

令和元年6月7日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19458

研究課題名(和文) 全身免疫異常に伴う神経回路活動の変容に対する治療戦略

研究課題名(英文) Therapeutic strategy for the abnormal neuronal circuit activity associated with systemic inflammation

研究代表者

和氣 弘明(WAKE, Hiroaki)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：90455220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、自己免疫性疾患や悪性腫瘍・老化に伴って起こる免疫の活性化(炎症)に付随する精神症状をきたすメカニズムを理解し新規治療法の開発に臨むために、BBBの透過性制御機構を明らかにするとともに体循環系の炎症時におけるBBBの破綻機構を解明した。またこのBBBの破綻による神経回路活動の変容を可視化した。さらにこのメカニズムを示すことで、今後の創薬戦略を創出した

研究成果の学術的意義や社会的意義

この一連の研究により体循環炎症に伴う中枢神経系ミクログリアの変化およびそのBBBの透過性制御機構さらにはその分子機序を明らかにすることができた。今後これらの分子を標的にした創薬戦略をすすめていくことで、体循環系の炎症に伴う精神症状の発症機序の一端をしめすことができた。

研究成果の概要(英文)：Microglia survey brain parenchyma and respond to any disruptions. Microglia also respond to systemic disease, but how this relates to blood brain barrier (BBB) integrity is largely unknown. Here we use simultaneous in vivo imaging to demonstrate that systemic inflammation induces migration of brain resident microglia to cerebral vessels. Vessel-associated microglia initially maintain BBB integrity, associated with expression of the tight junction protein Claudin-5. Further sustained inflammation results in microglia phagocytosing astrocytic end-feet and impairing BBB function. Our results show dual microglial role for BBB and have important implications for understanding how systemic immune-activation can impact on neural circuit functions.

研究分野：神経科学

キーワード：ミクログリア 血液脳関門 体循環系炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多様化する現代社会において、学習・認知といった高次脳機能に障害を呈する精神症状をきたす疾患を考察することは社会的・経済学的にも必須である。これまで発達期、成熟期において個体の免疫状態が学習行動・人格などに関与することが古くから報告されている。しかしながら免疫と神経回路を直接結びつけて、その個体の行動計測と相関を調べるような研究は未だない。さらに自己免疫疾患や敗血症などの体循環系の炎症に伴って、中枢神経系の免疫細胞であるミクログリアが活性化することが知られている(Michels M et al., *Curr Neurovasc Res*, 2014)。

2. 研究の目的

本研究では、自己免疫性疾患や悪性腫瘍・老化に伴って起こる免疫の活性化(炎症)に付随する精神症状をきたすメカニズムを理解し新規治療法の開発に臨むために、**BBBの透過性制御機構を明らかにするとともに体循環系の炎症時におけるBBBの破綻機構を解明することに挑戦する。またこのBBBの破綻による神経回路活動の変容を可視化する。さらにこのメカニズムを阻害することでBBBの透過性が異常に亢進することを抑制し、脳内の免疫を全身免疫状態から隔離することで脳内炎症を保護する治療法(脳免疫隔離療法)としてその方向性を示す。**

3. 研究の方法

体循環系炎症モデルとして、自己免疫性疾患である全身性エリテマトーデス(SLE)モデルマウス(MRL/lpr)およびリポ多糖類(LPS)の腹腔内投与モデルをもちいて、これを2光子顕微鏡による生体イメージングおよび遺伝子の網羅発現解析と組み合わせ、血液脳関門の透過性の制御機構を明らかにした。

