

人工発光システムにより記憶関連分子の変化を生きたマウスで可視化

【研究の背景】

BDNF（脳由来神経栄養因子）は、記憶や学習といった脳の高次機能に不可欠なタンパク質です。アルツハイマー病やうつ病などでは、BDNF の発現低下が報告されています。しかし、BDNF の低下が病気の原因なのか、それとも病気の結果なのかについては、これまで十分に解明されていませんでした。そこで本研究グループは、生きたマウスで脳内 BDNF の変化を直接観察するため、発光酵素（ルシフェラーゼ）を利用した遺伝子改変マウスを作製しました。

ホタルの発光は、酵素（ホタルルシフェラーゼ）と基質（D-ルシフェリン）による酵素反応で生じます。研究グループは、BDNF の発現が変化すると、ホタルルシフェラーゼの発現も同じように変化する遺伝子組換えマウスを作成し、このマウスに D-ルシフェリンを投与することでホタルの発光を検出する試みを行ってきました（図1）。このマウスでは、BDNF 発現が高いほどルシフェラーゼの発現も高くなるため、D-ルシフェリンを投与すると BDNF の発現が高いほど生じる発光も強くなります。

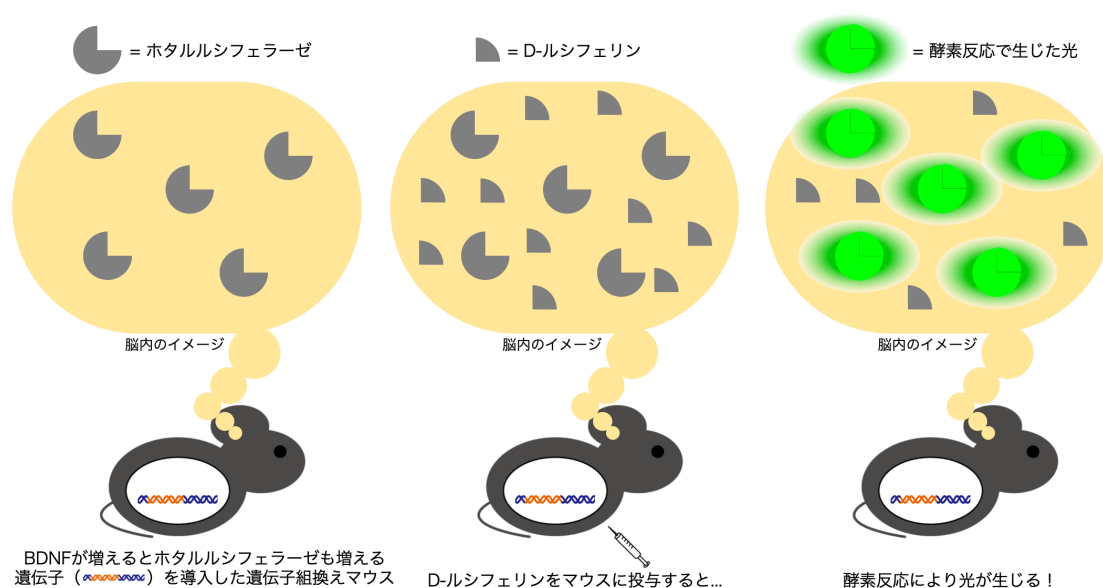


図1 生きたマウスで脳内 BDNF の変化を直接観察するためのマウスの概要

このマウスを使用すると、発光を検出することによって脳内 BDNF がどのように変化しているのかを生きたマウスで評価できます。しかし、この方法には問題もありました。まず、発光を得るためには D-ルシフェリンをマウスに投与する必要がありますが、

動物実験でよく用いられる方法（腹腔内投与など）で投与した場合、D-ルシフェリンはあまり脳にまで到達しません。さらに、生じた発光はマウスの体表面にまで到達しないと検出することができませんが、ホタルの黄緑色の光は組織透過性が悪いため、脳で生じた発光は体表面にまで到達しにくく、場合によっては発光が検出できなくなる可能性もあります。そこで研究グループは、2018年に理化学研究所の研究グループらによって開発された人工発光システム「AkaBLI」という方法を用いて、脳内BDNF発現を生きたマウスで評価するための新しいマウスの作出を試みました。

【研究の結果】

人工発光システム「AkaBLI」とは、D-ルシフェリンとホタルルシフェラーゼを人工的に改良したものを利用した方法です。D-ルシフェリンの改良型である「TokeOni」は、マウスに投与すると脳にも分布し、さらにホタルルシフェラーゼと反応すると近赤外領域の赤色光が生じます。近赤外領域の光は、黄緑色の光と比較して組織透過性がよいため、検出しやすくなります。しかし、TokeOniはD-ルシフェリンと構造が異なるため、ホタルルシフェラーゼとの反応性は悪くなってしまい、輝度が下がってしまいます。そこで、TokeOniに最適な酵素となるようにホタルルシフェラーゼが改良されました。それが「AkaLuc」です。このTokeOniとAkaLucを組み合わせて生きたマウスで発光を検出する方法が「AkaBLI」です（図2）。

