

令和 4 年 9 月 1 日現在

機関番号：37604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07574

研究課題名(和文) EP2受容体阻害薬によるアルツハイマー病の治療の検討

研究課題名(英文) Investigation of treatment of Alzheimer's disease with EP2 receptor inhibitors.

研究代表者

長野 貴之 (Nagano, Takayuki)

九州保健福祉大学・薬学部・講師

研究者番号：10368516

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)：Prostaglandin E2 (PGE2)はミクログリアのcyclooxygenase (COX)-2のmRNAとタンパク質の発現を増加させた。この結果から、アルツハイマー病の脳内で増加しているPGE2は、ミクログリアが産生しているものも寄与している可能性が考えられる。一方で、PGE2はミクログリアの貪食なども抑制している。したがって、PGE2シグナルを抑制することはアルツハイマー病の改善につながる可能性があると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究成果は、PGE2のミクログリアに対する作用について、詳細に検討されたところに学術的意義があると考えられる。これまでの過去の報告などもあわせて考えると、ミクログリアにおけるPGE2シグナルが抑制されることはアルツハイマー病の改善につながる可能性が示唆され、社会的意義もあると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Prostaglandin E2 (PGE2) increased microglial cyclooxygenase (COX)-2 mRNA and protein expression. These results suggest that microglial production of PGE2, which may contribute to the increase in Alzheimer's disease brains. On the other hand, PGE2 suppresses phagocytosis and other processes of microglia. Therefore, suppression of PGE2 signaling may be a potential amelioration of Alzheimer's disease.

研究分野：神経精神薬理

キーワード：ミクログリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ミクログリア

ミクログリアは神経細胞などと共に脳を構成する細胞の 1 つである。ミクログリアは中枢神経系内における免疫担当細胞として知られ、中枢神経系内の異常を察知し、その細胞機能を発現させる。細胞機能としては、遊走 (migration)、貪食 (phagocytosis)、増殖 (proliferation)、サイトカイン遊離 (cytokine release) などが報告されている (*J. Biochem. (Tokyo)*, **130**, 169-175, 2001; *Glia*, **53**, 67-73, 2006)。

ミクログリアとアルツハイマー病

アルツハイマー病は、アミロイドタンパクに伴う神経細胞死によっておこる認知症である (*Science*, **297**, 353-356, 2002)。アミロイドタンパクは脳内に沈着し、その周辺にはミクログリアの集積が確認されている。この集積したミクログリアはアミロイドタンパクを貪食し、除去していると考えられている (*Brain Res. Rev.*, **48**, 234-239, 2005)。したがって、ミクログリアの細胞機能を制御することができれば、アルツハイマー病を改善できる可能性がある。

アルツハイマー病と prostaglandin E₂ (PGE₂)

アルツハイマー病患者の脳脊髄液中の PGE₂ 量や、脳内における PGE₂ 合成に関与するタンパク質である cyclooxygenase (COX)-2 や microsomal PGE synthase (mPGES)-1 の発現量は健常者に比べて多かったことが報告されている (*Neurology*, **53**, 1495-1498, 1999; *Neuroscience*, **87**, 319-324, 1998; *Alzheimers Dement.*, **4**, 6-13, 2008)。これらの報告から、アルツハイマー病に PGE₂ が関与している可能性が考えられる。

2. 研究の目的

PGE₂ はミクログリアの細胞機能を調節している可能性がある。例えば、アミロイドタンパクの貪食を抑制させる (*Brain Res.*, **1323**, 11-17, 2010)。また interferon- γ による一酸化窒素の遊離を増強する (*J. Neurochem.*, **140**, 605-612, 2017)。これらはアルツハイマー病を悪化させる可能性がある。今回はアルツハイマー病と PGE₂ とミクログリアとの関係を詳細に調べるために、PGE₂ のミクログリアの PGE₂ 合成に関わる COX-1、COX-2、microsomal PGE synthase (mPGES)-1、mPGES-2、cytosolic PGE synthase (cPGES) の発現量に対する効果の検討を行った。

3. 研究の方法

2-3 日齢のラット大脳皮質よりグリア細胞を調製し、14-28 日間の培養後、ミクログリアを単離培養した。培養ミクログリアに PGE₂ を 10 分から 24 時間処置した。薬物処置後の細胞の mRNA を回収し、AGPC 法で単離した。単離した mRNA を M-MLV 逆転写酵素で cDNA に変換し、目的の遺伝子 (COX-1、COX-2、mPGES-1、mPGES-2、cPGES) を検出できるプライマーを用いてリアルタイム PCR を行った。定量化については 2- $\Delta\Delta$ CT 法で行った。また、別の薬物処置後の細胞からはタンパクを回収し、SDS-PAGE にて分離した。分離後のタンパク質を PVDF メンブレンに転写し、目的のタンパク質に対する特異的抗体を用いてウエスタンブロットを行った。バンドの検出を ECL を用いて行い、そのシグナル強度を ImageQuant を用いて定量化した。

4. 研究成果

PGE₂ はミクログリアの COX-2 と mPGES-1 の mRNA 発現量を増加させる

PGE₂ のミクログリアの COX-1、COX-2、mPGES-1、mPGES-2、cPGES の mRNA 発現量に対する影響について検討した (図 1)。3 時間の PGE₂ 処置は、10⁻⁶ M 以上の濃度で COX-2 と mPGES-1 の mRNA 発現量を増加させた。これらの遺伝子の発現量増加は用量依存的であった。一方で、