4. 研究成果

まずこれらのモデルでのミクログリアの変化を検証した。ミクログリアと血管の免疫染色によって、MLR/lpr および LPS の腹腔内投与モデルでは血管に接触するミクログリア数が有意に増加していることがわかった。MRL/lpr では炎症の起点がはっきりしていないため、ミクログリアがどのように血管周囲に集積し始めるかを、LPS 腹腔内投与モデルを用いて、2光子顕微鏡による生体イメージングを行い、同一個体の同一部位を LPS 投与前に1週間、投与後に1週間観し、検証したところ、LPS 投与1日後から血管方向へミクログリアが遊走することが明らかとなった。このような遊走能の増加は炎症の起点が明らかではない MRL/lpr においてもおきていることがわかった。そこでこの処理によって BBB の透過性がどのように変化するか検証するために、BBB の透過性を分子量の異なるデキストランを経静脈的に連日投与し、連日同一部位のイメージングを行い、その脳実質への漏出を数値化することで検証した。その結果 BBB の透過性は LPS 投与4日後から起こることがわかった。そこでこの透過性の増加に対するミクログリアの役割を検証するために、遺伝的にミクログリアを除去したマウスで LPS 投与後の BBB の透過性を評価したところ、投与3日後(早期相)では透過性は増悪し、7日後(後期相)では透過性が改善することがわかった。この結果はミクログリアが BBB の透過性に対して早期には保護的に、後期においては障害的に作用することを意味する。そこでこれらの分子メカニズムを探るために、MRL/lpr マウスの遺伝子発現の網羅解析を行い、これを正常群と比較し解析したところ、BBB の透過性に関わる分子として、タイトジャンクション関連分子(TJ)および貪食関連分子(PG)が上がってきた。

免疫学的染色によって、早期には TJ が血管周囲に集積するミクログリア特異的に発現上昇することおよび後期にはこれらが減少し、PG が発現上昇することがわかった。また後期においてはミクログリアの細胞内にリソソームと共存するかたちでアストロサイトのエンドフィートマーカである AQP4 を認めることからミクログリアは後期においてはアストロサイトのエンドフィートを貪食することで BBB に対して障害的に作用することが明らかとなった。

またミクログリアの活性化阻害剤であるミノサイクリンを投与すると BBB の透過性は有意に減少することからミクログリアの活性化がこの貪食作用に寄与することも明らかになった(Haruwaka et al., *Nature Commun*, in revision)。この一連の研究により体循環炎症に伴う中枢神経系ミクログリアの変化およびその BBB の透過性制御機構さらにはその分子機序を明らかにすることができた。今後これらの分子を標的にした創薬戦略をすすめていく。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

1. Akiyoshi R, **Wake H***, Kato D, Horiuchi H, Ono R, Ikegami A, Haruwaka K, Omori T, Tachibana Y, Moorhouse AJ and Nabekura J. Microglia enhance synapse activity to promote local network synchronization. *eNeuro*. 2018. Oct 25;5(5). Pii: ENEURO.0088-18.
2. Quan X, Kumar M, Matoba O, Awatsuji Y, Hayasaki Y, Hasegawa S, and **Wake H**. 3D Stimulation and Imaging-based Functional Optical Microscopy (SIFOM) of

- Biological Cells. *Opt letters*. 2018. Nov 1;43(21):5447-5450. Doi: 10.1364/OL.43.005447
3. Dutta D, Woo DH, Lee PR, Pajevic S, Bukalo O, Huffman WC, Wake H, Basser PJ, Sheikhabaei S, Lazarevic V, Smith JC & Fields RD. Regulation of myelin structure and conduction velocity by perinodal astrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018. Nov 13;115(46):11832-11837. Doi: 10.1073/pnas.1811013115
 4. Takeda A, Shinozaki Y, Kashiwagi K, Ohno N, Eto K, Wake H, Nabekura J, Koizumi S. Microglia mediate non-cell-autonomous cell death of retinal ganglion cells. *Glia*. 2018. Nov;66(11):2366-2384.
 5. Ishikawa T, Eto K, Kim SK, Wake H, Takeda I, Horiuchi H, Moorhouse AJ, Ishibashi H, Nabekura J, Cortical astrocyte prime the induction of spine plasticity and mirror image pain. *Pain*. Aug;159(8):1592-1606 doi: 10.1097/j.pain.0000000000001248. 2018

