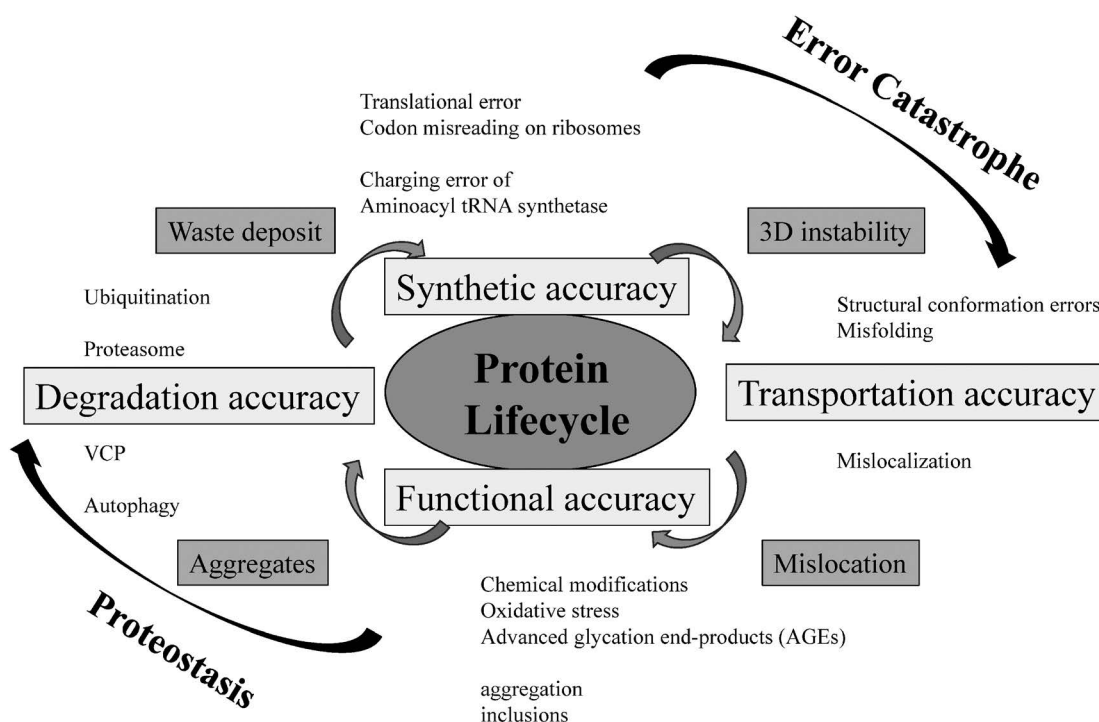


Fig. 1. Quality Control Systems in the Protein Lifecycle

From the early synthetic stage at aminoacylation and/or on ribosomes to the later degradation stage operated by proteasomes and/or autophagy, error-checking quality control processes are continually functioning throughout the protein lifecycle. Error-checking processes are arbitrarily divided into four stages, and various chemical modifications and outcomes are indicated in and around each stage. Alterations of quality and/or accuracy of all the error-checking machineries would affect brain aging and neurodegenerations.

タンパク質合成の精度は老化で変わらないのだが、合成速度は明らかに老化動物で遅くなる。そして、その合成速度を人為的に下げると細胞内のタンパク質の品質管理レベルは上がり寿命は延びる。<sup>22,23)</sup> タンパク質合成の速度を抑えれば、それも長寿へつながるのである。<sup>24)</sup>

#### 4. タンパク質の合成精度と神経変性

タンパク質合成の精度に関してはリボソームのほかにアミノアシル tRNA 合成酵素 (RS) のレベルでの制御も重要である。例えば、アラニンを付与する RS、つまり Ala-RS は低頻度ながら類似のアミノ酸、セリンを取り込んでしまうことがある。通常の RS であれば、そこに「編集」機構が働いてそのエラーを補正している。しかし、この Ala-RS に変異の入ったマウスの sticky ミュータントではその編集が機能せず、生後 3 週齢で重篤な小脳プルキンエ細胞の神経変性を生じ歩行障害 (アタキシア) を引き起こす。Ala-RS の sticky 変異は一アミノ酸置換変異 (A734E) だが、その影響は大きい。興味深いことに、RS の編集を補佐するタンパク質としてアンキリンリピートドメインを含むタンパク質

ANKRD16 の存在が明らかとなっている。この sticky マウスで ANKRD16 遺伝子を欠失すれば脳の広範囲にわたってタンパク質凝集の蓄積をもたらす、神経細胞死をも引き起こす。だが、ANKRD16 を過剰発現しておけば、先の sticky 変異でみられた小脳の神経変性を阻止することができる。<sup>25)</sup>

