

新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

遺伝性白質脳症におけるミクログリアの役割解明

研究代表者 濱谷 美緒¹⁾
研究分担者 他田 真理²⁾, 上野 英樹^{1, 3)}

1) 京都大学高等研究院ヒト生物学高等研究拠点 2) 新潟大学脳疾患標本資源解析学分野
3) 京都大学大学院医学研究科免疫細胞生物学

研究要旨

遺伝性白質脳症 ALSP は、CSF1R 遺伝子変異を伴い、形態学的な異常からも、ミクログリアが病態の主体と考えられる。しかし、ミクログリアは脳内に不均一に分布し、必ずしも神経・髄鞘障害部位と一致しない。ALSP において、ミクログリアがどのように異常で、どのように病態に関与するかは未解明である。本疾患は、青年期に発症し、精神・認知・運動症状の増悪により数年で寝たきりとなるが、確立した治療法もほとんどない。本研究では、アストロサイトが ALSP で強く増殖することを背景に、ミクログリアの異常がアストロサイトの炎症性シフトをもたらし、ALSP 病態に関与するという仮説を検証する。本研究により、ALSP の病態が明らかとなり、新しい治療起点の発見につながることを期待する。

A. 研究目的

軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症(ALSP)は、コロニー刺激因子1受容体(CSF1R)が原因遺伝子として同定され、病理学的にミクログリアの形態・分布異常を伴うことから、ミクログリアが病態の主体と考えられる。一方、ミクログリアがどのように病態に関与するかは明らかでない。脳組織では病変初期からアストロサイトの増生を認め、ミクログリアーアストロサイト連関が病態に関与する可能性を示唆する。本研究では、ALSP 脳組織内での軸索/髄鞘傷害部位とミクログリア・アストロサイトサブセット(炎症性・抗炎症性など)の相関を病理組織学的に検討することで、病態を解明することを目的とする。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

脳部位間でのミクログリア・アストロサイトサブ

セットの変化を検出するため、ALSP 脳の障害が強い部位(前頭葉、脳梁など)と比較的軽い部位(後頭葉など)、また非疾患脳を、マルチカラー染色可能な Hyperion imaging system を用いて半網羅的に比較する。組織は FFPE 標本を用い、症例数は各群 3 例までを予定している。染色分子については、細胞種の同定並びに機能評価を行うべく、ミクログリア (Iba-1, TMEM119, P2RY12, CX3CR1, CD68, CD163, CSF1R 等)、ニューロン (MAP2, APP 等)、オリゴデンドロサイト (MOG, MAG, PDGFR α 等)、アストロサイト (GFAP, EAAT2 等)等の関連分子を検討している。シングルセルへのセグメンテーションを行った上で、発現の評価、クラスタリング、細胞間相互作用等の解析を行う。ALSP 由来 iPS 細胞から分化させたミクログリア様細胞(MGL)の機能評価実験を平行して行っており、この結果を踏まえて再度病理学的評価内容を検討する。

C. 研究結果

申請者らはこれまでに、ALSP 患者由来 iPS 細胞からのミクログリア様細胞 (MGL) 分化に成功した。ALSP-MGL の網羅的遺伝子発現解析では、ミクログリアのマーカーとされる CX3CR1、TMEM119、P2RY12 などの遺伝子発現がいずれも健常者 MGL に比して著明に低下し、病理学的評価を行った既報と合致した結果となった。さらに、細胞内糖代謝、脂肪酸代謝等に関する遺伝子群の発現が軒並み低下していた。ALSP-MGL の細胞内代謝評価では、分化後期に解糖系優位となり、ミトコンドリアの膜電位低下や癒合傾向といった機能障害を示唆する所見を得た。さらにミトコンドリア由来活性酸素種の増加と酸化ストレスの増大を反映した過酸化脂質の増加を認めた。また、無刺激時の遺伝子発現解析では食食能やサイトカイン産生能はいずれも低下していたが、実際に大腸菌破砕片の食食や LPS/IFN γ 刺激による炎症性サイトカイン産生は健常 MGL と同程度か、あるいは上昇していた。

D. 考察

細胞内代謝・ミトコンドリアの解析では、ALSP-MGL でミトコンドリアダメージが強く、その結果産生増加する活性酸素種が、神経障害の一因となることを示唆する。また、ALSP-MGL は刺激へのサイトカイン応答性を保持し、過大応答により神経障害性を獲得し、成人発症の他因となっているとも考えられる。

今後は、神経細胞やアストロサイトとの共培養あるいは MGL 培養上清による影響、活性酸素種やサイトカインのブロッキングを行い、創薬起点を開発する。さらに、ALSP 剖検脳を用いてミクログリアあるいは神経細胞やアストロサイトにおける酸化ストレス指標を評価するなど、上記の検証を行う。

E. 結論

本研究は、ヒト由来サンプルを用いミクログリアの機能評価を可能にする、iPS 細胞の利点を生かした研究である。ミクログリアの機能解析や病初期のミクログリアの脳環境への影響を明らかにするという点で、病態解明に寄与すると考え

ている。一方で、実際にヒト脳内でどのような変化が生じたかを検証することは必須である。今後、iPS 細胞由来のミクログリア様細胞を用いた機能実験と病理学的検証により、病態解明・治療応用へつなげていきたい。

F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

1. 論文発表 なし

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし