

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07972

研究課題名(和文) 白質脳症におけるミクログリアによるアストロサイトの制御機構

研究課題名(英文) Microglia-astrocyte crosstalk in leukoencephalopathies

研究代表者

他田 真理 (Tada, Mari)

新潟大学・脳研究所・准教授

研究者番号：30646394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、CSF1Rの遺伝子変異による遺伝性白質脳症、Adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP) 患者脳において、変性の程度に比して炎症性ミクログリアの増加が乏しく、一方で恒常性ミクログリアの減少が顕著であることを報告してきた。本研究では、ALSPの大脳白質におけるアストロサイトとミクログリアの分布相関を検討した。その結果、ミクログリアの機能不全によるアストロサイトへの制御機能の破綻がアストロサイトの異常な活性化を惹起し、白質変性が加速して進行するという仮説を支持する知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CSF1Rの遺伝子変異による遺伝性白質脳症、Adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP) を対象として組織学的に解析を進め、大脳白質維持においてミクログリアとアストロサイトが相関して役割を果たしている可能性を示した。大脳白質の恒常性維持機構の解明はアルツハイマー病などの加齢に伴い認知症をきたす疾患において極めて重要な課題であり、本研究で得られた知見はその足がかりとなり得る。

研究成果の概要(英文)：We have previously reported that in the brains of patients with adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP), an inherited leukoencephalopathy caused by mutations in the colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R) gene, the increase of inflammatory microglia is small in number and restricted in area relative to the degree of widespread white matter degeneration, whereas the decrease of homeostatic microglia is significant. In this study, we examined the correlation between the distribution of astrocytes and microglia in the cerebral white matter of ALSP. Our findings support the hypothesis that disruption of microglial control over astrocytes due to microglial dysfunction induces abnormal activation of astrocytes, leading to accelerated white matter degeneration.

研究分野：神経病理学

キーワード：microglia astrocyte ALSP TGF C3d

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会である本邦において、認知症への治療的介入は緊急の課題である。大脳白質病変は、血管性認知症のみではなく、アルツハイマー型認知症においても認知機能障害の進行への関与が示されており、白質病変の進行抑制は認知症治療のターゲットとして極めて重要である。しかし、神経変性疾患における白質病変の進展機序については未だ解明されていない。白質の恒常性維持におけるキープレイヤーは、ミクログリアとアストロサイトである。従って、それらの機能異常を引き起こす遺伝子変異により生じる遺伝性白質脳症、すなわち、ミクログリオパチーやアストロサイトパチーの病態解析は、白質病変の進行機序を解明する糸口として注目されている。中年期発症の進行性認知症を呈する常染色体優性遺伝性白質脳症である、Adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP)は、CSF1Rの遺伝子異常が原因である。CSF1Rは中枢神経系では主にミクログリアに発現し、その分化や機能維持に必須であるため、ALSPはミクログリオパチーとみなされている。我々はこれまで、ALSPがCSF1Rのハプロ不全や自己リン酸化障害で発症することを示し、さらに、患者脳において、ミクログリアの出現量の不足と脳内分布異常、細胞形態の異常、および、タンパク質合成の低下を示す超微形態異常を証明した (Konno, [Tada et al. Neurology, 2014](#), [Tada et al. Ann Neurol, 2016](#))。一方、ALSP患者脳では変性アストロサイトが散見され、また、CSF1R阻害剤を用いたミクログリア除去マウスでは、組織障害に対するアストロサイトの炎症性分子発現が亢進し、それにより組織障害が増強されている (Jin et al., 2017)。これらの知見から、ミクログリアの機能不全によるアストロサイトへの制御機能の減弱が、アストロサイトの異常な活性化を惹起し、それらが相乗して白質変性を引き起こしている可能性が疑われた。

### 2. 研究の目的

本研究では、ミクログリオパチーをモデルとして、ミクログリアによるアストロサイトへの制御機構の破綻と、その白質変性への関与を明らかにすること、そして、その正常化を目的とした治療介入の標的となりうる鍵分子を見出すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

