

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007 ～ 2008
 課題番号：19790621
 研究課題名（和文）分子イメージング手法を用いるアルツハイマー病におけるグリア細胞の役割に関する研究
 研究課題名（英文）Research on the Role of Glial Cells in Alzheimer' s Diseases-Using Molecular Imaging techniques
 研究代表者
 季 斌(Ji Bin)
 独立行政法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・主任研究員
 研究者番号：80392223

研究成果の概要：本研究はアルツハイマー病の病的分子アミロイド及びグリア細胞の活性化の生体イメージング及び摘出脳の免疫染色により、アミロイドの産生・除去とグリア細胞の活性化との関連を調べた。その結果、ポジトロン断層撮影（PET）を主たる手法とする分子イメージングはアミロイド沈着と炎症性反応を臨床研究においても応用できることを明らかにし、グリア細胞活性化の指標である末梢性ペンゾジアゼピン受容体（PBR）は単なるグリア細胞のバイオマーカーでなく、グリア細胞の機能をも制御しうる機能性分子であることを見出した。特に中枢神経の免疫を担うグリアの亜種ミクログリアにおいて、PBR 分子は非炎症性ミクログリア細胞が炎症性ミクログリアに変化する際に、その発現が高くなり、活性化ミクログリア細胞全般よりも、むしろ炎症性ミクログリアの挙動を特異的に反映するものと考えられる。また、PBR 結合性薬剤はこれらの炎症性ミクログリアによる炎症性サイトカインの放出を制御しうることを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：PET, Gila, Alzheimer, PBR, PBR ligand

1. 研究開始当初の背景

日本社会の高齢化に伴い、アルツハイマー病（AD）の患者数は今後大きな社会問題になりうることに懸念されている。AD の発症機序に関しては、アミロイド・ペプチド(A \cdot)もしくはタウ蛋白の異常に始まり、一連の細胞毒性カスケードにより、神経細胞が死に至ると

いうアミロイド仮説が提唱されている。一方、AD 患者死後脳研究及び AD 動物モデルを用いた研究により、グリア細胞活性化がアミロイド沈着と除去に大いに関わることが示されている。しかし、グリア細胞の活性化は AD の発症や治療に深く関わるものの、病理を促進する方向にも抑制する方向に働く可能性

があり、望ましい状態に活性を制御することが容易でない。ポジトロン断層撮影 (PET) などの技術を用いる分子イメージング研究は、その非侵襲的に標的分子の挙動をとらえる特性から、実験動物を用いる基礎研究とヒトを対象にする臨床研究をつなげる架け橋になることが認識されつつある。また、活性化グリア細胞には末梢性ベンゾジアゼピン受容体 (PBR) が大量に発現し、これに結合するポジトロン標識リガンドが活性化グリア細胞の生体イメージング研究に使用されている。当研究所で開発した PBR リガンド [^{18}F]FE-DAA1106 は従来広く使用されていたリガンドである [^{11}C]PK11195 に比べ、脳移行性や PBR への親和性が高く、脳内の活性化グリア細胞イメージングにより適している。研究代表者らは [^{18}F]FE-DAA1106 を用いて様々な神経変性過程におけるグリア細胞の挙動を解析し、神経変性のタイプに応じて、PBR の発現増加の度合いや、発現が増加するグリア細胞の種類 (アストロサイト、ミクログリアなど) が異なることを見出した。特に重要なのは、PBR 発現の顕著な増加は、神経変性をもたらすグリア細胞において認められたことであり、PBR を指標として、病理を促進する悪玉グリア細胞と、病理を抑制する善玉グリア細胞を識別できる可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では AD モデル動物を用いて、AD の病態進行および治療におけるグリア細胞の役割を明らかにすると同時に、アミロイド病理や神経変性を抑制する方向にグリア細胞の機能を制御することを試みる。そのため以下の事項を達成することを目指す。

- (1) アミロイドと PBR の生体イメージングを用いる AD の治療効果評価と副作用のモニタリングは臨床においても可能かどうかを検討する。
- (2) PBR 結合性薬剤が神経変性治療薬となりうるかどうかを検討する。

