

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：33303

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16162

研究課題名（和文）ミクログリア特異的遺伝子改変マウスを用いたアルツハイマー病における機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of microglia in Alzheimer's disease using microglia specific genetically modified mice

研究代表者

小笠原 千絵 (OGASAWARA, Chie)

金沢医科大学・医学部・特定助教

研究者番号：10708944

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究によって、ミクログリア特異的に可視化可能な遺伝子改変マウス及びミクログリアを特異的に除去可能な遺伝子改変マウスが樹立できた。一方で、ミクログリアを除去したマウスを用いてアルツハイマー病の発症・増悪化を検討したが、コントロール群と比較して大きな差は認められなかった。この結果、アルツハイマー病におけるミクログリアの機能と重要性に関しては今後の研究課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、ミクログリア特異的可視化マウスと同細胞を除去可能なマウスを用いてアルツハイマー病におけるミクログリアの本質的な機能を明らかにしようと試みたが、明確な結果は得られなかった。しかし、ミクログリアはアルツハイマー病ばかりでなく、他の神経変性疾患（パーキンソン病や多発性硬化症など）や脳梗塞や精神疾患などに関与する報告がある。このため、本研究で樹立した遺伝子改変マウスはこれら神経疾患におけるミクログリアの機能を明らかにするために有効であると考えられ、本研究成果の医学的・社会的意義は高い。

研究成果の概要（英文）：In this study, we successfully established genetically modified mice that allow specific visualization of microglia and genetically modified mice that enable specific removal of microglia. However, when examining the onset and progression of Alzheimer's disease using the mice with microglia depletion, no significant differences were observed compared with the control group. Therefore, the function and importance of microglia in the onset and progression of Alzheimer's disease remains a future research task.

研究分野：免疫学

キーワード：ミクログリア 遺伝子改変マウス 可視化 アルツハイマー病

## 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病は $\beta$ アミロイド、タウの異常蓄積によって神経細胞死、脳萎縮、記憶・思考障害が誘導される。現在500万人以上の罹患者がおり、高齢社会を迎えた日本の大きな社会問題である。認知機能の改善を目的としてコリンエステラーゼ阻害薬やNMDA受容体拮抗薬が開発されたが、対処療法に止まっている。また、 $\beta$ アミロイドの産生抑制や凝集阻害を目的とした治療薬の研究、開発が進められたが臨床治験はことごとく中止となっているが、近年脳内に蓄積した $\beta$ アミロイドを除去する抗体医薬が承認された。今後は、アルツハイマー病の発症機序に基づく新しい創薬の標的を発見することが期待されている。

ミクログリア細胞は中枢神経における免疫担当細胞である。定常状態では神経システム監視、死細胞除去など脳の恒常性を維持し、炎症時には損傷組織の貪食や炎症性サイトカインを放出する。同細胞は $\beta$ アミロイド蓄積部位に集積し、同疾患進行に寄与していることが示唆されている。しかし、ミクログリア特異的な実験系が存在しなかった為、本質的な役割は不明である。代表者は、ミクログリア特異的な標識化と除去可能な実験システムを世界に先駆けて樹立した。

## 2. 研究の目的

代表者は、ミクログリア特異的な標識化と除去可能な遺伝子改変マウス実験システムを世界に先駆けて樹立した。本研究では、上記遺伝子改変マウスとヒトアルツハイマー病態を再現した次世代アルツハイマー病モデルマウス(hAPP-KIマウス)を掛け合わせて、アルツハイマー病の発症と進行におけるミクログリアの動態とその役割の分子機序を明らかにして、新たな創薬の標的を創出することを目的とする。

## 3. 研究の方法

アルツハイマー病を発症するhAPP-KIマウスとミクログリアを特異的に可視化可能なCX3CR1creERT/Rosa26-LSL-EYFPマウスと同細胞を除去可能なCX3CR1creERT/Rosa26-LSL-DTAマウスを交配し、hAPP-KI/CX3CR1creERT/Rosa26-LSL-EYFPマウスと、hAPP-KI/CX3CR1creERT/Rosa26-LSL-DTAマウスを作製した。これらマウスにタモキシフェン(2mg)を5回投与し、経時的に脳を採取して免疫染色解析を行い、また脳からミクログリアを調整して、その後の解析を行なった。

## 4. 研究成果

(1) hAPP-KI/CX3CR1creERT/Rosa26-LSL-EYFPマウスにタモキシフェンを5回投与し、ミクログリア細胞をEYFPにて標識した。この後、脳からミクログリア細胞を調整しフローサイトメーターにて解析したところ、97%以上のミクログリア細胞がEYFP陽性となっていた。他の細胞はEYFPにて標識されておらず、高い標識効率と特異性が確認できた。

(2) hAPP-KI/CX3CR1creERT/Rosa26-LSL-EYFPマウスから脳を摘出し、免疫染色を行い、ミクログリアの脳内分布解析をしたところ、アミロイド $\beta$ が沈着している周辺にEYFP陽性のミクログリア細胞が集積していることを確認出来た。

(3) hAPP-KI/CX3CR1creERT/Rosa26-LSL-DTAマウスにタモキシフェンを投与し、ミクログリア

を除去したところ、90% 以上のミクログリアが 4 週間以上に渡って除去可能であることが明らかになった。

これらの結果から、ミクログリアを特異的に可視化可能なマウスと同細胞を特異的に除去する遺伝子改変マウスのシステムが適切に機能していることが明らかになった。その後の経時的に脳を摘出し解析したところ、コントロールマウスとミクログリアを除去したマウスを比較してアミロイド  $\beta$  の集積の大きさや頻度に大きな差は無かった。この結果、アミロイド  $\beta$  の集積にミクログリアが直接寄与していない可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Yang X, Yabe-Wada T, Han J, Saito F, Ogasawara C, Yamada S, *Onai N.	4. 巻 35(6)
2. 論文標題 PCBP1 acts as a regulator of CCL2 expression in macrophages to induce recruitment of monocyte-derived macrophages into the inflamed colon.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Int. Immunol.	6. 最初と最後の頁 287-299
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxad003.	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 Kamio N, Yokota A, Tokuda Y, Ogasawara C, Nakano M, Nagao M, Tashiro K, Maekawa T, Onai N, Hirai H.	4. 巻 209(3)
2. 論文標題 A novel CD135+ subset of mouse monocytes with a distinct differentiation pathway and antigen-presenting properties.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Immunol	6. 最初と最後の頁 498-509
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.2100024.	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 N Onai and C Ogasawara	4. 巻 22(1)
2. 論文標題 Calcium pyrophosphate dihydrate crystals increase the granulocyte/monocyte progenitor (GMP) and enhance granulocyte and monocyte differentiation in vivo.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci .	6. 最初と最後の頁 262
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22010262.	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0件

〔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
---------	---------