ANKRD16 のような精度補正タンパク質の存在が明らかになったのはとても貴重だが、実は Ala-RS 以外にも、リボソームあるいはアミノアシル tRNA 合成酵素周辺で機能する分子の変異がタンパク質合成精度の低下をきたし、その結果神経変性や小頭症、あるいはてんかんや認知障害などの様々な神経症状を生じることがわかってきている (Table 1)。

上述のように、近年、オートファジーなどの「分解系によるタンパク質の品質管理」の重要性や老化への関与が強調されているが、以上の事実からすれば「タンパク質合成系レベルでの品質管理」も今なお重要な研究視点となることがよくわかる。<sup>26-29)</sup> その意味では、先に述べた以前の試験管内でのリボソームの翻訳精度は老若動物で変わらないとした結

Table 1. Mutations Associated with Impairment of Translational Fidelity and Neurological Disease

Gene	Protein	Mutations identified	Observed/predicted effect on fidelity	Clinical phenotype
<i>AARS</i>	Cytoplasmic alanyl tRNA synthetase	Compound het: missense/frameshift	Frameshift mutation increased mischarging of tRNA <sup>Ala</sup> with serine	Progressive microcephaly, hypomyelination, and epilepsy
<i>EEF1A2</i>	Eukaryotic elongation factor 1 alpha 2	Multiple <i>de novo</i> missense mutations	One patient mutation increased suppression of frameshift and nonsense mutations	Epilepsy, intellectual disability, Rett-syndrome-like phenotype, and autistic behavior
<i>EEF2</i>	Eukaryotic elongation factor 2	Heterozygous missense	Patient mutation increased-1 frameshifting	Spinocerebellar ataxia 26
<i>DPH1</i>	Diphthamide biosynthesis 1	Homozygous missense	Loss of diphthamide in eEF2 increases-1 frameshifting	Intellectual disability, developmental delay, and brain malformations
<i>RPS23</i>	Ribosomal protein uS12	<i>De novo</i> missense mutations	Patient mutation increased-1 frameshifting, missense suppression, and nonsense suppression	Microcephaly, hearing loss, and dysmorphic features
<i>RPL10</i>	Ribosomal protein uL16	Multiple missense mutations	Unknown	X-linked intellectual disability, microcephaly, and autistic behavior
<i>KAE1</i>	Kinase associated endopeptidase 1	Homozygous missense mutation	Loss of t <sup>6</sup> A modification in tRNA, altered cognate codon occupancy, and increased translation initiation at upstream non-AUG codons	Global developmental delay, microcephaly, and renal problems
<i>PUS3</i>	Pseudouridylate synthase 3	Homozygous nonsense mutation	Loss of Pus3 decreased +1 frameshifting and reduced readthrough of stop codons by natural nonsense suppressor tRNAs	Intellectual disability
<i>ELP1-4</i>	Elongator acetyltransferase complex subunits 1-4	A variety of different mutations including missense and splice site mutations	Loss of Elongator-catalyzed tRNA U <sup>34</sup> modification leads to slower decoding of cognate codons	Familial dysautonomia, intellectual disability, Rolandic epilepsy, amyotrophic lateral sclerosis

Gene mutations in aminoacyl tRNA synthetase, ribosomal proteins, elongation factors, and various modifiers affect translational fidelity, resulting in critical neurological phenotypes. Data taken and modified from Kapur and Ackerman.<sup>28)</sup>

果は、「エラーカタストロフ」検証の一側面でしかなく、翻訳装置周辺で機能する分子を精細に調べてゆけば、Orgelによって提唱された老化のエラーカタストロフ説はかならずしも完全に否定された状況にはないと認識すべきだろう。タンパク質分解レベルでの品質管理も含めて広範に捉えなおせば、細胞レベルでのエラーカタストロフが老化制御に関与しているということになるのかもしれない。

#### 5. Neuron-restrictive silencer factor/repressor element 1 silencing transcription factor (NRSF/REST) : 神経分化と脳老化のマスター遺伝子

さて、脳の老化制御を考える上で最近、とても注目されているタンパク質がある。RESTと呼ばれる転写因子なのだが、5年ほど前、ハーバード大学のYanknerの研究室から出た論文<sup>30)</sup>で次のようなこと

が指摘された。

ヒトの老化の過程で脳内の遺伝子発現の網羅的解析をすると、若齢期と老年期とで大多数の神経特異的な遺伝子群の大幅な発現変動がある。若齢期で出ていたものが老齢期では下がり、逆に老齢期で発現が大幅に上がるものがあった。そのグループ解析をすると、その変動を統括的に制御しているのはRESTという転写因子であることがわかる。これは若齢、あるいは壮年期のヒトの脳では発現が低いのだが、高齢期の脳では発現が高い。そして、これはニューロンを酸化ストレスから守り、またアルツハイマー病で問題となるアミロイドβ (amyloid β; Aβ) の凝集ストレスからも防御する。健常な高齢者の脳ではREST発現が高いのだが、アルツハイマー病を始めとする種々の認知症患者の脳ではその

