

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26830040

研究課題名(和文) 善悪二面性を有するミクログリアのなかで保護的性質を決定する内在性因子は何か？

研究課題名(英文) Analysis of microglial polarization switching.

研究代表者

田中 達英 (Tanaka, Tatsuhide)

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：80567032

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：傷害性ミクログリア(MG)や保護性MGの性質を制御している内在性因子として、転写因子であるIRF7に着目した。IRF7の発現をsiRNAでノックダウンするとLPS誘導性の傷害性MGマーカの発現量は抑制された。さらにミクログリアを保護性MGから傷害性MGにシフトさせた時の傷害性MGマーカ発現量もIRF7発現をsiRNAでノックダウンしたもので抑制された。これらのことから、IRF7は傷害性MGマーカの発現を制御していることが明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：Microglia are generally considered the immune cells of the central nervous system. Recent studies have demonstrated that under specific polarization conditions, microglia develop into two different phenotypes, termed M1-like and M2-like microglia. However, the phenotypic characteristics of M1-like- and M2-like-polarized microglia and the mechanisms that regulate polarization are largely unknown. We found that expression of interferon regulatory factor 7 (IRF7) increased during the M2-like to M1-like switch in microglia in vitro and in vivo. Knockdown of IRF7 using siRNA suppressed the expression of M1 marker mRNA and reduced phosphorylation of STAT1. Our findings suggest that IRF7 signaling may play an important role in microglial polarization switching.

研究分野：神経化学

キーワード：ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

活性化型ミクログリアは障害を受けた神経細胞を排除し、神経栄養因子などの液性因子を産生して神経細胞の修復や再生に寄与する一方、神経変性疾患や多発性硬化症、脳腫瘍などの多岐にわたる病態の病変部に集積し、神経細胞死を引き起こして病状を悪化させることが報告されている。活性化ミクログリアは組織傷害性細胞としての側面と保護性細胞としての側面を持つことから、脳組織に対して活性化ミクログリアは“善”なのか“悪”なのか、今なおその二面性が議論されている。この二面性は細胞内でどのように制御されているのかは明らかにされていない。

2. 研究の目的

ミクログリアの傷害的機能と保護的機能の一方を理解するだけでなく、多彩なミクログリアの生理機能を解明することが、様々な脳疾患に対する有効な治療法につながることを期待できると考えられる。申請者は、ミクログリアの傷害的性質の決定と保護的性質の決定には **switch** 因子が存在すると考えており、この考えに基づいてミクログリアの病態への方向性（軽減か憎悪か）を決定する分子機序の解明に着手した。本研究では傷害性ミクログリアと保護性ミクログリアの **switching** を制御するマスター因子を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究ではミクログリアの **switch** 因子の同定を試みた。RT-PCR 法、ウェスタンブロット法で数種類の候補因子を絞り込んだ。さらに、絞り込んだ転写因子群が初代培養ミクログリアにおいて LPS 刺激や IL-4 刺激で発現上昇するかを確認した。

4. 研究成果

本研究では、傷害性ミクログリアや保護性ミクログリアの性質を制御している内在性因子として、転写因子である **IRF7** に着目した。ミクログリアを傷害性ミクログリアに分化させると **IRF7** の発現量が上昇するが、保護性ミクログリアへシフトさせると、**IRF7** の発現量は時間依存的に減少した。一方で保護性ミクログリアから傷害性ミクログリアにシフトさせると **IRF7** の発現量は時間依存的に上昇することを明らかにした。

IRF7 は *in vitro* において傷害性ミクログリアまたは保護性ミクログリアから傷害性ミクログリアにシフトさせた時に発現が上昇することから、**IRF7** の傷害性ミクログリアマーカーに及ぼす影響について検討した。**IRF7** の発現を **siRNA** でノックダウンすると **LPS** 誘導性の傷害性ミクログリアマーカーの発現量は抑制された。さらにミクログリアを保護性ミクログリアから傷害性ミクログリアにシフトさせた時の傷害性ミクログリアマーカー発現量も **IRF7** 発現を **siRNA** でノックダウンしたもので抑制された。これらのことから、**IRF7** は傷害性ミクログリアマーカーの発現を制御していることが明らかにすることができた。

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. **Tanaka T**, Murakami K, Bando Y, Nomura T, Isonishi A, Morita-Takemura S, Tatsumi K, Wanaka A, Yoshida S, Microglia support ATF3-positive neurons following hypoglossal nerve axotomy. *Neurochemistry International*. in press.

