

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07080

研究課題名(和文) ミクログリアにおけるホスホイノシチドシグナルの病態寄与に関する研究

研究課題名(英文) Elucidation of the pathological roles of phosphoinositide signaling in microglia

研究代表者

高鳥 翔 (Takatori, Sho)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・助教

研究者番号：80624361

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)では、病因物質アミロイド(A β)の蓄積に対し集簇したミクログリアが神経保護的な役割を有し、この過程には受容体分子TREM2が必要である。本研究では新たに、ADリスク遺伝子でありミクログリアに発現するホスホイノシチド代謝酵素INPP5Dがミクログリア集簇を負に制御することを見出し、その機序にミクログリアとA β 斑の接着制御およびホスホイノシチドシグナルが関わることを明らかにした。さらに、INPP5D発現抑制により集簇したミクログリアはA β 斑近傍のリン酸化タウの蓄積を抑制した。以上より、ミクログリアの集簇はA β に依存したタウ蓄積病理形成に寄与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病(AD)の発症リスクに関連したTREM2遺伝子多型は、ミクログリアのA β に対する集簇を減弱させることが示されていたが、その他のADリスク遺伝子に関して発症機序における役割は殆ど不明であった。今回新たにINPP5Dがミクログリア集簇を負に制御しタウ蓄積病理の形成に寄与していることを見出したが、このことはAD発症機序におけるミクログリア集簇化の重要性を裏付けるものといえる。ミクログリアを標的としたAD医薬開発においてTREM2は注目されており、INPP5Dおよびその制御するホスホイノシチドシグナル経路はTREM2機能に対する新たな制御点として有望な創薬標的になりうると期待される。

研究成果の概要(英文)：In the pathogenesis of Alzheimer disease (AD), microglia show a neuroprotective effect by enveloping and neutralizing neurotoxic aggregates of amyloid- β (A β) peptides, depending on a receptor molecule TREM2. In this study, we found that INPP5D, a phosphoinositide-metabolizing enzyme expressed in microglia, negatively regulates microglial envelopment of A β plaques, and that the mechanism involves regulation of microglial adhesion to plaques as well as phosphoinositide signaling. In addition, Inpp5d reduction in a Trem2 loss-of-function AD mouse model, accumulation of phosphorylated tau in the vicinity of A β plaques was significantly ameliorated. These results suggest that the microglial envelopment of plaques contributes to the suppression of A β -mediated tau deposition.

研究分野：病態神経科学

キーワード：アルツハイマー病 ミクログリア ホスホイノシチド TREM2 TYROBP INPP5D

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系の免疫担当細胞であるミクログリアは、脳内環境の変化を敏感に認識・応答する性質を有し、その機能の破綻は神経機能の異常の原因となりうる。実際、精神神経疾患にミクログリアが関与する証拠は多く、ミクログリアはこれら疾患に共通した創薬標的になりうるため、その病態関与の解明は大きな関心を集めている。特にアルツハイマー病 (AD) に関しては、膜受容体をコードする TREM2 をはじめ、複数のミクログリア特異的遺伝子の多型が発症リスクと関連することが指摘されている。したがって AD はミクログリアの病的意義を解明するうえで重要な疾患である。

AD は、アミロイド β ($A\beta$) とタウの2つのタンパク質が凝集し脳内に蓄積する神経変性疾患である。蓄積した $A\beta$ はそれ自体が神経障害性を有するが、神経細胞体内にタウの凝集、蓄積を促進する役割をもつ。一方、タウの蓄積は AD の進行に伴う神経細胞死の主要因と考えられている。近年、ミクログリアに発現する膜受容体分子 TREM2 とその結合パートナーである TYROBP をコードする遺伝子の多型が AD の遺伝学的リスク因子となることが報告され、ミクログリアの重要性が明らかになった。これまでも、 $A\beta$ 斑周囲にミクログリアが集簇し $A\beta$ による神経障害性を緩和するように働くことは知られていたが、TREM2 リスク多型の保因者や Trem2、Tyrobp を欠損したマウスの脳内で共通してミクログリアの集簇・活性化の不全が見出されたことから、これらの過程に TREM2/TYROBP シグナルが不可欠であり、ミクログリアが $A\beta$ に適切に応答することが AD 発症を抑制する重要な役割をもつと考えられた。したがって、ミクログリアの $A\beta$ に対する応答性を規定する分子メカニズム、特に TREM2 下流シグナルの分子詳細を明らかにすることにより、AD の病態解明のみならず新たな創薬標的の同定につながることを期待される。

