

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16271

研究課題名(和文)酸化ストレス下における神経炎症を介した神経細胞死誘導機構の解明

研究課題名(英文) Neuronal glutathione loss leads to neuronal cell death accompanied by neuroinflammation

研究代表者

橋本 翔子 (Hashimoto, ShokoShoko)

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・研究員

研究者番号：50632890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：グルタチオンの量は老化や神経変性疾患によって減少することが報告されている。本研究では、脳におけるグルタチオン減少が神経変性に及ぼす影響を解析した。グルタチオン減少の脳への影響を解析するため、グルタチオン合成酵素であるGCLCのノックアウトマウス(GCLC-KO)の脳の病理解析を行った。GCLC-KOは、激しい神経炎症と神経細胞死に伴う顕著な脳萎縮を示した。さらに、Disease-Associated-Microglia遺伝子の発現、炎症性細胞死マーカー、ミクログリアによる神経細胞の貪食に関わる補体の上昇がみられた。以上より、グルタチオン減少は、神経炎症性の細胞死を引き起こすと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病などの神経変性疾患における酸化ストレスの重要性を再確認することができた。さらに、酸化ストレスから神経変性までのメカニズムを明らかにしたことで、今後の酸化ストレス、神経炎症、神経変性疾患研究の促進につながる。また、酸化ストレスをターゲットとした神経変性疾患治療薬の開発にもつながる研究である。

研究成果の概要(英文)：To defend against oxidative stress, organisms possess glutathione as an important antioxidant. However, glutathione level is decreased with ageing and progression of diseases including AD. Glutathione is synthesized through a reaction by Glutamyl-Cysteine ligase (GCL), which consists of catalytic subunit (GCLC) and modifier subunit (GCLM). We analyzed the brain pathologies of brain specific-conditional knockout mouse of GCLC (GCLC-cKO). In 3-month-old GCLC-cKO mice, we could see severe neuroinflammation. In 8-month-old, we observed significant brain atrophy caused by neuronal cell death. Moreover, we found significant increase in disease-associated microglia (DAM) and disease-associated astrocyte (DAA) markers, activation of C1q-mediated phagocytosis, and contribution of Gasdermine-mediated pyroptosis to neurodegeneration in GCLC-cKO. From our findings, we propose the mechanism by which a vicious cycle of oxidative stress and neuroinflammation facilitates neurodegenerative processes.

研究分野：神経科学

キーワード：グルタチオン 酸化ストレス アルツハイマー病 神経変性疾患

## 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病(AD)進行への酸化ストレスの関与が、多くの研究によって示されてきた。例えば、ADのリスク因子である「老化」は酸化ストレスの原因となる活性酸素種(ROS)を増加させる。さらに、ADの代表的な病理であるタンパク質の凝集、ミトコンドリア障害、神経炎症もまたROSの発生源である。その一方、ROSの消去を担う内在性抗酸化物質であるグルタチオン量は、高齢者及びAD患者の脳で低い値を示す。申請者は、グルタチオン減少による酸化ストレスの亢進が脳へ及ぼす影響を検証するため、グルタチオン合成の律速酵素である Glutamyl Cysteine Ligase (GCL) のうち活性中心を含むサブユニット GCL Catalytic subunit (GCLC) の脳特異的コンディショナルノックアウトマウス(GCLC-KO)について脳の病理学的解析を行った。その結果、グルタチオン欠乏は、直接的に神経細胞死へ至らしめるのではなく、神経炎症を介して神経細胞死を招くと推察される結果を得た。しかし、酸化ストレス下において、グリア細胞からどのような因子が分泌され、どのような機序で細胞死を引き起こすのかは不明であった。

## 2. 研究の目的

グルタチオン欠乏による酸化ストレスは、神経炎症を介して神経細胞死を引き起こすと考えられる。本研究計画では、グルタチオン欠乏マウスを用い、酸化ストレス下において、グリア細胞(アストロサイト・ミクログリア)がどのように神経細胞死を誘導するのか、そのメカニズムを解明する。

## 3. 研究の方法

GCL Catalytic subunit (GCLC) の脳特異的コンディショナルノックアウトマウス(GCLC-KO)の脳サンプルを用いたプロテオミクス解析、サイトカインアレイ解析などから、神経細胞死に関わる神経炎症性因子を同定した。さらに同定した因子のノックアウトマウスなどを使って、同定した因子が、どのようにグルタチオン減少下における神経細胞死に関与するのかを解析した。

## 4. 研究成果

グルタチオン低下マウスでみられる神経変性において、神経炎症がどのように関与するかを明らかにするため、グルタチオン低下マウス脳サンプルを用いた、プロテオミクス解析を行った。その結果、グルタチオンが低下している状況下においては、1 - 4のような神経炎症性のシグナルが活性化していることがわかった。

1. C1qという補体タンパク質を介した、ミクログリアによる神経細胞の貪食シグナルが神経変性に伴う脳萎縮に関わっている。プロテオミクス解析において、GCLC-KOでC1qが顕著に増加していることが見出された。実際に、GCLC-KOマウスサンプルを用いた免疫染色やウェスタンブロット解析においても、C1qの神経細胞における増加が確認できた。

2. パイロトーシス(ガスダーミンの活性化がきっかけとなって生じる炎症性細胞死)が神経細胞死に関与している。GCLC-KOにおいて、ガスダーミンファミリーである Gasdermin(GSDM) Dと、GSDMEの活性化が認められた。さらに、GSDME-KOとGCLC-KOとを掛け合わせることで、GCLC-KOの海馬の萎縮が抑制された。

3. さまざまな炎症性サイトカイン・ケモカインが活性化しておりそのシグナルによって神経細

胞死を引き起こしている。サイトカインアレイにおいて、GCLC-KO におけるいくつかのサイトカイン、ケモカインの増加が検出された。

4 . Disease-associated microglia (DAM)といわれる、神経変性に関わりの深いミクログリアが増加している。GCLC-KO を用いた RNA-seq 解析、RT-PCR 解析において、DAM のマーカーといわれる因子の顕著な上昇が認められた。また、Disease-associated astrocyte (DAA)マーカーも顕著に上昇していた。

以上のことから、神経炎症・酸化ストレスの悪循環が進行することで、神経変性が促進されることが考えられ、そのプロセスにおいては1 - 4のような、神経炎症関連メカニズムが関与していることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 橋本翔子、松葉由紀夫、釜野直子、西道隆臣
2. 発表標題 酸化ストレス下における神経炎症を介した神経変性メカニズムの解析
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋本 翔子
2. 発表標題 Mechanisms of redox perturbation in the App-knockin mouse model of Alzheimer's disease
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会（NEUR02019）（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------