

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22789

研究課題名（和文）アルツハイマー病の脳内炎症における制御性T細胞の意義の解明

研究課題名（英文）The characterization of regulatory T cells in neuroinflammation of Alzheimer's disease

研究代表者

大谷木 正貴（OHYAGI, Masaki）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・特任助教

研究者番号：70882497

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：アミロイド病理モデルマウスであるAppノックイン（App-KI）マウスにおいて、脳内に蓄積するA β は加齢とともに増加し、活性化グリア細胞の増加とA β 沈着周囲への集簇といった脳内炎症の亢進が認められる。Foxp3陽性制御性T細胞（Treg）の脳内浸潤も経時的に増加し、Foxp3陽性Tregの薬剤誘導性選択的除去により脳内に沈着するA β が増加することを確認した。脳TregのシングルセルRNA-seq解析では、組織修復や免疫制御に関わる分子の発現増加が特徴的であった。アミロイド病理に伴う脳内炎症においてTregはA β 蓄積に抑制的に作用すると考えられ、今後治療標的となりうることを期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化に伴い我が国の認知症患者数は急増しており、特にアルツハイマー病は認知症患者の半数以上を占めるが、未だ根治治療はなく現行治療は症状軽減にとどまっている。アルツハイマー病患者脳では異常タンパク凝集と脳内炎症が亢進しており、本研究結果から生体に本来備わっている免疫調節機構の中心である制御性T細胞がアルツハイマー病の病態に深く関与していることが示唆され、今後の治療戦略につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：App knock-in mouse, a mouse model of cerebral amyloidosis, increased cerebral amyloid β plaque deposition and enhanced neuroinflammation, including activation of microglia and astrocyte, with aging. Regulatory T cells (Treg) infiltration into the brain also increased. Foxp3+Treg depletion increased cerebral amyloid β plaque deposition. Single-cell RNA-seq analysis revealed that Treg infiltrating into App knock-in mouse brain upregulated several genes associated with the regulation of immune responses. These findings suggest a key role of brain-infiltrating Treg in β -amyloid pathology.

研究分野：神経免疫

キーワード：認知症 アルツハイマー病 脳内炎症

1. 研究開始当初の背景

高齢化に伴いわが国の認知症患者数は急増しており、厚生労働省の推計によると2026年には65歳以上の5人に1人が認知症に罹患すると推定されている。特にアルツハイマー病(AD)は、認知症患者の半数以上を占め、その治療法・予防法の確立は喫緊の課題である。ADの病理学的特徴から、脳内の神経細胞外にアミロイドタンパク(A β)が凝集・沈着した老人斑が契機となり、微小管結合タンパクの一つであるTauタンパクがリン酸化されることにより細胞質内で線維化・凝集した神経原線維変化の形成を経て、神経細胞脱落に至るアミロイドカスケード仮説が支持されている。一方、近年ADに関連する遺伝子バリエーションとして*Trem2*や*Cd33*など、脳常在マクロファージであるミクログリアに発現してA β の貪食や除去に関与する分子の関与が報告され、組織学的にも変性した神経細胞の周囲には活性化したTNF、IL-1やIFN γ 陽性のミクログリアが認められることから、神経変性疾患における神経炎症研究はミクログリアを中心に解析が進められている。しかしながら、ミクログリアは神経変性に伴う炎症の他に、定常状態ではシナプス除去を含む神経回路の監視や死細胞除去といった恒常性維持に重要な役割を担うことが判明しており、神経変性疾患においてミクログリアは促進に働くのか、抑制に働くのか議論が続いており、ミクログリアを標的とした治療戦略には未だに幾多の課題が残っている。一方、制御性T細胞(Treg)はさまざまな生理的および病的な免疫応答において、抗原特異的に過剰な免疫応答を抑制することで免疫恒常性維持に働く特徴を持つ。ADモデルマウスにおいては、全身性にTregを一時的に除去することにより認知機能障害の発症が早まり、またIL-2刺激によるTregの活性化によってA β へのミクログリアの集簇の促進と認知機能の改善が報告されている一方、全身性の一時的なTreg除去、あるいは活性阻害により末梢単球系細胞の脳への浸潤が抑制され、A β 沈着や脳内の炎症応答の沈静化と認知機能の改善が得られること、Tregが産生し主に免疫抑制に作用するIL-10の過剰発現によりAD病態が増悪し、IL-10の遺伝子欠損によりAD病態が改善することが報告されており、AD病態におけるTregの役割は未だ明確でない。これは全身性のTregと脳局在性のTregを区別することが難しいことが原因のひとつと考えられる。近年注目を集める組織Tregは、リンパ組織外の組織に常在し、組織修復など恒常性維持に働くことが特徴であり、脳Tregは脳梗塞モデルにおける脳内炎症の慢性期に脳内抗原を認識して増幅、浸潤し、脳機能障害の改善と組織修復に関与することが報告されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、神経変性疾患の中で患者数が最多であるADの神経炎症における脳Tregの意義を解明することにある。ADや他の神経変性疾患における脳内のTregは細胞数が非常に少ないため解析が難しく、既報の多くは全身性にTregを除去、あるいは機能を阻害することによるAD病態への影響を検討している。これに対して、AD脳における脳Tregの機能を炎症調節と組織修復の側面から解析することを目的とし、これにより神経炎症における脳特異的Tregの機能や神経炎症や機能改善への寄与といったこれまで明らかにされていない特徴を解析する。

