

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：82611

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19432

研究課題名（和文）脳内免疫の老化を起点とした認知症病態の解明

研究課題名（英文）Pathological mechanism of dementia caused by aging of brain immune system

研究代表者

田辺 章悟（Tanabe, Shogo）

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 神経薬理研究部・室長

研究者番号：40772166

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：アルツハイマー病（AD）は進行的に認知機能が低下していく神経変性疾患であり、老化が強力なリスク因子であると考えられているが、免疫系が老化したときのAD病態への影響は明らかではない。本研究では、免疫系の老化がAD病態に及ぼす影響とその分子病態メカニズムの解明に取り組み、老化した脳内マクロファージはNlrp3の発現を増加することでAD病態を加速させることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫系の老化がADの病態を規定する主要な因子であると示されることで、これまで解明されてこなかった老化によるADの病態形成機序を解明できる。ADに限らず、神経変性疾患は高齢者に多い傾向にある。免疫老化がADのリスクファクターの本質であると示されることで、他の神経変性疾患の病態解明や治療法開発も繋がる可能性を秘める。

研究成果の概要（英文）：Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease characterized by a decline in cognitive function, with aging being a major risk factor. However, the impact of aging on the pathophysiology of AD in relation to the immune system remains unclear. In this study, we aimed to elucidate the effects of immune aging on AD pathophysiology and its underlying molecular mechanisms. We found that aged brain macrophages accelerate AD pathology by increasing the expression of Nlrp3.

研究分野：分子神経科学

キーワード：認知症 免疫系

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD)は老人斑の蓄積、神経原線維変化、慢性的な炎症により脳が萎縮していき、進行的に認知機能が低下していく神経変性疾患である。AD は世界中で最も患者数の多い神経変性疾患であり、65 歳以上の7人に1人が罹患している。AD 患者の多くは65 歳以上であり、老化が大きなリスクファクターであると考えられているが、老化がAD の発症リスクとなる詳細な分子基盤は解明されていない。このメカニズムが明らかになることで、老化によるAD の発症リスクを抑制できる技術の開発に繋がる可能性がある。AD の病態には神経系の細胞のみではなく、免疫系も強く関連する。AD 患者の脳にはCD4⁺ T 細胞やマクロファージが脳内に浸潤し、神経炎症を惹起して病態を悪化させていることが知られている。また、炎症を惹起させるタンパク質複合体であるインフラマソームを抑制させることでAD モデルマウスの病態が抑制される (Lonneman et al., Proc Natl Acad Sci U S A., 2020)。しかし、老化によるAD リスク増大と免疫系との関連は明らかではなかった。

免疫系は老化することで生体防御機能が低下する一方、慢性炎症や自己免疫などを引き起こすようになるなどその機能を大きく変化させることが知られる。通常、中枢神経系においては、免疫系細胞は脳実質にはほとんど存在しないものの、髄膜や脈絡叢など特定の脳領域に局在して脳機能を制御しているが、老化した脳においてはCD8⁺ T 細胞やナチュラルキラー細胞が脳室下帯に多く局在するようになるなど、脳においても免疫系は老化することでなんらかの機能を変化させていることが伺える (Gata et al., Nature, 2020; Jin et al., Nat. Neurosci., 2021)。しかし、免疫系の老化とAD 病態との関連は今までに明らかにされてこなかった。

2. 研究の目的

免疫老化のAD 病態への寄与は解明されていない。本研究では、免疫系の老化とAD の病態との関連を明らかにし、AD の病態進行を遅延させる新たな治療標的分子の発見を目指す。

3. 研究の方法

老化した免疫系細胞のAD における役割を明らかにするため、アルツハイマー病モデル動物であるAPP^{NL-G-F}マウスを用いた (Saito et al., Nat. Neurosci., 2014)。APP^{NL-G-F}マウスは老人斑を構成するペプチドであるアミロイドベータ (Aβ)の前駆タンパク質 (Amyloid precursor protein: APP)をコードする遺伝子に変異が挿入されたノックインマウスであり、脳内に多量の老人斑が蓄積する。このAPP^{NL-G-F}マウスに老化マウスの骨髄を移植し、AD の病態変化を恐怖条件付けによる行動試験や老人斑の蓄積を組織学的に観察することで解析した。移植後の老化した脳内の免疫系細胞を調べるために、CD45⁺ 免疫系細胞を分取してsingle cell RNA-seqを行うことで1細胞レベルで遺伝子発現パターンを解析して老化によって発現が変化する遺伝子の探索を行った。Single cell RNA-seqで変化が観察された*Nlrp3* 遺伝子を老化した骨髄からCRISPR-Cas9により欠損させ、その骨髄をAPP^{NL-G-F}マウスに移植して*Nlrp3* が免疫老化によるAD 病態の加速に寄与するのかを行動解析や組織学的な解析により検討した。