REST 発現が低くなっている。しかも、興味深いことに REST 発現レベルは認知能力と比例関係にある。すなわち、脳内での REST レベルが高い人ほど認知能力が高い。このような結果から、どうも REST は老化脳を保護する統括的な制御因子であると結論した。

この Yankner 論文に刺激されて、それ以外の周辺知見も含めて、最近多くの総説が出ている。<sup>31-33)</sup> 神経変性疾患へのマスターレギュレーター、ニューロンのストレス応答へのエピジェネティックなレギュレーターなど、話題はつきない。いわば、REST は「老化脳の守護神」とも思えるような状況にある。

実は、この REST という転写因子は、従来、諸々の神経特異的遺伝子の発現調節を統括的に行う転写抑制因子 NRSF とされたものと同一である。

NRSF は交感神経系の細胞で神経の初期発生の時期にニューロンが突起を伸ばす、その段階で機能する SCG10 などの神経特異的遺伝子のプロモーター上流に作用して、それが神経で出るか出ないかを決定する転写因子だった。<sup>34,35)</sup> その発見の端緒は、筆者自身による「神経選択的サイレンサー」の研究にあった。<sup>36-39)</sup> それで、その後、ナトリウムイオンチャネルやシナプシン I など、大多数の神経特異的遺伝子の制御領域に見い出され、NRSF は神経分化のマスターレギュレーターとされた。<sup>40)</sup>

ところが、いま、その NRSF は、REST と呼ばれて老化脳の守護神のように考えられている。REST と NRSF は同一分子なのである。つまり、神経発生のマスター制御因子が老化脳のマスター制御因子でもある。揺りかごから墓場まで、NRSF/REST はニューロンの発生を指揮し、またニューロンの老化を指揮する、そんな包括的な司令塔なのである。

Yankner たちが示したように、ヒトの老化過程で脳内の REST 発現が大きく変動する時期がある。そして高齢期の脳内で発現する REST はニューロンをストレスから保護するように働いている。実は、いま、脳の様々な神経疾患、例えば、アルツハイマー病などの神経変性疾患に限らず、脳虚血やてんかん、社会性ストレスにさらされた動物の脳においても REST の発現が変わることによってそのターゲット遺伝子の発現も変化するなど、成体脳、老化脳の

中でのいろいろな病態においてこの統括因子によるグローバルな遺伝子発現変動があることがわかってきている (Table 2)。興味深いことに、その多くはエピジェネティックなクロマチン変化を誘発しているように思われる。

## 6. 寿命制御遺伝子としての REST/Spr-4

REST は寿命遺伝子としても機能する。REST は DNA 結合ドメインとしていわゆる Zn-フィンガー含有タンパク質なのだが、老化や寿命の研究に多用される線虫 (*C. elegans*) の SPR4 という Zn-フィンガータンパク質と相同性がある。その線虫で、Spr-4 遺伝子変異は短命になる。そこに線虫の SPR4 タンパク質を過剰発現すれば、寿命はもとに戻るのが、大変驚くべきことに、ヒトの REST を過剰発現しても寿命は戻る。<sup>30)</sup> つまり線虫の SPR4 とヒトの REST は補完できる。構造上の類似性があるだけでなく機能的にも相同である可能性が高い。ヒトの REST の遺伝子の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism; SNP) 変異がヒトの寿命と相関するかどうかはまだ知見がないが、少なくともいくつかヒトの REST の SNP 変異が認知能にも大きく係わる側頭葉の大きさに呼応するという指摘もある。<sup>41)</sup> また、REST は他の Zn-フィンガータンパク質 ZNF335 と関連して脳の大きさを規定する働きもあることがわかっている。<sup>42)</sup> このようなことから、REST は脳内での神経幹細胞の増殖制御を通じて脳の大きさを規定し、またストレス応答や神経機能制御によって動物の寿命をも変革し得る、そんな司令塔でもある。

## 7. 認知症及び孤発性アルツハイマー病における REST

高齢者でも健常人では脳内での REST 発現レベルは高いのだが、アルツハイマー病では明らかに低く、軽度認知疾患 (mild cognitive impairment; MCI) でも低い傾向にある。<sup>30)</sup> また、健常人の中での認知能力のテスト結果をみると、エピソード記憶も意味記憶も、またワーキングメモリーもみな REST レベルが高い人ほど記憶スコアが高い傾向にあった。これらのことから、脳内での REST 発現は明らかに認知能力と呼応していると言える。ただし、一方で、REST 発現レベルは人の年齢とも相関する。つまり、高齢になるほど REST のレベルが高い。一般には高齢になるほど認知度は低下していく傾向に

