

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2023

課題番号：20K22683

研究課題名（和文）血管性認知症に対する低酸素刺激ミクログリアによる細胞療法の開発

研究課題名（英文）Therapeutic strategy of hypoxia preconditioned microglia for vascular dementia

研究代表者

安田 謙（Yasuda, Ken）

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：90883265

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、脳血管性認知症におけるオリゴデンドロサイトの分化障害を改善できるミクログリアの形質や誘導条件を同定し、血管性認知症に対する治療応用へと展開する研究基盤を確立することを目的とする。異なる酸素分圧でのミクログリアの極性変化をmRNAレベルで確認した。その結果、軽度の低酸素刺激がミクログリアの極性をM2タイプに変化させることを確認した。また、ミクログリアへの低酸素刺激がオリゴデンドロサイト前駆細胞を含む周囲の細胞腫に対して、種々の影響を与えていることを見出した。脳血管性認知症モデルマウスに低酸素ミクログリア細胞上清を投与することで、OPCの分化障害の改善が起こることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

健康寿命の延長に伴い、認知症患者は年々増加傾向にあり、社会問題となっている。血管性認知症は認知症の原因としてアルツハイマー病に次いで頻度の高い疾患であるが、その背景病態については不明な点が多く残されており、現時点で根本的な治療法は存在しない。

本研究により、脳虚血環境において低酸素の勾配が存在していることが予想され、低酸素環境でのミクログリアからオリゴデンドロサイトへの影響についての役割の一部が明らかとなった。今回得られた知見が、血管性認知症の病態解明と新規治療法開発の基盤となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to identify microglial traits and induction conditions that can ameliorate oligodendrocyte differentiation impairment in vascular dementia and to establish a research platform to be developed for therapeutic application in vascular dementia. (1) Microglial polarity changes at different oxygen tension were identified at the mRNA level. As a result, it was confirmed that mild hypoxia changes the microglial polarity to the M2 type. (2) The results also showed that hypoxic stimulation of microglia can have various effects on the surrounding other cells, including oligodendrocyte precursor cells. (3) The administration of hypoxic microglial condition medium to a mouse model of cerebrovascular dementia caused an amelioration of OPC differentiation impairment.

研究分野：認知症

キーワード：血管性認知症 アルツハイマー病 オリゴデンドロサイト ミクログリア 低酸素 pericyte

## 1. 研究開始当初の背景

血管性認知症は、アルツハイマー病に次いで2番目に多い認知症である。皮質下血管性認知症は、血管性認知症のおよそ半分を占め、脳白質病変、オリゴデンドロサイト(OLG)・髄鞘の脱落を病理学的特徴とする。脳内でOLGの脱落が起こると、オリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)が増殖、遊走、分化することで代償しようとするが、病的環境下ではその代償反応が障害される。

血管性認知症においても、OPCからOLGへの分化が障害されることが報告されている。そのため、内因性のOPCの分化を誘導するような治療法がOLG・髄鞘再生を促進し、血管性認知症における白質病変および認知機能障害を軽減することが期待される。しかし、現時点でそのような治療法は存在しない。

従来、グリア細胞は神経細胞の支持役であると考えられてきたが、中枢神経系の生理的機能の多くを調節していることが明らかとなってきた。その中でも脳内の免疫調整細胞として知られているミクログリアは多彩な機能をもち、例えばおかれた環境によって、傷害性(炎症性)に働くM1型ならびに保護性(抗炎症性)に働くM2型にダイナミックに表現型を変化させる。しかし、異なるレベルの低酸素環境でのミクログリアの形質変化の詳細については未解明である。以上を背景として、「血管性認知症の病的環境におけるOLGの分化障害を改善できるミクログリアの形質や誘導条件を詳細に検討することにより、血管性認知症に対する新規治療法を開発できないか」という問いに至った。

## 2. 研究の目的

本研究は、脳血管性認知症における、オリゴデンドロサイトの分化障害を改善できるミクログリアの形質や誘導条件を同定し、血管性認知症に対する治療応用へと展開する研究基盤を確立することが目的である。脳虚血後の再生過程において、酸素レベルの勾配がミクログリアの極性に影響を与えている仮説のもと、異なる酸素濃度負荷後の培養ミクログリアの遺伝子発現変化の解析、OPC分化への作用を検討することで、血管性認知症の治療法開発の基盤になることが期待できる。

## 3. 研究の方法

培養細胞はラットの初代培養オリゴデンドロサイト前駆細胞、ミクログリアを用いる。

異なる濃度の低酸素負荷による初代培養ミクログリアの形質変化を詳細に解析し、オリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)の分化を促進できるミクログリアの誘導条件を同定する。具体的には異なる酸素分圧のミクログリアの細胞上清をOPCの分化培地にそれぞれ添加したときに、OPC分化を促進するミクログリアの誘導条件を検討する。最適な

