

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07821

研究課題名(和文) 神経炎症によるアストログリアの形質運命決定機構の解明と新しい治療薬探索

研究課題名(英文) Identification of the mechanism inducing reactive astrocyte in neuroinflammatory condition as a therapeutic target.

研究代表者

小林 亜希子 (Kobayashi, Akiko)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：80649046

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)：脳において神経細胞を支えるアストロサイトは、神経細胞の栄養や不要物の排除など、正常な脳機能に重要な役割を果たしている。脳・脊髄損傷などの障害に反応してアストロサイトは活性化し、炎症性細胞の浸潤抑制など保護的な役割を果たす一方、軸索再生抑制や神経細胞死の誘導など障害的形質を獲得するという多様性を示す。特に「障害性活性化アストロサイト」は、アルツハイマー病などの神経変性疾患に存在することが報告され、神経炎症による神経脱落の主要因であることが示唆されつつある。本申請研究では、活性化環境条件により二面的な性質を示すアストロサイトがどのようにしてその形質を決定するのか、形質運命決定の分子機構を探索した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経炎症は、アルツハイマー病やパーキンソン病などの進行性神経変性疾患で観察され、病態の進行に関与していると示唆されている。本研究により神経炎症時にみられる神経障害に関与するアストロサイトのサブタイプが誘導される分子メカニズムを明らかにした。この神経炎症時特異的アストロサイトの形成を抑制することにより、進行性の神経変性疾患の脱落を抑制できる可能性があり、現在画期的な治療薬が存在しないこれらの疾患標的としてアストロサイトを提示したこれらの結果は、治療薬探索に向けた第一歩となり得る。

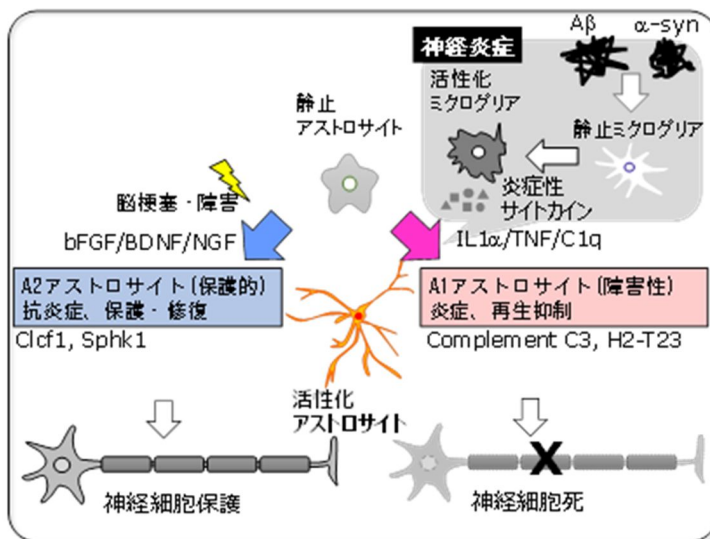
研究成果の概要(英文)：Astrocytes support neurons and regulate the functions of brain system. Astrocytes get activated upon injuries or inflammatory stimuli. Activated astrocytes exhibit the two opposite aspects, which is protective by suppressing the invasion of inflammatory cells, or detrimental by inducing neuronal cell death and inhibiting the regeneration of axons. This detrimental astrocyte has been reported to exist in the brains of neurodegenerative disorder such as Alzheimer disease and Parkinson disease, and implicated as one of the major factors for degeneration of neurons. This study investigated the molecular mechanism how astrocytes acquire these different subtypes especially in the neuroinflammatory condition.

研究分野：神経薬理学

キーワード：神経炎症 アストロサイト

1. 研究開始当初の背景

脳には神経活動を担う神経細胞と神経細胞を支持する役割を担うグリア細胞が存在する。グリア細胞の中でも特にアストロサイトは神経細胞よりも圧倒的数的優位で存在し、神経細胞への栄養や不要物の排除など、神経細胞を支持する役割を担っている。脳・脊髄損傷などで活性化されたアストロサイトは修復に寄与する一方で、神経細胞死を誘導するという**二面性**をもつ。活性化されたアストロサイトが細胞障害性形質をもつ (A1 アストロサイト) のか、保護的性質を獲得する (A2 アストロサイト) のかは誘起条件依存적であり多様な制御が存在することが示唆される。有害な「A1 アストロサイト」はアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患に存在することが報告され、神経炎症時に誘起されることは判っていたが、アストロサイト内でどのような分子機構でその形質を決定するかについては判っていなかった。



2. 研究の目的

神経炎症時に誘導される障害性 A1 アストロサイトの形質決定の分子機構を探索し、創薬標的としての A1 アストロサイトの可能性を検証することを目的とした。障害性 A1 アストロサイトはアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患脳に存在することが報告されており、A1 アストロサイトが疾患の病態および進行に寄与することが示唆されていたことから、神経変性疾患や脳・脊髄損傷時における過剰な炎症反応による障害性 A1 アストロサイトの形成抑制を視野に入れ、A1 アストロサイトの誘導機構を解明を進めることにより新しい創薬標的の提示をめざした。