Table 2. REST Gene Expression Changes in Various Neurological Diseases and Conditions

Context	REST	Target gene expression	Source
Alzheimer's Disease	Rest ↓	Bcl2, Sod1, Foxo1 ↓	PFC neuronal nuclei Mouse
Alzheimer's Disease	Rest ↓	N/A	Neuron-derived extracellular vesicles Human
Parkinson's Disease	REST ↓	N/A	Dopaminergic neurons Human
Huntington's Disease	REST ↑	Bdnf ↓	Cerebral cortex Human
Prion Diseases	REST ↑	FOXO1, cytochrome c, Caspase 3 ↑	Primary cortical neurons Rat
Global ischemia	REST ↑	CK ↓	Hippocampal CA1 neurons Rat
Global ischemia	REST ↑	GluR2 ↓	Hippocampal CA1 neurons Rat
Ischemic stroke	REST ↑	Gria2, Grin1, Chrb2, Nefh, Trpv1, Chrm4, Syt6, GluA2, GluN1, GluN2B ↓	Hippocampal CA1 neurons Rat
Hyperthermia-induced epilepsy	REST ↑	Hcn1 ↓	Hippocampal neurons Rat
Kainic acid-induced epilepsy	REST ↑	Calb1, Glra2, Grin2a, Hcn1, Kcnc2, Klf9, Lrp11, Myo5b, Stmn2 ↓	Hippocampus Rat
Chronic social defeat	Rest ↑	GluN2B ↓	Dentate granule cells Mouse
Chronic traumatic stress	Rest ↑	CCR5 ↑	Prefrontal cortex Rat
Augmented maternal care	Rest ↑	Crh ↓	Neuronal Rat
Augmented maternal care	Rest ↑	Crh, vGluT2 ↓	Hypothalamic PVN Rat
Maternal separation	Rest4 ↑	Glur2, Nr1, Chr, CamKII $\alpha$ , L1, Adcy5, 5Htr1a, Kcnc1 ↑ Nav1 ↓	mPFC Rat

Overview of REST expression levels and its downstream transcriptional role in modulating gene expression following different forms of cellular, neuropathological, psychological, and physical stresses in different regions of the human and rodent brain. PFC: pre-frontal cortex; PVN: para-ventricular nucleus. Data taken and modified from Mampay and Sheridan.<sup>33)</sup>

あるので、その解釈が不明瞭だが、人間の高齢期における認知能力と REST との関係は興味深いものがある。

最近、Yankner らは孤発性アルツハイマー患者と健常人の細胞から多分化能のある幹細胞、いわゆる Yamanaka 法による iPS 細胞 (induced pluripotent stem cell; iPSC) を作製して、そこでの遺伝子発現を網羅的に解析した。<sup>43)</sup>このとき、健常人の細胞については、一部はアルツハイマー病のリスク因子といわれる apolipoprotein  $\epsilon$ 4 (APOE4) 遺伝子をも導入して APOE4 のあるなしでの違いについても検討している。その結果、孤発性患者の多くはかならずしも APOE4 が高いヒトばかりではないにもかかわらず、両者とも全体的に類似した遺伝子プロファイルを示したという。そして、健常者との違いについてみるとその違いは REST 機能の低下によって説明ができると結論した。いまのところ家族性のアルツハイマー病患者の家系の遺伝子について REST の遺伝子異常は確認されていないが、孤発性のアルツハイマー病の集団では全般的に REST 発現が通常よりも低く、それは APOE4 の存在でより強化される。老化脳の中で REST 発現が高ければ認知能

力を維持できるが、APOE4 なりあるいはその他の素因によって MCI から孤発性のアルツハイマー病になるとときには、なんらかの理由で REST の発現が低下してしまっている。

この研究について興味深いのは、アルツハイマー病の患者の iPSC はニューロンへの分化が早まっているという事実である。逆にいうと、健常人では iPSC は未分化の状態に保たれているのである。REST の存在はこの多能性の未分化状態を維持するために機能しているように思われる。

これに関連して、最近、ヒトの iPSC (hiPSC) でもマウスの胚性幹細胞 (mouse embryonic stem cell; mESC) でもヌクレオソームのヌクレアーゼ感受性の高い領域、つまりは解放された領域といってもよいが、そこには REST と CCCTC-binding factor (CTCF) の結合サイトが広く確認できるという研究結果がある。<sup>44,45)</sup>CTCF というのは、REST と同様、多くの Zn-フィンガーを含む核内転写因子の一種だが、クロマチン全体の高次構造の区画を決める、つまり発現領域と抑制領域の境界を決める因子、いわゆるインシュレーターの種類である。REST 自身も転写抑制、つまり遺伝子発現を抑える方向で