3. 研究の方法

(1) 培養ミクログリア細胞の脳内移植によるアミロイド病理の制御: APP23 マウス脳に炎症性サイトカインの分泌の低い株化ミクログリア細胞 Ra2、と高い株化ミクログリア細胞 HS1 を移植し、移植したグリア細胞 (及び周囲のグリア細胞) の PBR 発現量を [^{18}F]FE-DAA1106 を用いた PET スキャンにより計測する。同時に [^{11}C]PIB を用いた PET スキャンにより脳アミロイドの変化を

検出し、PBR 発現量とアミロイド除去効果の相互関係を *in vivo* で経時的に調べる。その後、摘出脳より組織切片を作製し、脳アミロイド量及びグリア細胞の活性化パターンを免疫染色法により *in vitro* で確認する。

(2) PBR 結合性薬剤の培養ミクログリア細胞活性への影響の検討: 株化ミクログリア細胞 (Ra2 株、HS1 株) を用いて、PBR 結合性薬剤 (アンタゴニスト PK11195 及びアゴニスト Ro5-4864) によるこれら細胞の変化 (形態、活性化マーカー蛋白発現、及びサイトカイン放出) を免疫染色法と生化学分析法で調べ、PBR を標的とすることでグリア細胞の活性制御が可能かどうか検討する。グリア細胞の活性制御が可能であれば、更に種々神経変性動物を用いて、これら PBR 結合性薬剤の薬理効果を評価する。

4. 研究成果

本研究において、研究代表者らは市販抗体より遙かに特異性の高い抗末梢性ベンゾジアゼピン受容体 (PBR) 抗体の作製に成功した。このオリジナル抗体を用いて、種々神経変性疾患動物モデルにおける脳内グリア細胞の PBR を調べた結果、神経変性の種類により、グリア細胞における PBR の発現パターンが大きく異なることが明らかになった。可逆的な神経障害において、PBR は主にアストロサイトに神経栄養因子 GDNF と共に強く誘導され、神経組織の修復・再生に働くが、ミクログリアには、その発現が非常に低い。不可逆的な神経障害において、PBR は主にミクログリアに発現し、障害された神経細胞を排除するに働くことを明らかにした。以上の研究結果により、ミクログリア活性化に伴う活性酸素の産生や炎症性サイトカインの分泌は PBR の誘導発現に関わる可能性が示唆されたため、研究代表者らは炎症性サイトカインの産生の低いと高い株化ミクログリア細胞を、それぞれ Alzheimer 病モデルマウス APP23 に移植し、経時的にアミロイド放射線標識トレーサー ^{11}C -PIB、及び PBR 放射線標識トレーサー ^{18}F -FEDAA で、モデル動物を生かしたまま、アミロイドの沈着と PBR 発現を画像化し、炎症性因子の産生能の低いと高いミクログリアによるアミロイド沈着への影響を調べた。その結果、炎症性因子産生能の低いミクログリアの移植により、APP23 マウスの脳内アミロイド沈着が軽減された (図 1)。これに対して、炎症性因子産生能の高いミクログリアの移植はマウスの脳内アミロイド沈着に影響しなかった。更に、炎症性の低いミクログリ

アのPBR発現は炎症性の高いミクログリアに比べ、遙かに低いこととアミロイド沈着を除去すると考えられた内因性ミクログリアに発現するPBRは極めて低いことから、PBRは単なるミクログリア細胞の活性化

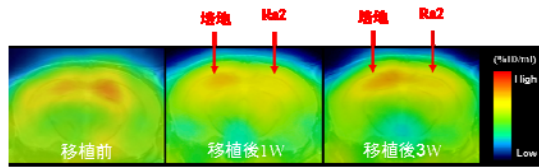


図1. ミクログリア細胞株Ra2の移植前、移植1週間後、3週間後の11C-PBRによる24日齢のAPP23マウスのアミロイド同一部位の生体イメージング。ミクログリア細胞の脳内移植により、アミロイド沈着が軽減されたことがわかる。