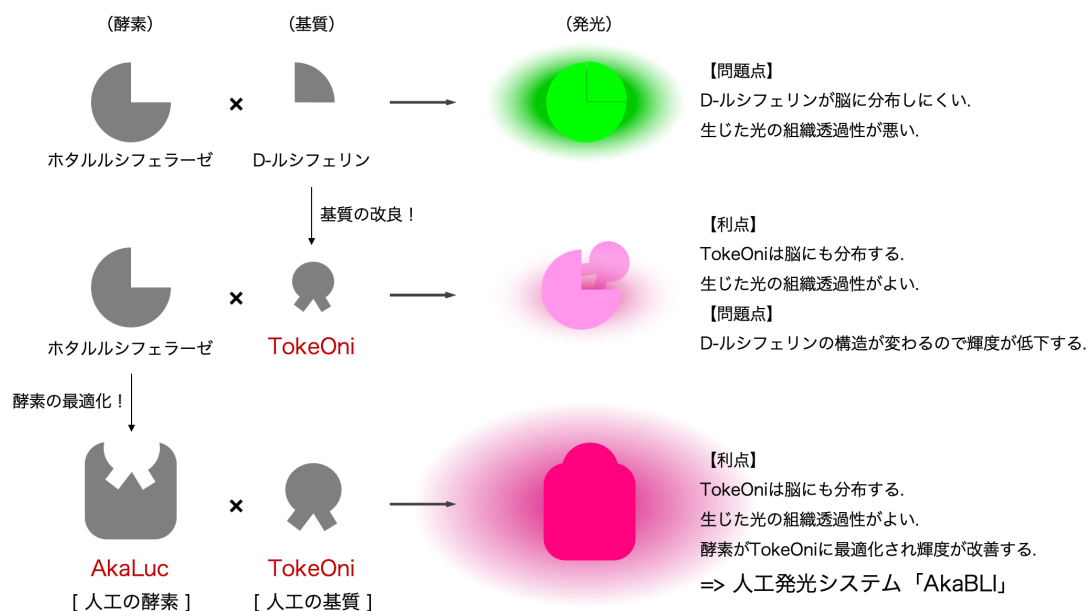


図2 発光を得るための酵素と基質の組み合わせ および AkaBLI の概要

研究グループは、ホタルルシフェラーゼを用いて以前に作成した「BDNF-Luc マウス」および今回新しく作出した AkaBLI 用の「BDNF-AkaLuc マウス」を用いて、生きたマウスで発光検出を行いました。その結果、従来のマウスと比較して、新たに作製した BDNF-AkaLuc マウスでは、脳からの発光が約 20 倍に増強され、より高感度な検出が可能となりました。(図 3)。