通常働くもので、CTCF との機能性は全く独立しているのだが、「REST 対 CTCF」、あるいは「CTCF の後に REST」のような機能連関があるのかもしれない。いずれにせよ、幹細胞の幹たる状態 (stemness) の維持とか、アルツハイマー病への移行というような段階でクロマチン全体の構造変換の上位でのレギュレーターとして REST は機能していることは間違いない。

#### 8. パーキンソン病における REST

REST の発現変動は他の加齢依存性の神経変性病や関連する病態モデルについての研究報告も多い。パーキンソン病に関連してはマウスでの 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridine (MPTP) モデルでの結果が興味深い。MPTP は中脳黒質のドーパミンニューロンの変性を助長するが、脳内での REST 発現をなくしたノックアウトマウスでは神経変性がより重篤になる。<sup>46)</sup> DNA 結合性の REST はヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase; HDAC) を介して遺伝子制御効果を発揮することが知られている。そこで、tricostatin A (TSA) で HDAC 阻害すると REST のターゲット遺伝子、ドーパミン産生の律速酵素であるチロシン水酸化酵素 (tyrosine hydroxylase; TH) やニューロンの保護因子である脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor; BDNF) の mRNA の発現を促し、ドーパミンニューロンを保護する。TSA が神経保護に効くのである。ところが、脳での REST の発現を抑えたマウスでは、この TSA による神経保護効果が全くなくなる。すなわち、HDAC 依存性の神経保護には REST は不可欠だった。<sup>47)</sup> REST 欠損マウスでは MPTP 投与後のパーキンソン病に類似した歩行運動などの行動異常もより重篤となる。その過程で、REST 欠損マウスの脳内では一過的に神経再生 (neurogenesis) が誘導されるのだが、それは長続きせずすぐに収束してしまう。<sup>48)</sup> どうも REST は神経再生のネガティブモデュレーターとして機能しているようである。神経幹細胞に対する REST の保護効果などを加味して考えると、REST は神経幹細胞の生存保護因子として働いていると考えられる。パーキンソン病様の病態においても REST はそのようにして神経保護に機能しているものと思われる。

先のアルツハイマー病における Yankner 論文に

刺激されて、実際のヒト脳でのデータも出始めている。順天堂大学の服部教授のグループは、パーキンソン病患者の脳と対照群の高齢者脳とで REST 抗体を用いて中脳黒質のドーパミンニューロンでの REST 発現を注意深く調べた。<sup>49)</sup> その結果わかってきたことは、まず健常な高齢者脳で、中脳黒質のドーパミンニューロンの核に REST の発現が認められる。しかし、パーキンソン病やレビー小体型の認知症 (dementia with Lewy bodies; DLB) の患者の脳では、神経核での REST 発現が減弱している。REST はむしろ細胞質中のレビー小体 (LB) に吸収されてしまっているような結果だった。興味深いことに、この中脳のドーパミンニューロンでオートファジー機能を抑制したマウスで REST 発現をみると、通常のマウスに比べて REST は細胞質性のタンパク質凝集体に蓄積していた。すなわち、老化脳におけるタンパク質凝集体の処理プロセスの中で REST はなんらかの形で機能しているのだろうが、パーキンソン病や DLB では REST は LB にトラップされて本来の細胞核内での遺伝子制御の機能を発揮できないでいるように思われる。

#### 9. ハンチントン舞踏病における REST

ハンチントン舞踏病 (Huntington's disease; HD) における REST の変化についてはイタリアのミラノの Cattaneo のグループの研究によるところが大きい。<sup>50-52)</sup> もう 15 年以上も前になるが、HD で障害される線条体 (ヒトでは尾状核) のニューロンについて特に REST の遺伝子発現とタンパク質の細胞内での局在について検討した。その結果、対照群のニューロンでは REST は HD の原因遺伝子となるハンチンチン (Huntingtin; Htt) に直接結合して細胞質に留まるが、HD の場合は Htt の N 末ドメインにポリグルタミン、いわゆるポリ Q の挿入があって、そのポリ Q 含有の変異型 Htt (polyQ-Htt) は REST への結合能を失い、REST の持つ核移行シグナルによって細胞核へ入って REST 本来の神経遺伝子群の転写抑制へはたらく。Htt は BDNF などの神経特異的遺伝子の発現を誘導することがわかっていたが、それは神経遺伝子の転写抑制因子としてはたらく REST の機能をマスクすることで発揮されることが明らかになった。<sup>50)</sup> HD 脳と対照群の脳とでは神経核内で BDNF 遺伝子以外にも多くの REST ターゲット遺伝子のクロマチン近傍での

REST の存在様式が軒並み変わっていることも判明した。<sup>51)</sup>

REST の発現は尾状核に限らず、大脳新皮質でも海馬でも小脳でも広範囲に認められる。しかもニューロンでもグリアでも REST は発現している。しかし、ニューロンでは通常、細胞質性に、アストロサイトなどのグリアでは核内にある。HD 患者の脳ではニューロンの細胞質での発現は低下傾向にあったが、疾患の程度と REST 発現変化との対応関係はかならずしも明確ではなかった。<sup>52)</sup>