- ・ 免疫染色、および *in situ* hybridization を用いたミクログリアとアストロサイトの活性化や変性の状態や分布を評価し、組織変性との関連を評価した。
- ・ アストロサイトの活性化や、炎症促進表現形化に影響することが既知である分子に注目して、それを標識する抗体の validation を行なった
- ・ 正常で観察されるミクログリアとアストロサイトの突起の接触や近接の減少も支持的所見として予想され、組織透明化技術を用いた 3D 解析により空間的距離の観察を試みた。

### 4. 研究成果

#### ミクログリアについて

- ・ ALSP 患者脳において、P2ry12 陽性の恒常性ミクログリアは皮質および白質において、分布が不均等となり、かつ量的に減少していた。
- ・ ALSP 患者脳白質には、ramified ミクログリアの形態を示しながら、Iba1 や P2ry12 陰性で、HLA class II や CD163, CD68 など活性型マーカーで陽性になるミクログリアが認められた。

- ・ CD68 や HLA class II、CD163 陽性の活性型ミクログリアは変性のごく初期の部位に出現し、集簇する。しかし、これらの集簇しているミクログリアは必ずしも活性型の形態を示さず、狭小な胞体から突起を伸ばしており、Iba1 による観察のみでは恒常性ミクログリアとの区別は困難であり、活性化状態を判断するためには複数の抗体による標識が必要であった。
- ・ In situ hybridization により、白質の集簇しているミクログリアの一部は、disease-associated microglia marker の 1 つである、SPP1 の発現が認められた。

#### アストロサイトについて

- ・ ALSP の傷害されている白質にはびまん性かつ高度の線維性アストロサイトーシスを認めた。
- ・ 比較的傷害の軽度の部位において、C3d で標識される A1 アストロサイトが散見された。また、GFAP の消失は認めないものの、突起の断片化を伴う変性アストロサイトが散在していた。
- ・ ALSP で特異的に強く変性する脳梁において、比較的保たれている部位で高度の反応性アストロサイトの出現があり、これらは bizarre な形態を呈していた。

#### ミクログリアとアストロサイト、白質変性の関連について

- ・ P2ry12 陽性の恒常性ミクログリアと TGF 受容体を発現しているアストロサイトの分布が概ね重なることを見出した (図 1)。このことから、恒常性ミクログリアの消失している部位におけるアストロサイトの異常活性化が生じている可能性が示唆された。
- ・ CD68 で強く標識されるマクローファージと C3d 陽性アストロサイトの分布は一致せず、C3d 陽性アストロサイトと白質変性を示す軸索スフェアロイドの分布も必ずしも重ならなかった。

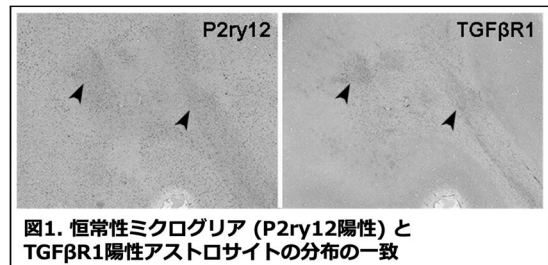


図1. 恒常性ミクログリア (P2ry12陽性) と TGFβR1陽性アストロサイトの分布の一致

#### 結果のまとめ

- ・ ALSP の白質におけるミクログリアの評価は形態や単一の抗体による免疫染色では困難であり、複数の分子の発現を考慮して行う必要がある。
- ・ C3d 陽性アストロサイトの出現を認め、病態進展への A1 アストロサイトの関与が疑われた。一方で、それらの出現様式は必ずしも活性型ミクログリアやマクローファージ、白質変性程度の分布と一致せず、相互の関連はさらなる検討を要すると考えられる。
- ・ 恒常性ミクログリアの分布と、TGF R1 陽性アストロサイトの分布の類似性を認めたことから、TGF シグナリング経路が、ミクログリアとアストロサイトの相互に恒常性維持に関わっている可能性が示唆された。