を反映するバイオマーカーよりも、むしろ炎症性ミクログリアを反映する機能性指

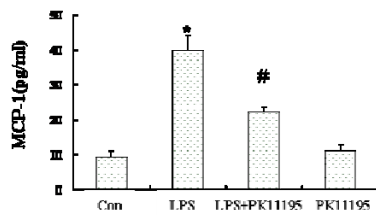


図2. ミクログリア株化細胞Ra2において、PK11195の処理により、LPS刺激によるケモカインMCP-1の放出は抑制された。

標であることを示唆した。また、PBRのアンタゴニストPK11195はLPS刺激による炎症性サイトカインTNF \cdot 、MCP-1の放出を部分的抑制した(図2)。これはPBR結合性薬剤の抗炎症薬としての可能性を示唆したもので、Alzheimer病などの神経炎症性疾患にPBRをターゲットとする治療戦略の可能性を示唆した。本研究により得られた知見は臨床研究で得られる所見を新たな視点から解析することに実験的根拠を提供した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

- ① 季 斌、樋口 真人、須原 哲也；脳内の「善玉」と「悪玉」を見分ける分子マーカー及びそのイメージング. ISOTOPE NEWS (661), 2-5, 2009
- ② 季 斌、樋口 真人、須原 哲也；神経変性疾患におけるグリア活性化反応の「善」と「悪」を見分ける分子イメージング. 放射線の科学 (52), 10-13, 2008
- ③ Bin Ji, Jun Maeda, Makoto Sawada, Maiko Ono, Takashi Okauchi, Motoki Inaji, Ming-Rong Zhang, Kazutoshi Suzuki, Kiyoshi Ando, Matthias Staufenbiel, John Q. Trojanowski, Virginia M.-Y. Lee, Makoto Higuchi and Tetsuya Suhara.

Imaging Of Peripheral Benzodiazepine Receptor Expression As Biomarkers Of Detrimental Versus Beneficial Glial Responses In Mouse Models Of Alzheimer's And Other CNS Pathologies. *Journal of Neuroscience*. 28. 12255-12267, 2008

- ④ Maeda J, Bin Ji, Irie T, Maruyama M, Okauchi T, Staufenbiel M, Iwata N, Saido T, Suzuki K, Higuchi M, Suhara T. Longitudinal, quantitative assessment of amyloid, neuroinflammation and anti-amyloid treatment in a living mouse model of Alzheimer's disease enabled by PET. *Journal of Neuroscience*. 27. 10957-10968, 2007
- ⑤ Maeda J, Higuchi M, Inaji M, Bin Ji, Haneda E, Okauchi T, Zhang MR, Suzuki K, Suhara T. Phase-dependent roles of reactive microglia and astrocytes in nervous system injury as delineated by imaging of peripheral benzodiazepine receptor. *Brain Research*. 1157. 100-111, 2007

[学会発表] (計1件)

- ① Bin Ji, Jun Maeda, Makoto Sawada, Maiko Ono, Takashi Okauchi, Motoki Inaji, Ming-Rong Zhang, Kazutoshi Suzuki, Kiyoshi Ando, John Q. Trojanowski, Virginia M.-Y. Lee, Makoto Higuchi and Tetsuya Suhara. PBR in astrocytes and microglia: relationship to negative and positive impacts of glial response to CNS pathologies. 38th The Society of Neuroscience (2008) Washington D.C.

[その他]

プレス発表: 脳内の「善玉」と「悪玉」

細胞を見分けるバイオマーカーを開発

(放射線医学総合研究所 平成20年11

月18日)

http://www.nirs.go.jp/news/press/2008/11_20-2.shtml

紹介記事: 脳内細胞の攻撃性識別 (日経産業新聞 2008年11月21日(金))

6. 研究組織

(1) 研究代表者

季 斌(Ji Bin)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子
イメージング研究センター・主任研究員

研究者番号：80392223