2. Murakami K, **Tanaka T**, Bando Y, Yoshida S. Nerve injury induces the expression of syndecan-1 heparan sulfate proteoglycan in primary sensory neurons. *Neuroscience*. 300: 338-350, 2015
3. Bando Y, Nomura T, Bochimoto H, Murakami K, **Tanaka T**, Watanabe T, Yoshida S. Abnormal Morphology of Myelin and Axon Pathology in Murine Models of Multiple Sclerosis. *Neurochem. Int.* 81: 16-27, 2015
4. **Tanaka T**, Murakami K, Bando Y, Yoshida S. Interferon regulatory factor 7 participates in the M1-like microglial polarization switch. *GLIA*. 63: 595-610, 2015
5. **Tanaka T**, Yoshida S, Mechanisms of remyelination: recent insight from experimental models. *Biomol concepts*. 5: 289-298, 2014

[学会発表] (計 13 件)

1. **田中達英**、村上公一、板東良雄、野村太一、石西綾美、森田・竹村晶子、辰巳晃子、和中明生、吉田成孝、「運動神経損傷後の神経細胞体周囲に集積するミクログリアの機能」第12回日本解剖学会(長崎) 2017年3月
2. **田中達英**、村上公一、野村太一、板東良雄、吉田成孝、「舌下神経損傷後のミクログリアの機能」第39回日本神経科学会(横浜) 2016年7月

3. **田中達英** 中枢神経系におけるミクログリアの機能解析 第53回日本生化学会北海道支部例会(札幌) 2016年7月
4. **田中達英**、村上公一、野村太一、板東良雄、吉田成孝、「舌下神経損傷後に起こる活性化ミクログリアの機能」第88回日本生化学会(神戸) 2015年12月
5. **田中達英**、村上公一、野村太一、板東良雄、吉田成孝、「舌下神経損傷後に起こる活性化ミクログリアの機能」第58回日本神経科学会(埼玉) 2015年9月
6. **田中達英**、村上公一、板東良雄、吉田成孝、「舌下神経損傷後に起こる活性化ミクログリアの機能」第38回日本神経科学会(神戸) 2015年7月
7. **田中達英**、村上公一、野村太一、板東良雄、吉田成孝、「神経損傷後に神経細胞体周囲に集積する活性化ミクログリアの機能」第52回日本生化学会北海道支部例会(札幌) 2015年7月
8. **田中達英**、村上公一、板東良雄、吉田成孝、「M1-like ミクログリアへの極性スイッチには interferon regulatory factor 7 が関与する」第120回日本解剖学会(神戸) 2015年3月
9. **田中達英**、村上公一、板東良雄、吉田成孝、「細胞外刺激に応じたミクログリアの機能変化」第37回日本神経科学会(横浜) 2014年9月
10. **田中達英**、村上公一、板東良雄、吉田成孝、「細胞外刺激に応じたミクログリアの機能変化」第51回日本生化学会北海

道支部例会（札幌）2014年7月

11. **Tanaka T**, Murakami K, Bando Y, Yoshida S. Perineuronal microglia support regenerable neuron following hypoglossal nerve axotomy.

Keystone symposia, Microglia in the brain (Colorado, USA) 2016年6月

12. **Tanaka T**, Murakami K, Bando Y, Yoshida S. Interferon regulatory factor 7 participates in the M2-like to M1-like microglial polarization switch.

Keystone symposia, Neuroinflammation in diseases of the Central Nervous System (Taos, USA) 2015年1月

13. **Tanaka T**, Murakami K, Bando Y, Yoshida S. Changes of microglial characters in response to extracellular stimulation.

Society for Neuroscience 2014. (Washington, DC, USA) 2014年11月

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 達英(TANAKA, Tatsuhide)

奈良県立医科大学 医学部 講師

研究者番号：80567032

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()