

令和元年6月22日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07041

研究課題名(和文) ミクログリアの異常がなぜ白質変性をきたすのか：疾患脳とモデルマウスの解析から

研究課題名(英文) Microglial involvement in the pathomechanisms of white matter degeneration

研究代表者

他田 真理 (Tada, Mari)

新潟大学・脳研究所・助教

研究者番号：30646394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids (HDLS)は、原因遺伝子によりコードされるCSF-1Rが中枢神経系では主にミクログリアに発現していることから、ミクログリオパチーと考えられている。本研究では、HDLS患者脳組織とミクログリア特異的CSF-1Rノックアウトマウスの組織学的、生化学的解析を行い、ミクログリオパチーであるという観点から白質変性の発生機序解明を試みた。HDLS患者脳においては、ミクログリアの量的低下と分布異常、形態異常を認め論文報告した。モデルマウスでは同様のミクログリアの表現形を得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミクログリアについては、これまで、主に、異常活性化により神経細胞変性や白質障害を惹起している可能性が考えられてきた。しかし、本研究により、ミクログリアの正常な機能の不足が白質変性を来たしうることが示唆され、白質の恒常性維持機構を考える上で有用な知見が得られたと考えられる。特に、加齢に伴う白質変性は認知症の一因として重要であり、ミクログリアの関与が注目されている。従来考えられている、加齢に伴うミクログリアの炎症性変化とは別に、加齢によるミクログリアの機能不全、反応低下という可能性があることが示唆され、今後の病態解明に向けた新たな方向性が提示された。

研究成果の概要(英文)： Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids (HDLS) is caused by the mutation of a gene encoding the colony stimulating factor-1 receptor (CSF-1R). In the CNS, the receptor is expressed predominantly in microglia, and therefore HDLS has recently been considered one of the primary microglial disorders known as microgliopathies. However, there has been little direct evidence to characterize HDLS as a microglial disorder. In this study, we analyzed histologically and biochemically brains of patients with HDLS and also microglia specific CSF-1R knock out mice. In HDLS brains, microglia showed reduction in number in less affected areas, maldistribution, and abnormality of ultra fine structures. These features implied the focal deficiency of microglial functions in the brain of HDLS. While microglial features similar to those were not observed in the brains of model mice used in this study.

研究分野：神経病理学、神経内科学

キーワード：ミクログリア マクロファージ 遺伝性白質脳症 白質

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

#### 1 . 研究開始当初の背景

軸索スフェロイド形成を伴う遺伝性びまん性白質脳症 ( Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids : HDLS ) は成人発症の常染色体優性遺伝性白質脳症である . 臨床的に , 認知行動障害で発症し , 錐体路徴候やパーキンソニズム等の運動障害やてんかん発作が加わり , 発症後 5 年前後で無動性無言に陥る . 病理学的には , 軸索スフェロイドを伴う広範な白質変性と色素性マクロファージの出現を認めることが特徴である ( 今野 , 他田ら . 2014 ) . 2012 年に , HDLS の原因遺伝子として CSF-1R が同定された ( Rademakers et al . 2012 ) . CSF-1R は貪食細胞系の細胞表面に発現しているチロシンキナーゼ受容体であり , リガンドである CSF-1 や IL-34 の結合を受けて自己リン酸化することにより活性化し , 細胞内シグナルを伝え , 細胞の分化 , 増殖 , 存続や機能に参与している . CSF-1R が中枢神経系では主にミクログリアに発現していることから , 病態に一次的にミクログリアが関与する病態 , すなわちミクログリオパチーとして近年注目されてきた . しかし , その白質変性機序は未解明である .

#### 2 . 研究の目的

HDLS 患者脳組織とミクログリア特異的 CSF-1R ノックアウトマウスの組織学的 , 生化学的解析を行い , ミクログリオパチーであるという観点から白質変性の発生機序解明を試みる . また , 画像や臨床情報と合わせて検討することで , 脳内の病変の進展様式を明らかにし , HDLS の発症病態を理解する .

#### 3 . 研究の方法

HDLS におけるミクログリアの機能不全による白質変性の機序を検討するため , 大きく以下の 2 つの方法で研究を進めた .

1. 患者脳生検 , 剖検組織を用い , 免疫組織化学 , in situ hybridization , イムノプロット等の手法により , 組織変性の進行過程 , およびそれとミクログリア , マクロファージの出現状態との関連を解析し , 他の白質変性疾患との比較を行った .
2. Iba1 選択性 CSF-1R コンディショナルノックアウトマウス ( Csflr<sup>lox/lox</sup>; Iba1<sup>Cre/Cre</sup> ) の脳組織を , 免疫組織化学等の手法により組織学的に解析し , HDLS 患者脳で認められたミクログリアやマクロファージの所見との比較検討を行った .

#### 4 . 研究成果

1. 患者脳組織標本の解析により以下の所見が確認できた .
  - 1) 患者の Iba1 陽性ミクログリアは変性の程度に必ずしも合致せずに , 限局した部位に群集する分布異常を示す . この傾向は , 大脳白質のみではなく , 大脳皮質や皮質下灰白質 , 小脳や脳幹においても認められ , 変性が認められる部位でより明らかであった .
  - 2) HDLS 患者脳の小脳皮質および大脳皮質 3-4 層において , Iba1 陽性ミクログリアは非疾患脳に比し減少していた . さらに , HDLS 患者脳の皮質を用いたミクログリアマーカーを用いたイムノプロットでは , 他の疾患脳に比し , 発現が低下していた .
  - 3) ミクログリアが群集している部分には , 非疾患脳に比し高頻度に増殖期 ( Ki67 陽性 ) のミクログリアが見られた .
  - 4) 電子顕微鏡による観察によりミクログリアの粗面小胞体の小胞化とリボゾームの離散が認められた .