〔学会発表〕(計 24 件)

1. 2017/4/8 国内 口頭発表 髄鞘制御不全による情報処理異常の可視化
第 29 回臨床 MR 脳機能研究会 (東京)
2. 2017/6/4 国内 シンポジウム 光で迫る脳免疫細胞の機能
脳科学の達人 2017 市民講座プレ企画@未来館 (東京)
3. 2017/6/30 ~ 7/1 国内 口頭発表 光で照らし出すグリアの新機能および脳機能表出
グリアアセンブリ夏のワークショップ (新潟)
4. 2017/7/23 国内 シンポジウム 光で迫る脳免疫細胞の機能 日本神経科学大会 (千葉)
5. 2017/7/28 国内 口頭発表 髄鞘制御不全による情報処理異常の可視化
大阪大学生命機能セミナー (大阪・吹田)
6. 2017/8/10 国内 口頭発表 高精度時空間分解能を持つ光刺激法による脳機能操作
第 14 回生体イメージング研究会 (京都)
7. 2017/8/23 国内 口頭発表 Activity dependent myelin regulation in information
processing 第 115 回 IIS セミナー (茨城・つくば)
8. 2017/8/24 国内 口頭発表 2 光子顕微鏡による生体イメージング
京都大学セミナー (京都)
9. 2017/9/7 国内 口頭発表 Myelination for information processing
第 90 回日本神経化学会大会 (仙台)
10. 2017/9/16 ~ 9/21 国際 シンポジウム Physiology of microglia -New Insights-
World Congress of Neurology (京都)
11. 2017/10/8 国内 口頭発表 髄鞘制御不全による情報処理異常の可視化
神経組織培養研究会 (名古屋)
12. 2017/10/13 国内 口頭発表 光で迫る脳免疫細胞の機能について
第 49 回藤田学園医学会シンポジウム (愛知県豊名市)
13. 2017/10/14 国内 口頭発表 光で照らし出すグリアの新機能および脳機能への寄与
(株)ファイザー 第 12 回緑内障若手研究者の会 (東京)
14. 2017/11/20 国内 口頭発表 高次脳機能に関わる中枢神経系免疫細胞の生理機能

東京大学大学院医学研究科（東京）

15. 2017/12/20～12/23 国内 口頭発表 髄鞘のスクラップアンドビルドによる脳情報処理の効率化 次世代脳冬のシンポジウム（東京）
16. 2018/3/5～3/6 国際 口頭発表 Spatial and temporal regulation of neuronal circuit activity by glial cells The UK-Japan Spring Neuroscience Symposium
17. 2018/3/11 国内 口頭発表 神経活動依存性の髄鞘化とその破綻による回路活動の異常
第1回三融会・武田神経科学シンポジウム（大阪）
18. 2018/3/15 国内 口頭発表 脳の中を見ることによってグリア細胞の機能を明らかにする 神戸薬科大学特別研究セミナー（神戸）
19. 2018/7/28 国内 シンポジウム Microglia in health and disease -lesson from schizophrenia model mice 第41回日本神経科学大会（神戸）
20. 2018/9/24 国際 シンポジウム Microglia and Synapses ICN2018 世界神経病理学会 講演（東京）
21. 2018/10/13 国内 シンポジウム ミクログリアの生理・病態を踏まえた認知症治療戦略
第37回日本認知症学会学術集会（札幌）
22. 2018/11/15 国内 シンポジウム ミクログリアの生理機能とその破綻による病態
第28回日本臨床精神神経薬理学会・第48回日本神経精神薬理学会 合同年会（東京）
23. 2018/11/24 国内 口頭発表 グリア細胞の生理機能と神経回路機能
第48回小児神経セミナー（大阪）
24. 2018/12/5 国際 口頭発表 Microglia in physiological brain—Focusing on microglia—synapse interactions Cold Spring Harbor Asia Conferences 中国 蘇州

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕
出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。