さて、アルツハイマー病やパーキンソン病では REST レベルは下がるのに、HD ではそうではない。どうしてその違いがでるのかは明らかではないのだが、1 つ興味深い点がある。アルツハイマー病やパーキンソン病では興奮性ニューロンが障害されるのだが、HD では抑制性ニューロンが障害される。後者では神経変性の主体は線条体の中型の多突起性ニューロン (medial spiny neuron; MSN) で、これは  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) 性の抑制性ニューロンである。一方、前者では海馬のグルタミン酸作動性、あるいは中脳黒質のドーパミン作動性のいずれも興奮性ニューロンである。線条体の GABA 性 MSN は、発生初期、幼若期のニューロンは興奮性でのちに抑制性に変化する。この発生過程での興奮性から抑制性へのスイッチングにはカリウム-クロライドの共輸送体 (KCC2) の出現がカギとなるのだが、それを誘導するのが REST の脱抑制である。<sup>53)</sup> その脱抑制を可能とするのは神経特異的なスプライシング因子 Ser/Arg repetitive matrix (SRRM) 3 と SRRM4 であることが最近わかっている。<sup>54)</sup> 幼若期の線条体ニューロンにこれがあると REST の神経細胞特異的なスプライシングによって (おそらくは REST4 のような) スプライシングバリエントが発現することで KCC2 が誘導され、GABA ニューロンが興奮性から抑制性にシフトする。このように、REST が幼若期のニューロンで興奮性から抑制性への大きな性質の転換に寄与していることがわかったのだが、一方で老齢期のニューロンではふつうの機能性の状態から変性期に移行するあたりでまた REST による遺伝子発現レパートリーの大きな変革が惹起されている。そのようなことが、上述したように老齢期における神経変性疾患での REST の役割から推察される。

## 10. おわりに

高齢化社会の中で問題となる神経変性疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、HD のいずれにおいても転写因子 REST は非常に重要な制御因子となっていることが明らかとなってきた。このような病気の状態ではなく、ごくふつうの老化の過程においても REST の発現はおおよそ 70 歳代を境にして急激にその役割を変えることもわかってきた。その意味では疾患制御に重要なのではなく、それ以前の老化そのものの制御に係わるものと言える。誌面の都合で細かくは言及できなかったが、REST の変動は老年性の神経変性疾患だけでなく、Table 2 に見たように、虚血、脳卒中、てんかん、社会性ストレスなどの状況においてもおこっている。また、これらの神経疾患以外でも、神経性疼痛においてもこの REST/NRSF の制御があることもわかっている。今後さらに他の事例も明らかになるのだろうが、REST/NRSF が当初知られていたような脳の発生初期ばかりでなく、成体脳や老化脳でも神経保護の方向で根元的な役割を演じていることはまちがいない。

がん研究における p53 や、免疫研究における抑制性 T 細胞のように、老化脳研究においてはこの REST が守護神である。要は、REST が老化神経を保護するのだが、それはニューロンのゲノムの統括的な制御を介して実行されている。ゲノムターゲットは数百種類から千種類に及ぶ。幼若期の神経分化を統括的に制御する NRSF のターゲットはヒトゲノムでもマウスゲノムでもほぼ完全に解明された。老齢期の脳での REST ターゲットの多様性はまだ完全に全貌が明らかになったわけではないが、それはもう時間の問題であろう。

ターゲットの特定に加えて、より重要な問題は高年齢期のニューロンで発現誘導されている REST は全長型なのかバリエーションなのか、そこがまだ追求されていない。REST はスプライシングの違いによって多数のバリエーションを生成する。<sup>55,56)</sup> よく議論にあがるのは C 末を欠落した REST4 バリエーションのだが、それ以外にも C 末側だけを発現している REST-C バリエーションもあることがわかってきている。老化脳で神経保護に働く REST はいったいどのバリエーションなのか？ それを知ることが大事である。その上で、神経特異的なスプライシング因子で



ある Npas4 や Srrm4 などが老化のどの段階で何をきっかけに REST のバリエーション変動を誘発するのか? それを見定めることが重要となろう。

最後に、老化制御の視点からすれば高齢期の脳内での REST 発現を増強したい。そうすれば老化脳の保護が可能となる。REST のターゲットは多岐にわたるため、下流での制御は適切ではない。REST のタンパク質合成促進なり、Rest mRNA の転写誘導なり、合成系の活性化をリードできる薬剤開発が期待される。老化制御の観点からすれば REST の阻害剤は願うべきものではないのだが、最近開発された REST と相互作用する転写補因子の mSin3 との結合サイトの擬似化合物 mS-11 が REST の働きを抑えることで疼痛応答や自閉症様の社会性行動を改善することは大変興味深い。<sup>57,58)</sup> 今後、老化脳での NRSF/REST バリエーションの実態が解明され、その発現を増強するなり、分解を抑制するなり、この老化脳の統括因子の代謝に影響を与える薬剤の開発が期待される。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