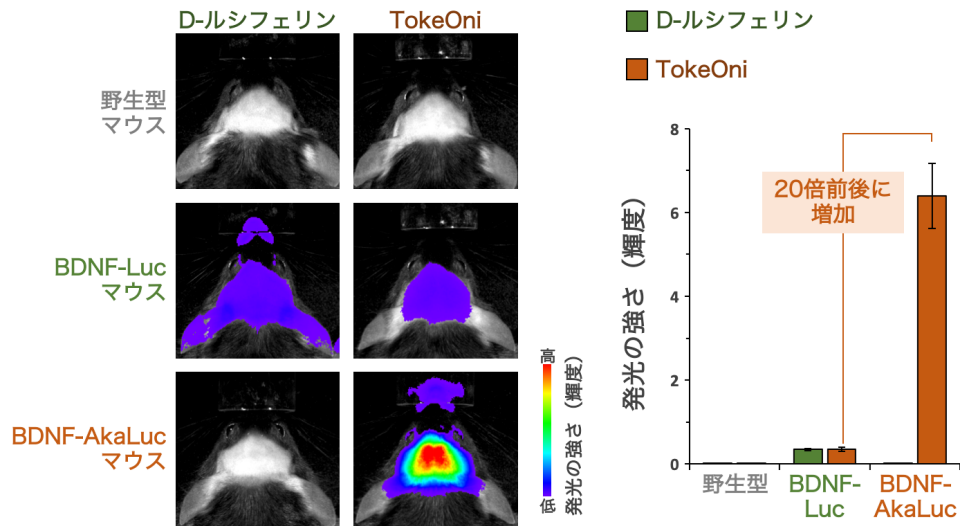


図3 従来型 (BDNF-Luc) と本研究で作出したマウス (BDNF-AkaLuc) の比較

さらに、アルツハイマー病モデルを用いて、BDNF の減少を生きたマウスで可視化することに成功しました (図 4)。

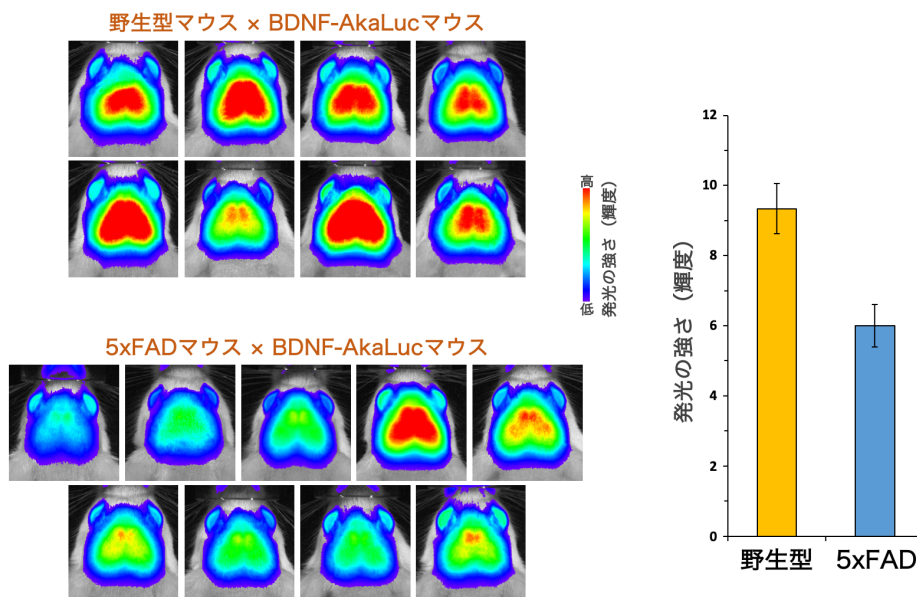


図4 アルツハイマー病モデルマウスの脳内 BDNF 発現変化の可視化

【今後の期待】

本研究では、脳内 BDNF 発現変化を生きたマウスで評価することに成功しました。さらに、疾患モデルマウスと組み合わせることで、脳内 BDNF が変化する様子を生きたマウスで検出することにも成功しました。通常、脳内の BDNF 発現量を評価するためには、脳サンプルを回収する必要があるため、生体での解析はできません。本研究により、脳内 BDNF の変化を、生きたまま非侵襲的に観察することが可能となりました。これにより、同一個体における長期的な変化の追跡が可能となります。実際に本研究では、アルツハイマー病モデルマウスにおいて、症状出現前では変化が見られない一方、症状が現れる時期には BDNF が低下することを確認しました。本手法は、BDNF と疾患との関係解明に役立つだけでなく、新規薬剤開発への応用も期待されます。

【公表論文について】

掲載雑誌名：Molecular Neurobiology (モレキュラー ニューロバイオロジー)

掲載論文名：Visualizing changes in brain-derived neurotrophic factor expression in living mice using the all-engineered bioluminescence imaging system AkaBLI (生体マウスにおける脳由来神経栄養因子の発現変化を人工生物発光システム”AkaBLI”により可視化する)

doi: <https://doi.org/10.1007/s12035-026-05829-5>

【語句説明】

・ BDNF

Brain-derived neurotrophic factor (脳由来神経栄養因子) の略。神経細胞の生存や分化、神経ネットワークの形成、さらには記憶や学習などの高次脳機能発現に必要不可欠な因子である。また、うつ病などの精神疾患やアルツハイマー病などの神経変性疾患においては、BDNF 量が低下することが報告されている。

・ ホタルの光

生物が放つ発光の代表。発光は、酵素であるルシフェラーゼと基質であるルシフェリンが反応することで発光を生じる。この原理が生命科学研究に応用されている(図1参照)。ホタルルシフェラーゼに対する天然の基質は D-ルシフェリンであり、黄緑色の発光を生じる。しかし、黄緑色の光は、ヘモグロビンなどの生体分子により妨げられるため、生体動物を用いた可視化研究では、深部に位置する組織からの発光が検出されにくいと

いった難点があった。また、D-ルシフェリンは、脳への移行性が悪いため、脳を標的とした可視化研究には不向きであった（図2参照）。

- ・ AkaBLI

理化学研究所の宮脇敦史博士らの研究グループにより開発された人工発光システム。ホタルルシフェラーゼおよび D-ルシフェリンを用いた従来の発光技術の問題点を克服するため、基質である TokeOni、および TokeOni に最適化された酵素である AkaLuc が開発された（図2参照）。TokeOni と AkaLuc を組み合わせた AkaBLI は、高輝度かつ近赤外領域の発光を用いるため、深部組織からの発光検出に有用である。この方法は、2018 年にアメリカ科学振興協会（AAAS）が出版する科学雑誌 Science に掲載された。

- ・ アルツハイマー病モデルマウス

アルツハイマー病患者の脳内で蓄積するアミロイド β ($A\beta$) が過剰に産生する遺伝子改変マウス。モデルマウスでは早期より $A\beta$ の過剰産生が生じ、記憶学習障害を呈する。