

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：19K07366

研究課題名(和文) アストロサイトを起点とした多発性硬化症の分子レベルでの病態解明

研究課題名(英文) Analysis of molecular mechanism underlying reactive astrocyte-induced multiple sclerosis

研究代表者

伊藤 教道 (Ito, Norimichi)

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：30726310

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)：多発性硬化症(MS: multiple sclerosis)は中枢神経系の慢性炎症性脱髄疾患であり、活性化アストロサイトの関与が示唆されているが、その病態の分子機構については不明な点が多い。本研究ではMSにおけるIFITM3の関与・役割を明らかにすることを目的とし、炎症モデルであるクプリゾンモデルを利用して解析を行った。IFITM3は脱髄が起こる以前の脳内炎症初期から発現が上昇し、炎症反応の収束、再ミエリン化と共に発現量が正常化することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりIFITM3は脱髄に先立って惹起される脳内炎症反応により発現誘導されることが明らかとなった。今後IFITM3の発現変化をより詳細に解析することで、IFITM3の測定がMSの診断に役立つなど、臨床応用への発展が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Multiple sclerosis is chronic inflammatory disease of central nerve system characterized by demyelination. Molecular mechanism of etiology underlying inflammation-induced demyelination is not well-known. Previous study found that IFITM3 is a key molecule in inflammation-induced neuronal impairment. However, It is unknown the involvement of IFITM3 in multiple sclerosis. The purpose of this study is to understand the role of IFITM3 in inflammation-induced demyelination. We found that expression level of IFITM3 increased in cuprizone-treated mice. Increased expression of IFITM3 occurred before demyelination and lasted during inflammation.

研究分野：神経化学

キーワード：IFITM3 astrocyte 脱髄

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症は脱髄を伴う炎症性疾患であり、若年成人での発症が多く、再発寛解を繰り返し慢性に移行する指定難病である。多発性硬化症の病態はアストロサイトをはじめとするグリア細胞の活性化による炎症反応が脱ミエリン化や再ミエリン化の障害を惹起すると考えられている。しかし、活性化アストロサイトがどのように脱ミエリン化や再ミエリン化の障害を引き起こすかについての詳細な分子メカニズムは不明である。

我々はこれまで炎症反応に伴い発現誘導される分子である IFITM3 が周産期ウイルス感染による精神疾患に関与することを明らかにし、そのメカニズムとして IFITM3 依存的にアストロサイトから放出される液性因子 Follistatin-like 1 が神経障害を引き起こすことを報告した[Yamada et al, 2018 J Neuroinflammation] (図1)。これらの結果はウイルス感染に伴い活性化されたアストロサイトにおける IFITM3 の発現上昇が炎症反応を起点とする神経細胞障害の病態に関与することを示唆するものである。一方、IFITM3 はウイルス感染に限らず活性化アストロサイトに広く発現誘導されることから、活性化アストロサイトを起点とする多発性硬化症の病態に IFITM3 が関与している可能性が考えられた。しかし、IFITM3 が髄鞘を形成するオリゴデンドロサイトに与える影響については不明である。

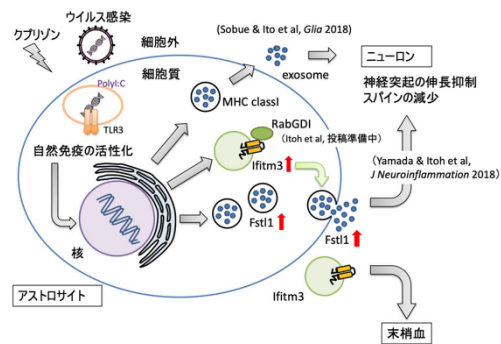


図1

2. 研究の目的

活性化アストロサイトでは様々な分子が発現誘導されることが知られている。その中でも IFITM3 は活性化アストロサイト特異的に発現誘導され、炎症を起点とする種々の神経変性疾患に関与する可能性が示唆されている。本研究では「MS の病態における活性化アストロサイトがどのように脱ミエリン化を惹起し、再ミエリン化を抑制するか」について活性化アストロサイトに発現誘導される分子である IFITM3 に注目し、その機能を解析することで、MS の病態を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では MS の病態を理解するために IFITM3 に注目し、脱ミエリン化および再ミエリン化に及ぼす影響についての解析を行う。解析には脱ミエリン化および再ミエリン化を評価する動物モデルとして広く用いられているクプリゾン投与モデルを利用する。6週齢のマウスに 0.2% のクプリゾンを含む粉末餌で一定期間飼育した後、皮質、線条体、海馬を採取した。採取した脳は RIPA buffer を用いてタンパク質を抽出し、ウェスタンブロット法により IFITM3、GFAP、MBP を検出した。また、飼育したマウスを麻酔下で PFA により灌流固定して得られた脳サンプルを用いて免疫染色を行い IFITM3、GFAP、MBP の発現を確認した。クプリゾンの投与期間は脱ミエリン化においては6週間とし、炎症初期は1週間および2週間とした。再ミエリン化の検討にはクプリゾン投与6週間後、通常の餌飼料でさらに一定期間飼育した。

4. 研究成果

研究の主な成果

(1) 脳内炎症による脱ミエリン化における IFITM3 の発現
炎症反応に伴う脱ミエリン化における IFITM3 の発現を検討するためにクプリゾン投与マウスの IFITM3 の発現量をウェスタンブロットおよび免疫染色法により調べた。クプリゾンを含む食餌で6週間飼育したマウスにおいては活性化アストロサイトのマーカーである GFAP の発現がコントロールに比べ上昇し脳内炎症反応が惹起されていることが確認できた。また、MBP の発現はクプリゾン投与群において減少していることから、脱ミエリン化が引き起こされていた。この条件下において、IFITM3 の発現量はクプリゾン投与群において有意に上昇していた (図2)。免疫染色法から少なくとも皮質および線条体において IFITM3 の発現上昇が確認できた (図3)。以上より、炎症反応に伴う脱ミエリン化において IFITM3 が発現上昇することが明らかとなった。

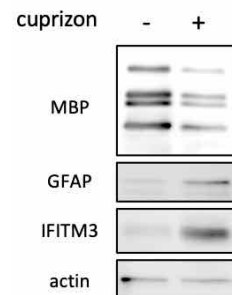


図2

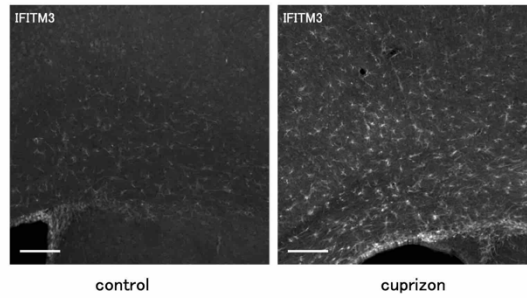


図3

(2) 脳内炎症初期における IFITM3 の発現変化

次に IFITM3 が脱ミエリン化に関与する可能性を検討するため、クプリゾン投与モデルを用いて、炎症反応初期における IFITM3 の発現の経時的変化を調べた。クプリゾン投与1週間および2週間後のマウスを用いて同様に IFITM3、GFAP および MBP の発現量をウエスタンブロットおよび免疫染色により検討した。GFAP の発現はクプリゾン投与1週間後および2週間後のいずれもコントロール群に比べ有意に上昇しており、クプリゾン投与により脳内炎症が惹起されていることが確認できた。IFITM3 の発現量はクプリゾン投与群においてコントロール群に比べ有意に増加していた。一方、ミエリン化の指標である MBP の発現はクプリゾン投与群とコントロール群間に有意な差は認められなかった (図4)。これらの結果から IFITM3 は脱ミエリン化が引き起こされる前の炎症初期に発現誘導されることが明らかとなった。