3. 研究の方法

(1) 初代培養系における A1 アストロサイトマーカー発現を指標とした制御因子の探索

初代培養アストロサイトにおいて神経炎症時に発現上昇するマーカー遺伝子を指標とし、制御因子の探索を行った。解析は遺伝子発現量を定量的リアルタイム PCR 法およびハイスループットイメージングシステムを用いて行った。

(2) 同定した制御因子のクロモソーム免疫沈降シークエンス解析

(1) で同定した因子についてクロモソーム免疫沈降 (ChIP) シークエンスを実施し、標的遺伝子のゲノム上にどのように制御因子が結合しているかを解析した。

(3) 神経炎症時のアストロサイトにおける網羅的遺伝子発現変動解析

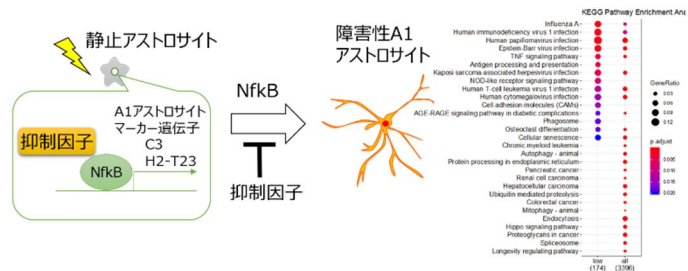
クリック可能ナリボヌクレオシド、エチニルウリジン (EU) を用いて神経炎症時のアストロサイト発現が変動した遺伝子を網羅的にラベルし、解析した。

4. 研究成果

神経炎症時のアストロサイトにおける遺伝子変動の制御因子を探索するため、A1 アストロサイトマーカーの発現を指標として各種阻害剤を用いて検討した結果、NFkB シグナリングが A1 アストロサイトの遺伝子発現誘導に関与していることが明らかとなった。さらに NFkB サブユニット p65 の挙動をアストロサイトで観察したところ、神経炎症時に核内に移行することが確認された。そこで NFkB のサブユニット p65 抗体を用いて ChIP シークエンスを行い、p65 が結合する遺伝子領域を網羅的に解析した結果、神経炎症時に p65 は A1 アストロサイト遺伝子のプロモーター領域に集積することを見出した。

そこでクリック反応を利用した新生 RNA シークエンス法を用いて神経炎症時に A1 アストロサイト内でどのような遺伝子変動が起きているかを網羅的に解析した。その結果、先に報告されていた A1 アストロサイトマーカー遺伝子群に加え、I 型インターフェロン遺伝子群、抗原提示に関与する遺伝子群の上昇が観察された。

I 型インターフェロン遺伝子は、老化や神経変性疾患において観察されており、A1 アストロサイトがこれら老化に関与する因子の放出に関与することが示唆される結果が得られた。



以上の研究成果は神経炎症時に A 1 アストロサイトが誘導されるときに NFkB シグナルが強く寄与していることを示すものである。神経炎症はアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患に共通してみられる脳の状態であり、神経炎症により誘導される A1 アストロサイトは神経細胞死に大きく寄与している。A1 アストロサイトの抑制はこれらの疾患の治療戦略となりうることから、本成果による創薬標的の提示は未だ実現していないこれらの疾患の治療薬実現に寄与することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 1件）

1. 著者名 A. Nakano-Kobayashi1,* , A. Fukumoto2, A. Morizane2, D. T. Nguyen3, T. M. Le3, K. Hashida3, T. Hosoya4, R. Takahashi5, J. Takahashi2, O. Hori3 and M. Hagiwara1	4. 巻 6
2. 論文標題 Therapeutics potentiating microglial p21-Nrf2 axis can rescue neurodegeneration caused by neuroinflammation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abc1428	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 小林亜希子、萩原正敏	4. 巻 38
2. 論文標題 ダウン症におけるDYRK1Aの役割と分子標的薬の可能性	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1570-1572
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 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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 4件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林亜希子
2. 発表標題 Therapeutics potentiating microglial p21-Nrf2 axis can rescue neurodegeneration caused by neuroinflammation
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林亜希子
2. 発表標題 神経新生からダウン症へのアプローチ
3. 学会等名 日本ダウン症分科会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林亜希子
2. 発表標題 Prenatal neurogenesis induction therapy normalizes brain structure and functions in Down syndrome mice
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林亜希子
2. 発表標題 Prenatal neurogenesis induction therapy normalizes brain structure and functions in Down syndrome mice
3. 学会等名 第13回成体脳ニューロジェネシス研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林亜希子
2. 発表標題 Therapeutics potentiating microglial p21-Nrf2 axis can rescue neurodegeneration caused by neuroinflammation
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 神経炎症の抑制、そのための組成物及び方法	発明者 小林亜希子、萩原正敏	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-66150	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------