以上の所見から , HDLS 患者脳においては , ミクログリアの量的不足と分布異常 , 機能不全により , 局所的には , ミクログリアの正常機能の不足が生じていることが推測できた .

2. Iba1 選択性 CSF-1R コンディショナルノックアウトマウス ( Csflr<sup>lox/lox</sup>; Iba1<sup>Cre/Cre</sup> ) の脳組織の組織学的解析では , 患者脳で観察された様なミクログリアの形態や分布の異常は再現されておらず , HDLS の病態を探索する上での疾患モデルとして適切でないと考えられた . この原因としては , ヒトとマウスにおける白質の構造的な違いや , 加齢の影響の違いが考慮される . HDLS の疾患病態を研究するためのモデル動物については , 再検討が必要であると考えられた .

#### 5 . 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] ( 計 8 件 )

1. 他田 真理, 柿田 明美. 【非アルツハイマー型認知症の病理学】前頭側頭葉変性症の組織学的分類. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩 2018; 70(5): 501-516 査読なし
2. 他田 真理, 柿田 明美. 臨床医のための神経病理再入門 ミクログリアの組織学的特徴. Clinical Neuroscience 2018; 36(3): 276-277 査読なし
3. Ito J, Shimada T, Tada M, Kakita A, et al. Clinicopathologic Features of Two Patients With Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis Who Maintained Communication Ability for Over 30 Years. Journal of neuropathology and experimental neurology 2018; 77(11): 981-986 査読あり
4. Saito R, Tada M, Toyoshima Y, Kakita A, et al. Loss of Motor Neurons Innervating Cervical Muscles in Patients With Multiple System Atrophy and Dropped Head. Journal of neuropathology and experimental neurology 2018; 77(4): 317-324 査読あり
5. Hoshi A, Tsunoda A, Yamamoto T, Tada M, Kakita A, et al. Altered expression of glutamate transporter-1 and water channel protein aquaporin-4 in human temporal cortex with Alzheimer's disease. Neuropathol Appl Neurobiol. 2018; 44(6): 628-638 査読あり
6. Hoshi A, Tsunoda A, Tada M, Kakita A, et al. Expression of Aquaporin 1 and Aquaporin 4 in the Temporal Neocortex of Patients with Parkinson's Disease. Brain pathology 2017; 27(2): 160-168 査読あり
7. Takeuchi R, Tada M, Shiga A, Kakita A, et al. Heterogeneity of cerebral TDP-43 pathology in sporadic amyotrophic lateral sclerosis: Evidence for clinico-pathologic subtypes. Acta neuropathologica communications 2016; 4(1): 61 査読あり
8. Tada M, Konno T, Tada M, Kakita A, et al. Characteristic microglial features in patients with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids. Annals of neurology 2016; 80(4): 554-565 査読あり

〔学会発表〕(計7件)

1. 19th International Congress of Neuropathology (2018年9月25日東京) シンポジウム  
Mari Tada, Akiyoshi Kakita: Adult-onset leukoencephalopathy with spheroids and pigmented glia (ALSP): pathologic features suggestive of “Microgliopathy”.
2. 第59回日本神経学会学術大会(2018年5月26日札幌) シンポジウム  
他田真理, 柿田明美: 神経軸索スフェロイドを伴う遺伝性びまん性白質脳症(HDLS)の臨床と病理.
3. 36回日本認知症学会学術集会(2017年11月26日金沢) シンポジウム  
他田真理, 柿田明美: 認知症を呈する白質脳症におけるグリア細胞の関与.
4. 第58回日本神経病理学会総会学術研究会(2017年6月2日東京) ポスター  
他田真理, 竹内亮子, 富田逸郎, 柿田明美ら: 臨床的に MELAS と鑑別診断を要した家族性成人型神経核内封入体病の姉弟例.
5. 23th World Congress of Neurology (2017年9月21日京都) ポスター  
Mari Tada, Takuya Konno, Masayoshi Tada, Akiyoshi Kakita, et al.: Characteristic microglial features in patients with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids caused by mutations of the gene encoding the colony stimulating factor-1 receptor.
6. 第57回日本神経学会学術大会(2016年5月21日神戸) ポスター  
Mari Tada, Takuya Konno, Masayoshi Tada, Akiyoshi Kakita, et al. Microglial appearance in the white matter of hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids.

7. 第 57 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2016 年 6 月 2 日弘前) ポスター

Mari Tada, Takuya Konno , Masayoshi Tada , Akiyoshi Kakita, et al. Microglial appearance in the white matter of hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids.

〔図書〕(計 1 件)

他田真理, 柿田明美. II-1. 多系統萎縮症. c 病理. 文光堂. 非定型パーキンソンズム - 基礎と臨床 - . 下畑享良編. 2019, 94-99

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

新潟大学脳研究所ホームページ (研究成果・実績)

<http://www.bri.niigata-u.ac.jp/result/path/000825.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：柿田 明美

ローマ字氏名：Kakita, Akiyoshi

所属研究機関名：新潟大学

部局名：脳研究所

職名：教授

研究者番号 (8 桁) : 80281012

(2)研究協力者

研究協力者氏名：池内 健

ローマ字氏名：Ikeuchi, Takeshi

研究協力者氏名：竹林 浩秀

ローマ字氏名：Takebayashi, Hirohide

研究協力者氏名：橋本 浩一

ローマ字氏名：Hashimoto Koichi

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。