10⁻⁷ M 以上の濃度で mPGES-2 の mRNA 発現量を減少させた。また、10⁻⁵ M までの濃度で COX-1 と cPGES の mRNA 発現量には影響を及ぼさなかった。10⁻⁶ M の PGE₂ 処置は、1 時間の処置から COX-2 と mPGES-1 の mRNA 発現量を増加させた。COX-2 に関しては 24 時間処置まで、mPGES-1 に関しては 6 時間処置まで発現量を増加させた。一方で、2-6 時間の処置で mPGES-2 の mRNA 発現量を減少させた。さらに、6 時間の処置で COX-1 の mRNA 発現量を減少させた。24 時間の処置まででは、cPGES の mRNA 発現量には影響を及ぼさなかった。

以上の結果から、ミクログリアの COX-2 と mPGES-1 の mRNA 発現量は PGE₂ により増加すると考えられる。

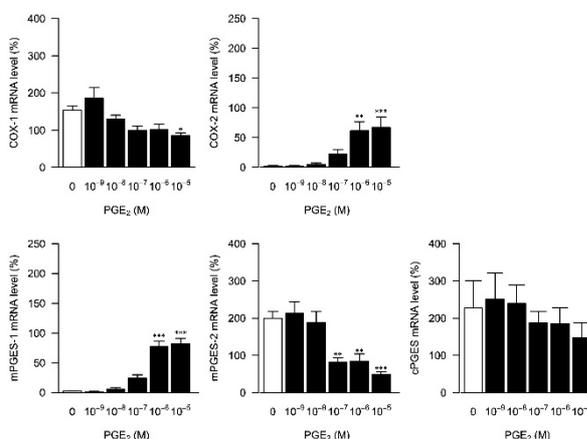


図 1 PGE₂ の 3 時間処置のミクログリアの COX-1、COX-2、mPGES-1、mPGES-2、cPGES の mRNA 発現量に対する影響

PGE₂ はミクログリアの COX-2 のタンパク質発現量を増加させる

PGE₂ のミクログリアの COX-1、COX-2、mPGES-1、mPGES-2、cPGES のタンパク質発現量に対する影響について検討した (図 2)。3 時間の PGE₂ 処置は、10⁻⁷ M 以上の濃度で COX-2 のタンパク質発現量を増加させた。この発現量増加は用量依存的であった。また、10⁻⁵ M までの濃度で COX-1、mPGES-1、mPGES-2、cPGES のタンパク質発現量には影響を及ぼさなかった。10⁻⁶ M の PGE₂ 処置は、3 時間から 6 時間処置まで COX-2 のタンパク質発現量を増加させた。

以上の結果から、ミクログリアの COX-2 のタンパク質発現量は PGE₂ により増加すると考えられる。

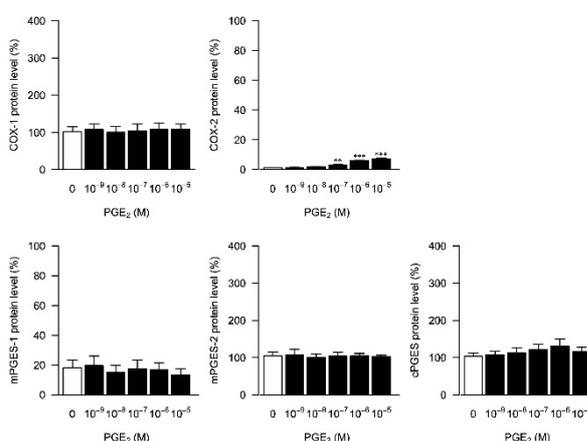


図 2 PGE₂ の 3 時間処置のミクログリアの COX-1、COX-2、mPGES-1、mPGES-2、cPGES のタンパク質発現量に対する影響

今回の結果から、PGE₂ はミクログリアにおいて、PGE₂ の合成に関与する COX-2 の mRNA 及びタンパク質発現量を増加させることが示唆された。この結果から、アルツハイマー病の脳内で増加している PGE₂ は、ミクログリアが産生している可能性が考えられる。PGE₂ はミクログリアのアミロイドタンパク質貪食なども抑制していることが示唆されている。さらに、interferon- γ による一酸化窒素の遊離を増強していることも示唆されている。したがって、PGE₂ シグナルを抑制することはアルツハイマー病の改善につながる可能性があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nagano Takayuki, Tsuda Naohiko, Fujimura Kenichi, Ikezawa Yuji, Higashi Yuki, Kimura Shinya H.	4. 巻 361
2. 論文標題 Prostaglandin E2 increases the expression of cyclooxygenase-2 in cultured rat microglia.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroimmunology	6. 最初と最後の頁 577724
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jneuroim.2021.577724	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 長野貴之、西山遼、眞田彩加、牟田口由紀子、井奥杏奈、榎木博久、岸本聖、山中大輔、木村信也、竹村基彦
2. 発表標題 ミクログリアの一酸化窒素遊離に対するプロスタグランジンE2の作用の検討
3. 学会等名 第28回神経行動薬理若手研究者の集い
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長野貴之、津田尚彦、藤村健一、池澤勇志、東佑樹、木村真也、竹村基彦
2. 発表標題 プロスタグランジンE2はミクログリアにおいてシクロオキシゲナーゼ-2とミクロソームプロスタグランジンE合成酵素-1のmRNA発現を増加させる
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長野貴之、津田尚彦、藤村健一、池澤勇志、東佑樹、木村真也、竹村基彦
2. 発表標題 プロスタグランジンE2はミクログリアにおいてシクロオキシゲナーゼ-2のタンパク発現を増加させる
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021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
---------	---------