4. 研究成果

1. 老化マウスの骨髄を移植するとAD の病態が加速する

免疫老化による影響を明らかにするため、APP^{NL-G-F}マウスに対し、老化マウスの骨髄を移植して病態の観察を行った。骨髄移植の効率はCAG-GFPマウスの骨髄を移植することで評価し、末梢血中の免疫系細胞のうち97%以上が移植できていることが確認できた。老化マウスの骨髄を移植したAPP^{NL-G-F}マウス (APP-O) の認知機能を恐怖条件付け試験で解析したところ、若齢マウスの骨髄を移植したAPP^{NL-G-F}マウス (APP-Y)に比べてすくみ反応時間が短縮していた。骨髄移植を施さないAPP^{NL-G-F}マウスの同じ月齢ではすくみ反応時間の縮小が見られなかったことから、APP-Oマウスでは認知機能の低下が加速していたことが考えられる。さらに、APP-Oマウスの脳内では、APP-Yマウスに比べてミクログリアやアストロサイトの活性化、マクロファージの脳内浸潤、老人斑の蓄積が増加していることや海馬の神経細胞におけるスパイン数が減少していたことが組織学的な解析により確認された。これらの結果から、免疫系を老化させることでAD 病態が加速し、認知機能の低下を促進させていることが示唆された。

2. 老化した脳内マクロファージで*Nlrp3* の発現が亢進する

AD 病態を加速させる免疫系細胞を特定するため、APP-Y, APP-Oマウスの脳から免疫系細胞を分取してsingle cell RNA-seqを行い、CD4⁺ T 細胞, CD8⁺ T 細胞, B 細胞, NK 細胞, マクロファージ, 単球, 好中球などに分類することができた。それぞれの細胞における遺伝子発現変動を解析したところ、マクロファージにおいて特に多くの遺伝子発現変動が観察され、それらの遺伝子群に対するgene ontology解析 (GO解析)を行うと'cell migration', 'cell motility', 'inflammatory responses'などのGO termに属する遺伝子が多く検出された。さらに、インフラマソームの構成タンパク質をコードしている*Nlrp3* の発現が増加していることがわかった。*Nlrp3* がコードするNLR family pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3)はAPC, caspase-1などと複合体を構成し、IL-1β やIL-18などの炎症性サイトカインを活性化させる。このから、老化したマクロファージはNLRP3の発現が亢進し、ADの脳における神経炎症の起点となっている可能性が考えられる。

3. *Nlrp3* は免疫老化による AD 病態加速に寄与する

老化した免疫系細胞における *Nlrp3* の AD 病態への寄与を検討するために、老化マウスの骨髄を培養し、CRISPR-Cas9 を用いたゲノム編集を施して *Nlrp3* の発現を欠損させた。対照群、*Nlrp3* gRNA 群の老化マウス由来の骨髄を APP^{NL-G-F} マウスに移植して AD 病態を観察した。ゲノム編集効率は移植後の骨髄からゲノム DNA と RNA を採取し、DNA の組換え効率や *Nlrp3* の mRNA 発現量を解析することで確認し、*Nlrp3* が欠損されていることを確認した。骨髄移植の結果、*Nlrp3* の発現を欠損させたマウスでは対照群と比べて恐怖条件付け試験のすくみ反応時間が増加していた。さらに、脳内におけるミクログリアやアストロサイトの活性化、マクロファージの脳内浸潤、老人斑の蓄積、スパインの減少が抑制されていることが組織学的な解析により確認された。

以上の結果から、老化した脳内マクロファージは *Nlrp3* 遺伝子の発現を亢進させることで炎症を増悪させ、AD 病態を加速させることが示唆された。NLRP3 インフラマソームは IL-1 β や IL-18 を活性化させ、これらのサイトカインは A β の産生を促進させることが報告されている (Velagapudi et al., Eur. J. Nutr., 2016; Sutinen et al., J. Neuroinflammation, 2012)。一方、APP^{NL-G-F} マウスでは全身で NLRP3 の発現を欠損させても AD 病態に変化がなかったことが近年の研究で報告された (Srinivasan et al., Front. Immunol., 2024)。本研究からも NLRP3 の発現上昇は老化させたマクロファージからしか検出されなかった。これまでの研究と合わせて考えると、少なくとも APP^{NL-G-F} マウスにおける NLRP3 インフラマソームは免疫系が若い間には病態への関与が薄い一方で、老化したときには炎症を増大させ AD 病態を加速させる因子であることが伺える。今後、老化したマクロファージで NLRP3 の発現が増加する機序が解明されることで老化が AD 病態を加速させるメカニズムの詳細が明らかになり、AD の発症リスクを抑制させる治療法開発に繋が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 田辺章悟、村松里衣子
2. 発表標題 免疫系の老化がアルツハイマー病の病態を加速させるメカニズム
3. 学会等名 6NCリトリート
4. 発表年 2023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
---------	---------