#### 今後の方針

- ・ 白質内において、各種抗体で標識されるミクログリアおよびアストロサイトの分布様式は均一ではなく、お互いに関連しながらダイナミックに変化していることが想定される結果であった。このことから、今後は、まず、組織上での様々な標的分子の発現分布を検討してゆく必要がある。新技術である空間的遺伝子発現解析はそれを進める上で有望なツールであり、従来の in situ hybridization、免疫染色、in vitro の実験に組み合わせて行くことで本研究の結果をより発展させることができると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Ishihara Tomohiko, Koyama Akihito, Hatano Yuya, Takeuchi Ryoko, Koike Yuka, Kato Taisuke, Tada Mari, Kakita Akiyoshi, Onodera Osamu	4. 巻 178
2. 論文標題 Endogenous human retrovirus-K is not increased in the affected tissues of Japanese ALS patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 78 ~ 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2022.01.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sainouchi Makoto, Tada Mari, Fitrah Yusran Ady, Hara Norikazu, Tanaka Kou, Idezuka Jiro, Aida Izumi, Nakajima Takashi, Miyashita Akinori, Akazawa Kohei, Ikeuchi Takeshi, Onodera Osamu, Kakita Akiyoshi	4. 巻 48
2. 論文標題 Brain TDP 43 pathology in corticobasal degeneration: Topographical correlation with neuronal loss	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropathology and Applied Neurobiology	6. 最初と最後の頁 e12786
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nan.12786	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Toyoshima Yasuko, Takahashi Hitoshi, Katada Shinnichi, Kojima Naoyuki, Tada Mari, Tani Takashi, Koike Ryoko, Nozawa Takanori, Aida Izumi, Nakajima Takashi, Onodera Osamu, Kakita Akiyoshi	4. 巻 41
2. 論文標題 Parkinson's disease and parkinsonism: Clinicopathological discrepancies on diagnosis in three patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 450 ~ 456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12777	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koike Yuka, Sugai Akihiro, Hara Norikazu, Ito Junko, Yokoseki Akio, Ishihara Tomohiko, Yamagishi Takuma, Tsuboguchi Shintaro, Tada Mari, Ikeuchi Takeshi, Kakita Akiyoshi, Onodera Osamu	4. 巻 4
2. 論文標題 Age-related demethylation of the TDP-43 autoregulatory region in the human motor cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02621-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasahara Tomoya, Satomura Kaori, Tada Mari, Kakita Akiyoshi, Hoshi Minako	4. 巻 24
2. 論文標題 Alzheimer's A assembly binds sodium pump and blocks endothelial NOS activity via ROS-PKC pathway in brain vascular endothelial cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102936 ~ 102936
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102936	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sainouchi Makoto, Hatano Yuya, Tada Mari, Ishihara Tomohiko, Ando Shoichiro, Kato Taisuke, Tokunaga Jun, Ito Gaku, Miyahara Hiroaki, Toyoshima Yasuko, Yokoseki Akio, Ozawa Tetsutaro, Akazawa Kohei, Onodera Osamu, Kakita Akiyoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 A novel splicing variant of ANXA11 in a patient with amyotrophic lateral sclerosis: histologic and biochemical features	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-021-01202-w.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishihara Tomohiko, Koyama Akihideo, Hatano Yuya, Takeuchi Ryoko, Koike Yuka, Kato Taisuke, Tada Mari, Kakita Akiyoshi, Onodera Osamu	4. 巻 178
2. 論文標題 Endogenous human retrovirus-K is not increased in the affected tissues of Japanese ALS patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 78 ~ 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2022.01.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sainouchi Makoto, Tada Mari, Fitrah Yusran Ady, Hara Norikazu, Tanaka Kou, Idezuka Jiro, Aida Izumi, Nakajima Takashi, Miyashita Akinori, Akazawa Kohei, Ikeuchi Takeshi, Onodera Osamu, Kakita Akiyoshi	4. 巻 48
2. 論文標題 Brain TDP 43 pathology in corticobasal degeneration: Topographical correlation with neuronal loss	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropathology and Applied Neurobiology	6. 最初と最後の頁 e12786
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nan.12786	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toyoshima Yasuko, Takahashi Hitoshi, Katada Shinnichi, Kojima Naoyuki, Tada Mari, Tani Takashi, Koike Ryoko, Nozawa Takanori, Aida Izumi, Nakajima Takashi, Onodera Osamu, Kakita Akiyoshi	4. 巻 41