低酸素刺激時間・レベルを同定し、免疫細胞染色やウェスタンブロットにより OPC 分化マーカー(myelin basic protein など)の定量評価を行う。ミクログリアの形質変化については、M1/M2 の 2 極に限定せず、RNA-seq 解析により、網羅的に検討する。

培養実験で同定した OPC の分化を促進できるミクログリアの細胞上清を、限外ろ過膜搭載型の遠心チューブ(Vivaspin ®)により濃縮し、血管性認知症モデルマウス (Bilateral carotid artery stenosis, BCAS マウス) へ投与し、白質障害が改善効果が得られる至適条件を検討する。

#### 4 . 研究成果

異なる酸素分圧 ( $O_2=21\%$ ,  $0.1\%$ ,  $5\%$ ) での初代培養ミクログリアの極性変化を mRNA レベルで確認した。その結果、軽度の低酸素刺激 ( $5\%$ ) がミクログリアの極性を M2 タイプに変化させることを確認した。また、ミクログリアへの低酸素刺激がオリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) の分化を促進させることを確認した。低酸素ミクログリアの細胞上清を濃縮して脳血管性認知症モデルマウスに投与することで、OPC の分化障害の改善が起こることを見出した。今後は、上記の知見の機序や病的意義を追求するとともに、ヒト剖検脳を用いた検証を継続する予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Yasuda Ken, Ayaki Takashi, Li Fangzhou, Kuwata Yasuhiro, Maki Takakuni, Sainouchi Makoto, Moriyoshi Koki, Nakamura Michikazu, Takahashi Ryosuke	4. 巻 42
2. 論文標題 White matter edematous change with moderate vascular lesions in pretreated acute stage of leukoencephalopathy with cerebral amyloid angiopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 134 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12782	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 KAWABATA Yasuhiro, NAKAJIMA Norio, MIYAKE Hidenori, FUKUDA Shunichi, TSUKAHARA Tetsuya, YASUDA Ken	4. 巻 50
2. 論文標題 Clinical Outcomes of Acute Atherosclerotic Large-artery Occlusion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgery for Cerebral Stroke	6. 最初と最後の頁 14 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2335/scs.50.14	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 Kondo Takayuki, Banno Haruhiko, Okunomiya Taro, Amino Yoko, Endo Kayoko, Nakakura Akiyoshi, Uozumi Ryuji, Kinoshita Akemi, Tada Harue, Morita Satoshi, Ishikawa Hidehiro, Shindo Akihiro, Yasuda Ken, Taruno Yosuke, Maki Takakuni,	4. 巻 11
2. 論文標題 Repurposing bromocriptine for A $\beta$ metabolism in Alzheimer's disease (REBRAnD) study: randomised placebo-controlled double-blind comparative trial and open-label extension trial to investigate the safety and efficacy of bromocriptine in Alzheimer's disease with presenilin 1 (PSEN1) mutations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMJ Open	6. 最初と最後の頁 e051343 ~ e051343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjopen-2021-051343	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 Jiang Guanhua, Ayaki Takashi, Maki Takakuni, Yasuda Ken, Yoshii Daisuke, Kaji Seiji, Takahashi Ryosuke	4. 巻 812
2. 論文標題 Evaluation of BCAS1-positive immature oligodendrocytes after cerebral ischemic stroke and SVD	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 137405 ~ 137405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2023.137405	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 Tokunaga Shinya, Yamao Yukihiro, Maki Takakuni, Ishii Akira, Miyake Tomoaki, Yasuda Ken, Abekura Yu, Okawa Masakazu, Kikuchi Takayuki, Fushimi Yasutaka, Yoshida Kazumichi, Miyamoto Susumu	4. 巻 5
2. 論文標題 Vessel wall imaging and carotid artery stenting for recurrent cervical internal carotid artery vasospasm syndrome: illustrative case	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery: Case Lessons	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/CASE2341	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4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Yasuda K, Maki T, Takahashi R
2. 発表標題 Effect of carbon monoxide on pericytes and oligodendrocytes in chronic cerebral hypoperfusion.
3. 学会等名 51th Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yasuda K, Maki T, Toyokawa M, Toda S, Kuwata Y, Takahashi R
2. 発表標題 The roles of oligodendrocytes in the pathogenesis of Alzheimer's disease.
3. 学会等名 50th Society for Neuroscience (SfN 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasuda K, Maki T, Nishigori R, Kinoshita Y, Ono Y, Takahashi R
2. 発表標題 Sex-specific differences in transcriptomic profiles and cellular characteristics of oligodendrocyte precursor cells.
3. 学会等名 25th World Congress of Neurology (WCN 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ken Yasuda , Takakuni Maki , Hisanori Kinoshita and Ryosuke Takahashi
2. 発表標題 The therapeutic effect of hypoxic microglia secretome on OPC differentiation.
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 安田謙 眞木崇州	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社 エル・アイ・シー	5. 総ページ数 411
3. 書名 モデル動物の作製と利用 - 循環器疾患2021	

〔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
---------	---------