2. 研究の目的

膜脂質のひとつであるホスホイノシチド (PIPs) は多くの免疫細胞において受容体刺激などを受けて膜上の局所で産生され、それぞれリン酸化部位の異なるアイソフォームが固有のエフェクター分子を膜動員することで細胞内外のシグナル伝達を担うことが知られている。申請者はこれまで、遺伝学的 AD リスク因子である TREM2 やホスホイノシチドホスファターゼ INPP5D の機能低下マウスを用いて、ミクログリアの $A\beta$ に対する応答が PIPs により制御される可能性を示唆していた。一方で、ミクログリアにおける PIPs の機能はほとんど解析されておらず、本研究では AD マウスモデルにおいてミクログリアの PIPs の機能や病的意義を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

$A\beta$ 蓄積病態を示す AD モデルマウス (AppNL-G-F/NL-G-F、理研・西道隆臣チームリーダー、名市大・斉藤貴志教授より譲受) と TREM2 機能低下を示す Tyrobp 欠損マウス (東北大学・高井俊行教授より譲受) さらに Inpp5d 欠損マウス (東京医科歯科大学・佐々木雄彦教授より譲受) を交配し、ミクログリアの $A\beta$ 応答や神経傷害等に対する影響について免疫組織学的・生化学的に解析を行った。

4. 研究成果

これまでに申請者は、TREM2 機能低下を示す Tyrobp 欠損 AD モデルマウスにおいて $A\beta$ 斑周囲へのミクログリアの集簇が減少する一方で、Tyrobp と Inpp5d を二重欠損したマウスにおいてはこの集簇が有意に回復することを明らかにしていた。そこで、ミクログリアの集簇が回復した $A\beta$ 斑近傍の病理学的変化についてさらに詳細に検討した。まず、神経傷害の指標である神経変性突起に関しては、検討したマーカー分子 (BACE1、LAMP1、Ubiquitin) の蓄積は Tyrobp 欠損マウスにおいて増悪しており、これらはいずれも Inpp5d との二重欠損によって改善しなかった。一方で興味深いことに、 $A\beta$ 斑の近傍におけるリン酸化タウの蓄積に関しては、二重欠損マウスにおいて有意に改善した (図 1)。このことは、神経変性突起におけるリン酸化タウの蓄積が他のマーカーとは異なるメカニズムにより生じること、また、Inpp5d 欠損により集簇化したミクログリアがリン酸化タウの蓄積を特異的に抑制することを示唆した。近年、AD 病態の進展過程において $A\beta$ 蓄積がタウ蓄積を促進する因子であることが示唆され、その分子機序が関心を集めている。本研究の結果は、TREM2/TYROBP と INPP5D がミクログリアの $A\beta$ 斑への集簇化を制御することにより近傍のタウ蓄積病理形成にも寄与していることを示しているといえ、重要な知見である。

また、 $A\beta$ 斑の近傍では一般にミクログリアのみならずアストロサイトの活性化像が認められるが、Tyrobp 欠損マウスにおいてその程度は顕著に減少しており、これは Tyrobp と Inpp5d を二重欠損したマウスで有意に回復した。このことは、ミクログリアが $A\beta$ 斑に集簇することがアストロサイト活性化においても重要であることを示唆した。

これらの背景にある分子機序を明らかにするため、マウス脳から単離したミクログリアについて、RNAseqにより遺伝子発現変化を解析した。ADに特徴的なミクログリアサブタイプである disease-associated microglia (DAM) 関連遺伝子の発現は、Tyrobp 欠損マウスにおいて顕著に障害されていたが、Inpp5d との二重欠損によって回復しなかった。このことは、DAM 遺伝子の発現がミクログリアの集簇および神経保護には不要であることを示唆した。一方で、Inpp5d との二重欠損により発現回復した遺伝子として、MAPK 経路や WNT 経路に関わる複数の分子を同定した。これら因子はミクログリア集簇化に重要である可能性がある。

ミクログリアの A β 斑への集簇には、ミクログリアのアミロイド斑に対する遊走や接着、斑周囲における増殖などの複数の過程が関与することが報告されている。Inpp5d 欠損による集簇亢進の機序を探るため、初代培養ミクログリアを用いて TREM2、TYROBP、INPP5D を発現抑制した際の表現型を解析したところ、初代培養ミクログリアの生存性、遊走性、細胞外基質に対する接着性はいずれも TREM2 や TYROBP の発現抑制により低下していた。一方で、INPP5D を同時に発現抑制した場合には、細胞外基質に対する接着性のみが有意に回復した。このことから、*in vivo* における集簇回復にはミクログリアの A β 斑に対する接着性亢進が寄与している可能性が考えられた。さらに、TREM2、TYROBP、INPP5D の働く分子経路について検討したところ、PI(3,4,5)P₃ 下流シグナルは TREM2、TYROBP の発現抑制により減弱したが、INPP5D の発現抑制によって回復した。このことは、PI(3,4,5)P₃ 下流シグナルが A β 斑に対する接着、集簇に関与する可能性を示唆する。また同様の解析をその他の既知の PI(3,4,5)P₃ ホスファターゼに対して行ったところ、INPP5D と同様の働きを示す分子は見出されなかった。このことはすなわち、ミクログリアの PIP_s 代謝において INPP5D が特異的に重要であることを示唆した。これらの結果は、INPP5D により制御される PI(3,4,5)P₃ シグナルが AD 発病抑制に関わるミクログリア機能において極めて重要であることを示唆した。