#### REFERENCES

- Mori N., *Pre Symptomatic Medicine and Anti Aging*, **18**, 19–23 (2009).
- “Aging Mechanisms: Longevity, Metabolism, and Brain Aging,” ed. by Mori N., Mook-Jung I., Springer, Tokyo, 2015.
- Mori N., “Shin Rounengaku,” 3rd ed., Chap. 2, Sec.1, ed. by Ouchi Y., Akiyama H., Orimo H., University of Tokyo Press, Tokyo, 2009, pp. 113–154.
- “Molecular Medicine,” Vol. 35, No. 5, ed. by Mori N., Nakayama Shoten Co., Ltd. Tokyo, 1998.
- Orgel L. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **49**, 517–521 (1963).
- Orgel L. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **67**, 1476 (1970).
- Mori N., Mizuno D., Goto S., *Mech. Ageing Dev.*, **10**, 379–398 (1979).
- Mori N., Hiruta K., Funatsu Y., Goto S., *Mech. Ageing Dev.*, **22**, 1–10 (1983).
- Menninger J. R., *Mech. Ageing Dev.*, **6**, 131–142 (1977).
- Edelmann P., Gallant J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 3396–3398 (1977).
- Morrow J., Garner C., *Gerontology*, **25**, 136–144 (1979).
- Parker J., Flanagan J., Murphy J., Gallant J., *Mech. Ageing Dev.*, **16**, 127–139 (1981).
- Mizushima N., Levine B., Cuervo A. M., Klionsky D. J., *Nature*, **451**, 1069–1075 (2008).
- Cuervo A. M., *Trends Genet.*, **24**, 604–612 (2008).
- Arias E., Cuervo A. M., *Curr. Opin. Cell Biol.*, **23**, 184–189 (2011).
- Scrive A., Bourdenx M., Pampliega O., Cuervo A. M., *Lancet Neurol.*, **17**, 802–815 (2018).
- Kaushik S., Cuervo A. M., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 365–381 (2018).
- Tanaka K., Matsuda N., *Biochim. Biophys. Acta*, **1843**, 197–204 (2014).
- Tanaka K., *Keio J. Med.*, **62**, 1–12 (2013).
- Azpuruja J., Ke Z., Chen I. X., Zhang Q., Ermolenko D. N., Zhang Z. D., Gorbunova V., Seluanov A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 17350–17355 (2013).
- Ke Z., Mallik P., Johnson A. B., Luna F., Nevo E., Zhang Z. D., Gladyshev V. N., Seluanov A., Gorbunova V., *Aging Cell*, **16**, 988–993 (2017).
- Kaeberlein M., Kennedy B. K., *Aging Cell*, **7**, 777–782 (2008).
- Sen P., Dang W., Donahue G., *et al.*, *Genes Dev.*, **29**, 1362–1376 (2015).
- McCarty M. F., *Med. Hypotheses.*, **63**, 334–339 (2004).
- Vo M. N., Terrey M., Lee J. W., Roy B., Moresco J. J., Sun L., Fu H., Liu Q., Weber T. G., Yates J. R. 3rd, Fredrick K., Schimmel P., Ackerman S. L., *Nature*, **557**, 510–515 (2018).
- Stum M., McLaughlin H. M., Kleinbrink E. L., Miers K. E., Ackerman S. L., Seburn K. L., Antonellis A., Burgess R. W., *Mol. Cell. Neurosci.*, **46**, 432–443 (2011).
- Chong Y. E., Yang X. L., Schimmel P., *J. Biol. Chem.*, **283**, 30073–30078 (2008).
- Kapur M., Ackerman S. L., *Trends Genet.*, **34**, 218–231 (2018).
- Osborne B., Bentley N. L., Montgomery M.