3. 研究の方法

本研究ではアミロイド前駆タンパク(APP)変異をノックイン手法により導入したApp-K1マウスを用い、脳内アミロイド病理と随伴する脳内炎症における脳Tregの解析を行った。フローサイトメトリー法によりApp-K1マウス脳Tregを分離し、表面マーカーの解析により脳Tregの特徴を分析した。さらに薬剤誘導性にFoxp3陽性Tregを選択的に除去できるDEREGマウス(Foxp3陽性Treg特異的ジフテリア毒素受容体発現トランスジェニックマウス)との交配で得たApp/DEREGマウスを用い、ジフテリア毒素投与によりFoxp3陽性Tregを選択的に減少させることで生じる脳内のA β 蓄積量の変化を免疫組織化学により定量的に評価した。また、シングルセルRNA-seq解析によりApp-K1マウスの脳Tregの遺伝子発現を網羅的に解析した。

4. 研究成果

アミロイド病理モデルマウスであるApp-K1マウスにおいて、免疫組織化学による解析から脳内に蓄積するA β は加齢とともに増加し、これに伴ってIBA1陽性ミクログリア、GFAP陽性アストロサイトといった活性化グリア細胞の増加とA β 沈着周囲への集簇を認め、A β 沈着に伴う脳内炎症の亢進を確認した。さらにフローサイトメトリー法による解析では、T細胞の脳内浸潤は加齢とともに増加し、脳内浸潤Foxp3陽性TregもA β 沈着量に相関して経時的に増加していた。App/DEREGマウスにおいて薬剤誘導性にFoxp3陽性Tregを選択的に除去すると大脳皮質、海馬いずれにおいてもA β 凝集は増加した。以上から脳Tregはアミロイド病理に伴う脳内炎症において何らかの病理学的役割を担っており、A β 蓄積に抑制的に作用する可能性が示唆された。アミロイド病理における脳Tregの機能を解析するためシングルセルRNA-seq解析によりApp-K1

マウスの脳 Treg の遺伝子発現を網羅的に解析したところ、App-KI マウスでは組織修復や免疫制御に関わる分子の発現が上昇していた。更なる分子生物学的解析により App-KI マウスにおける脳 Treg の機能が明らかとなり、治療標的となりうることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大谷木正貴
2. 発表標題 Peripheral lipopolysaccharides challenge aggravates β -amyloid pathology in App knock-in mouse model
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022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
---------	---------