現在、海外の製薬企業が TREM2 に対するアゴニスト抗体を AD 治療薬として開発中であるが、抗体は脳移行性が低いため医薬応用には困難が予想される。TREM2 下流経路のうち PI(3,4,5)P₃ 代謝経路は低分子化合物による介入が可能な標的であり、本研究は TREM2 を標的とした医薬開発においても有用な知見を与える可能性がある。

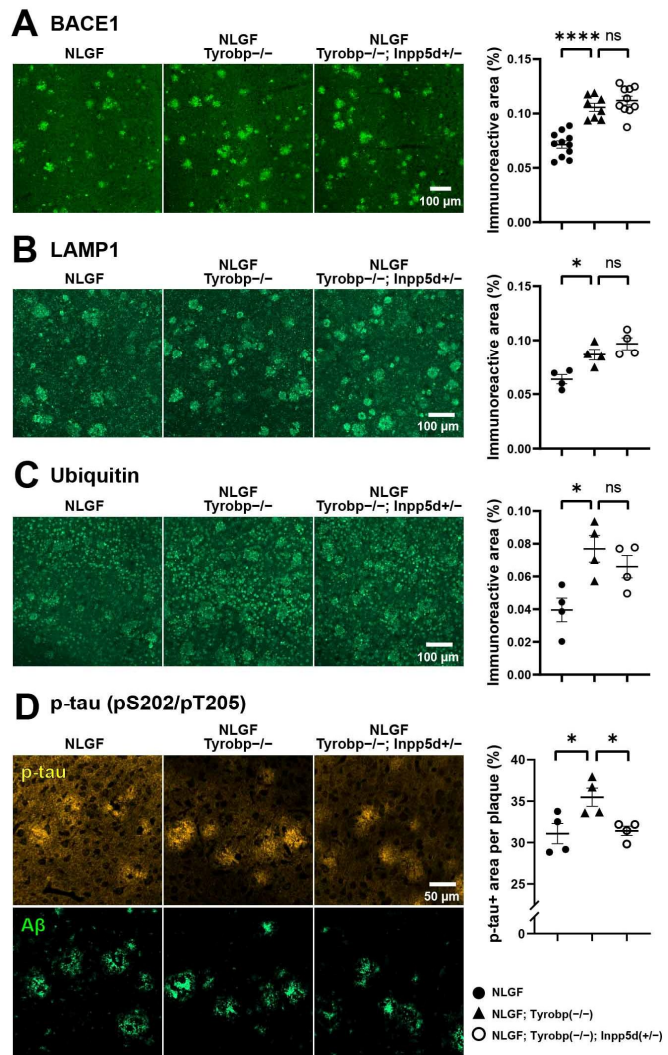


図 1. INPP5D はリン酸化タウ蓄積を制御する

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Araki Miho, Ito Kyohei, Takatori Sho, Ito Genta, Tomita Taisuke	4. 巻 30
2. 論文標題 BORCS6 is involved in the enlargement of lung lamellar bodies in <i>Lrrk2</i> knockout mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 1618 ~ 1631
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddab146	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 王文博、高鳥翔、富田泰輔	4. 巻 271(1)
2. 論文標題 ABCトランスporterとAlzheimer病	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 11 ~ 16
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 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 Kikuchi Kazunori, Tatebe Takuya, Sudo Yuki, Yokoyama Miyabishara, Kidana Kiwami, Chiu Yung Wen, Takatori Sho, Arita Makoto, Horii Yukiko, Tomita Taisuke	4. 巻 41
2. 論文標題 GPR120 Signaling Controls Amyloid- Degrading Activity of Matrix Metalloproteinases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6173 ~ 6185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2595-20.2021	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 Fujita Yu, Kano Kuniyuki, Kishino Shigenobu, Nagao Toshihiro, Shen Xuefeng, Sato Chiharu, Hatakeyama Hatsune, Ota Yume, Niibori Sho, Nomura Ayako, Kikuchi Kota, Yasuno Wataru, Takatori Sho, Kikuchi Kazunori, Sano Yoshitake, Tomita Taisuke, Suzuki Toshiharu, Aoki Junken, Zou Kun, Natori Shunji, Komano Hiroto	4. 巻 11
2. 論文標題 Dietary cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid reduces amyloid -protein accumulation and upregulates anti-inflammatory cytokines in an Alzheimer's disease mouse model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-88870-9	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 Ozawa Shuta, Hori Yukiko, Shimizu Yusuke, Taniguchi Atsuhiko, Suzuki Takanobu, Wang Wenbo, Chiu Yung Wen, Koike Reiko, Yokoshima Satoshi, Fukuyama Tohru, Takatori Sho, Sohma Youhei, Kanai Motomu, Tomita Taisuke	4. 巻 144
2. 論文標題 Photo-oxygenation by a biocompatible catalyst reduces amyloid- levels in Alzheimer 's disease mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain	6. 最初と最後の頁 1884 ~ 1897
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/brain/awab058	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 Iguchi Akihiro, Takatori Sho, Kimura Shingo, Hori Yukiko, Sasaki Junko, Saito Takashi, Saido Takaomi C., Ikezu Tsuneya, Takai Toshiyuki, Sasaki Takehiko, Tomita Taisuke	4. 巻 -
2. 論文標題 INPP5D Modulates TREM2 Loss-of-Function Phenotypes in a Mouse Model of Alzheimer Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 SSRN Electronic Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2139/ssrn.3844721	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 該当する