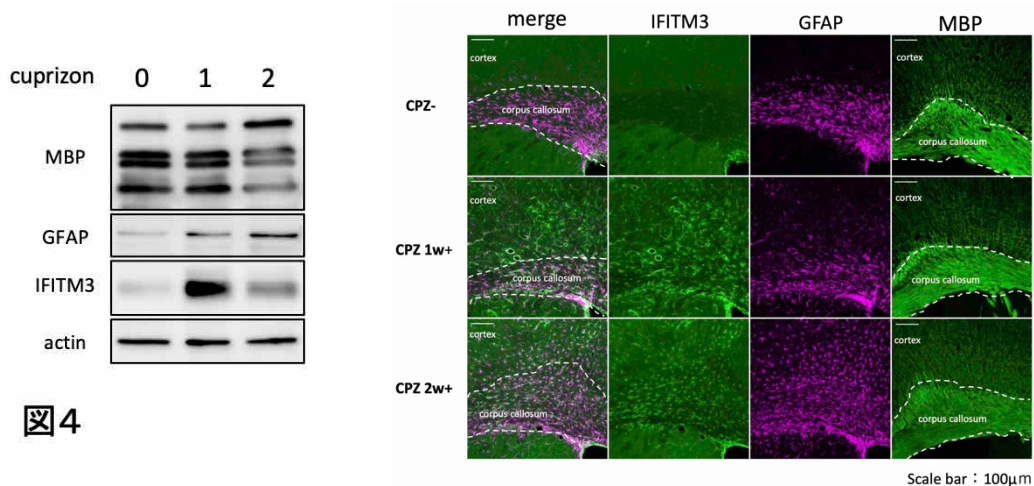


図4

(3) 再ミエリン化における IFITM3 の発現変化

再ミエリン化における IFITM3 の発現変化を検討するため、クプリゾンを含む粉末餌で飼育後、通常餌に戻し1週間および2週間飼育したマウスを用いて同様にウエスタンブロットを行った。6週間のクプリゾン投与により上昇した IFITM3 の発現はその後通常餌で飼育することで減少する傾向が認められた。

(4) 炎症反応に伴う脱髄における IFITM3 の影響

IFITM3 の発現が炎症反応に伴う脱髄に与える影響を調べるため、IFITM3 KO マウスを用いてクプリゾン投与時の脱髄について検討した。十分な脱髄が認められるクプリゾン投与6週間後のマウス脳において、野生型マウスのクプリゾン投与群では MBP の発現がコントロール群に比べ減少していた。この条件下において、IFITM3 KO マウスではクプリゾン投与による MBP の発現量の減少率は縮小したものの、コントロール群に比べクプリゾン投与群の MBP の減少が認められた。以上より、IFITM3 は炎症に伴う脱髄に必要なことが示唆されたが、その影響は極めて限定的であることが明らかとなった。

今後の展望

本研究では炎症反応に伴う脱ミエリン化および再ミエリン化における IFITM3 の役割について解析を行い、炎症反応に伴う脱ミエリン化に先立ち IFITM3 の発現が上昇し、再ミエリン化の過程においては IFITM3 の発現が減少することを明らかにした。本研究により得られた成果を元に今後 IFITM3 の発現と脱髄の関連を調べることで臨床応用への発展が期待できる。

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 Sawahata M, Asano H, Nagai T, Ito N, Kohno T, Nabeshima T, Hattori M, Yamada K	4. 巻 173
2. 論文標題 Microinjection of Reelin into the mPFC prevents MK-801-induced recognition memory impairment in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmacol Res.	6. 最初と最後の頁 105832-105844
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.phrs.2021.105832.	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Dong Geyao、伊藤 教道、溝口 博之、松崎 哲郎、森 大輔、永井 拓、鍋島 俊隆、尾崎 紀夫、山田 清文
2. 発表標題 Phosphorylation of twinfilin-1 involved in the reelin signaling plays a crucial role in spine development
3. 学会等名 第141回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Geyao Dong, Yue Liu, Ryuichi Ikeyama, Masahito Sawahata, Norimichi Itoh, Jingzhu Liao, Daisuke Mori, Hiroyuki Mizoguchi, Toshitaka Nabeshima, Norio Ozaki, Kiyofumi Yamada
2. 発表標題 Behavioral analysis of a mouse model carrying a mutation on Twinfilin1 gene
3. 学会等名 第139回日本薬理学会近畿部会
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
---------	---------