- K., Turner N., *Free Radic. Biol. Med.*, **100**, 164–174 (2016).
- 30) Lu T., Aron L., Zullo J., Pan Y., Kim H., Chen Y., Yang T. H., Kim H. M., Drake D., Liu X. S., Bennett D. A., Colaiácovo M. P., Yankner B. A., *Nature*, **507**, 448–454 (2014).
- 31) Zhao Y., Zhu M., Yu Y., Qiu L., Zhang Y., He L., Zhang J., *Mol. Neurobiol.*, **54**, 541–550 (2017).
- 32) Hwang J. Y., Zukin R. S., *Curr. Opin. Neurobiol.*, **48**, 193–200 (2018).
- 33) Mampay M., Sheridan G. K., *Front. Neuroendocrinol.*, **53**, 100744 (2019).
- 34) Schoenherr C. J., Anderson D. J., *Curr. Opin. Neurobiol.*, **5**, 566–571 (1995).
- 35) Mori N., *Experimental Medicine*, **15** (4 Suppl.), 164–172 (1997).
- 36) Mori N., Stein R., Sigmund O., Anderson D. J., *Neuron*, **4**, 583–594 (1990).
- 37) Mori N., Schoenherr C., Vandenberg D. J., Anderson D. J., *Neuron*, **9**, 45–54 (1992).
- 38) Li L., Suzuki T., Mori N., Greengard P., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 1460–1464 (1993).
- 39) Naruse Y., Aoki T., Kojima T., Mori N., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 13691–13696 (1999).
- 40) Lunyak V. V., Rosenfeld M. G., *Cell*, **121**, 499–501 (2005).
- 41) Nho K., Kim S., Risacher S. L., *et al.*, *Ann. Neurol.*, **77**, 547–552 (2015).
- 42) Yang Y. J., Baltus A. E., Mathew R. S., Murphy E. A., Evrony G. D., Gonzalez D. M., Wang E. P., Marshall-Walker C. A., Barry B. J., Murn J., Tatarakis A., Mahajan M. A., Samuels H. H., Shi Y., Golden J. A., Mahajan M., Shenhav R., Walsh C. A., *Cell*, **151**, 1097–1112 (2012).
- 43) Meyer K., Feldman H. M., Lu T., Drake D., Lim E. T., Ling K. H., Bishop N. A., Pan Y., Seo J., Lin Y. T., Su S. C., Church G. M., Tsai L. H., Yankner B. A., *Cell Rep.*, **26**, 1112–1127 (2019).
- 44) Harwood J. C., Kent N. A., Allen N. D., Harwood A. J., *EMBO Rep.*, **20**, e46960 (2019).
- 45) Ramani V., Qiu R., Shendure J., *Cell Rep.*, **26**, 2465–2476 (2019).
- 46) Yu M., Suo H., Liu M., Cai L., Liu J., Huang Y., Xu J., Wang Y., Zhu C., Fei J., Huang F., *Neurobiol. Aging*, **34**, 916–927 (2013).
- 47) Suo H., Wang P., Tong J., Cai L., Liu J., Huang D., Huang L., Wang Z., Huang Y., Xu J., Ma Y., Yu M., Fei J., Huang F., *Neuropharmacology*, **99**, 67–78 (2015).
- 48) Huang D., Li Q., Wang Y., Liu Z., Wang Z., Li H., Wang J., Su J., Ma Y., Yu M., Fei J., Huang F., *Aging (Albany NY)*, **11**, 3280–3297 (2019).
- 49) Kawamura M., Sato S., Matsumoto G., Fukuda T., Shiba-Fukushima K., Noda S., Takanashi M., Mori N., Hattori N., *Neurosci. Lett.*, **699**, 59–63 (2019).
- 50) Zuccato C., Tartari M., Crotti A., Goffredo D., Valenza M., Conti L., Cataudella T., Leavitt B. R., Hayden M. R., Timmusk T., Rigamonti D., Cattaneo E., *Nat. Genet.*, **35**, 76–83 (2003).
- 51) Zuccato C., Belyaev N., Conforti P., Ooi L., Tartari M., Papadimou E., MacDonald M., Fossale E., Zeitlin S., Buckley N., Cattaneo E., *J. Neurosci.*, **27**, 6972–6983 (2007).
- 52) Schiffer D., Caldera V., Mellai M., Conforti P., Cattaneo E., Zuccato C., *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, **40**, 899–910 (2014).
- 53) Yeo M., Berglund K., Augustine G., Liedtke W., *J. Neurosci.*, **29**, 14652–14662 (2009).
- 54) Nakano Y., Wiechert S., Bánfi B., *Cell Rep.*, **27**, 860–871 (2019).
- 55) Chen G. L., Ma Q., Goswami D., Shang J., Miller G. M., *J. Cell. Mol. Med.*, **21**, 2974–2984 (2017).
- 56) Chen G. L., Miller G. M., *eNeuro.*, **5**, ENEURO.0034-18.2018 (2018).
- 57) Ueda H., Kurita J. I., Neyama H., Hirao Y., Kouji H., Mishina T., Kasai M., Nakano H., Yoshimori A., Nishimura Y., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **27**, 4705–4709 (2017).
- 58) Kawase H., Ago Y., Naito M., Higuchi M., Hara Y., Hasebe S., Tsukada S., Kasai A., Nakazawa T., Mishina T., Kouji H., Takuma K., Hashimoto H., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **176**, 1–5 (2019).