1. 著者名 竹本亮太、高鳥翔、富田泰輔	4. 巻 274
2. 論文標題 アルツハイマー病の発症機序におけるTREM2の関与	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1207 ~ 1208
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 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11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 王文博, 高鳥翔, 富田泰輔
2. 発表標題 アルツハイマー病リスク因子ABCA7のミクログリアにおける機能解析
3. 学会等名 第19回東京大学生命科学シンポジウム BIO UT
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井口明優, 高鳥翔, 木村新伍, 佐々木純子, 斉藤貴志, 西道隆臣, 高井俊行, 佐々木雄彦, 富田泰輔
2. 発表標題 アルツハイマー病リスク遺伝子INPP5DとTREM2シグナルの相互作用解析
3. 学会等名 第19回東京大学生命科学シンポジウム BIO UT
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井口明優, 高鳥翔, 木村新伍, 佐々木純子, 斉藤貴志, 西道隆臣, 高井俊行, 佐々木雄彦, 富田泰輔
2. 発表標題 アルツハイマー病リスク遺伝子INPP5DがTREM2シグナル伝達において果たす役割の解明
3. 学会等名 第38回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高鳥翔, 井口明優, 木村新伍, 佐々木純子, 佐々木雄彦, 高井俊行, 斉藤貴志, 西道隆臣, 富田泰輔
2. 発表標題 Molecular mechanisms of microglial recognition and response to amyloid
3. 学会等名 Neuro2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井口明優, 高鳥翔, 木村新伍, 佐々木純子, 斉藤貴志, 西道隆臣, 高井俊行, 佐々木雄彦, 富田泰輔
2. 発表標題 INPP5D modulates Trem2-loss-of-function phenotype of AD model mice
3. 学会等名 第20回東京大学生命科学シンポジウム BIO UT
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 王文博, 高鳥翔, 富田泰輔
2. 発表標題 ミクログリアによるアミロイド 線維貪食機構の解明
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 宗藤大樹, 高鳥翔, 富田泰輔
2. 発表標題 Phospholipase C gamma 2 regulates ApoE secretion in microglia
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akihiro Iguchi, Sho Takatori, Shingo Kimura, Yukiko Hori, Junko Sasaki, Takashi Saito, Takaomi C. Saido, Tsuneya Ikezu, Toshiyuki Takai, Takehiko Sasaki, Taisuke Tomita
2. 発表標題 INPP5D haploinsufficiency modifies microglial phenotypes in Alzheimer disease model mice
3. 学会等名 New Horizons in Alzheimer ' s Disease (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高鳥翔, 井口明優, 木村新伍, 堀由起子, 佐々木純子, 齊藤貴志, 西道隆臣, 池津庸哉, 高井俊行, 佐々木雄彦, 富田泰輔
2. 発表標題 アルツハイマー病におけるアミロイド およびタウ蓄積病態形成とミクログリアの関与
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤由真, 高鳥翔, 富田泰輔
2. 発表標題 アルツハイマー病治療標的としてのミクログリア生存性回復因子の探索
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 熊詩若, 吉田文明, 伊藤弦太, 高鳥翔, 富田泰輔
2. 発表標題 自閉症モデルマウスにおけるシナプス形成異常関連分子Lingo2の代謝機構解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

機能病態学教室ホームページ http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~neurops/ 東京大学大学院薬学系研究科機能病態学教室 http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~neurops/tomita/

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