2. 論文標題 Parkinson's disease and parkinsonism: Clinicopathological discrepancies on diagnosis in three patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 450 ~ 456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12777	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koike Yuka, Sugai Akihiro, Hara Norikazu, Ito Junko, Yokoseki Akio, Ishihara Tomohiko, Yamagishi Takuma, Tsuboguchi Shintaro, Tada Mari, Ikeuchi Takeshi, Kakita Akiyoshi, Onodera Osamu	4. 巻 4
2. 論文標題 Age-related demethylation of the TDP-43 autoregulatory region in the human motor cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02621-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasahara Tomoya, Satomura Kaori, Tada Mari, Kakita Akiyoshi, Hoshi Minako	4. 巻 24
2. 論文標題 Alzheimer's A assembly binds sodium pump and blocks endothelial NOS activity via ROS-PKC pathway in brain vascular endothelial cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102936 ~ 102936
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102936	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sainouchi Makoto, Hatano Yuya, Tada Mari, Ishihara Tomohiko, Ando Shoichiro, Kato Taisuke, Tokunaga Jun, Ito Gaku, Miyahara Hiroaki, Toyoshima Yasuko, Yokoseki Akio, Ozawa Tetsutaro, Akazawa Kohei, Onodera Osamu, Kakita Akiyoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Correction to: A novel splicing variant of ANXA11 in a patient with amyotrophic lateral sclerosis: histologic and biochemical features	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-021-01217-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Prudencio Mercedes, Garcia-Moreno Hector, Jansen-West Karen R., Tada Mari, Petrucelli Leonard et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 Toward allele-specific targeting therapy and pharmacodynamic marker for spinocerebellar ataxia type 3	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 eabb7086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scitranslmed.abb7086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Saito Rie, Hara Norikazu, Tada Mari, Honma Yoshiaki, Miyashita Akinori, Onodera Osamu, Ikeuchi Takeshi, Kakita Akiyoshi	4. 巻 8
2. 論文標題 Novel CHP1 mutation in autosomal-recessive cerebellar ataxia: autopsy features of two siblings	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-020-01008-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Watabe Kazuhiko, Kato Yoichiro, Sakuma Miho, Murata Makiko, Niida Kawaguchi Motoko, Takemura Taro, Hanagata Nobutaka, Tada Mari, Kakita Akiyoshi, Shibata Noriyuki	4. 巻 40
2. 論文標題 Praj1 RING finger E3 ubiquitin ligase suppresses neuronal cytoplasmic TDP 43 aggregate formation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 570 ~ 586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12694	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mori F, Tada M, Kon T, Miki Y, Tanji K, Kurotaki H, Tomiyama M, Ishihara T, Onodera O, Kakita A, Wakabayashi K.	4. 巻 7
2. 論文標題 Phosphorylated TDP-43 aggregates in skeletal and cardiac muscle are a marker of myogenic degeneration in amyotrophic lateral sclerosis and various conditions.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-019-0824-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 他田真理、柿田明美	4. 巻 37
2. 論文標題 TDP-43 プロテインパチー(1) 前頭側頭葉変性症 (FTLD)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 病理と臨床	6. 最初と最後の頁 1131-1137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 他田真理
2. 発表標題 Clinicopathologic features of a patient with nemaline myopathy and intellectual disability harboring a ADSSL1 mutation
3. 学会等名 第62回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 他田真理
2. 発表標題 新規TBK1遺伝子変異を伴う孤発性筋萎縮性側索硬化症の2剖検例の臨床病理学的検討
3. 学会等名 第61回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 他田真理
2. 発表標題 遺伝性白質脳症：病理から見た病態形成
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 他田真理
2. 発表標題 脱髄・白質脳症
3. 学会等名 第60回日本神経病理学会総会学術研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 他田真理、柿田明美 編集：下畑享良	4. 発行年 2019年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 272
3. 書名 非定型パーキンソニズム 基礎と臨床	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	池内 健  (Ikeuchi Takeshi)  (20372469)	新潟大学・脳研究所・教授   (13101)	
研究分担者	竹林 浩秀  (Takebayashi Hirohide)  (60353439)	新潟大学・医歯学系・教授   (13101)	
研究分担者	加藤 隆弘  (Kato Takahiro)  (70546465)	九州大学・大学病院・准教授   (17102)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	柿田 明美  (Kakita Akiyoshi)  (80281012)	新潟大学・脳研究所・教授    (13101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関