

令和 6 年 5 月 8 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19441

研究課題名（和文）脳内修復におけるミクログリアによるタウ排泄機序の解明

研究課題名（英文）The mechanism of tau excretion by microglia in brain repair

研究代表者

金澤 雅人（Kanazawa, Masato）

新潟大学・脳研究所・准教授

研究者番号：80645101

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：認知症の原因とその治療として、脳神経外科との融合的な発想をもとに、脳血管性認知症の原因とそれに対する治療戦略に挑戦した。脳血管障害モデルを用い、認知症の原因となるタウ蓄積が生じるかを検証した。結果、脳血管障害後にタウ蓄積することを見出し、外因性タウの脳室内投与で認知機能障害は増悪した。また、その蓄積に、ミクログリアが関係すると仮説し、薬剤にてミクログリアを除去すると虚血ラットの認知機能障害増悪を見出した。さらに脳虚血後の脳組織のプロテオミクス解析で、ミクログリアの性質を変化させる標的蛋白質を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳血管障害に伴うタウ蛋白蓄積を解明することのみならず、その障害の基盤を解明する研究である。特に脳血管障害と神経変性疾患という一見関係がない疾患を類似病態として捉え、解明することはこれまでと一線を画すものである。

今回、脳血管性認知症の原因としてタウ蓄積が関与すること、その原因としてミクログリアが関係することを明らかにした。さらに、ミクログリアの性質を変化させる標的蛋白質も明らかにすることができた。それに対する介入で、脳血管性認知症の改善のみならず、アルツハイマー病や外傷性脳損傷の認知機能低下にも介入する可能性を考えており、発展の可能性を示すことができたことは学術、社会的に意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：Based on an integrative concept with neurosurgery, we challenged the causes of cerebrovascular dementia and treatment strategies for it. Using a focal cerebral ischemia model, we examined whether tau accumulation occurs as a cause of dementia. We found that tau accumulation occurs after cerebral ischemic injury, and that intracerebroventricular administration of exogenous tau protein exacerbated cognitive dysfunction. We also hypothesized that microglia are involved in the accumulation of tau, and found that removal of microglia with a drug exacerbated cognitive impairment and decreased spontaneity in ischemic rats. In addition, we found a target protein that changes the properties of microglia by proteomics analysis of brain tissue after cerebral ischemia.

研究分野：神経内科

キーワード：タウ 分解 排泄障害 認知症 脳血管障害 ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

高齢化で2040年には900万人が認知症に罹患すると推定され、重大な社会問題である。認知症の原因として注目されているタウ蛋白質は、ストレス後産生されるが、過剰に蓄積することで認知機能を低下させる。アルツハイマー病では、タウ蛋白質病変の周囲にミクログリアが集簇し、TREM2受容体を介したタウ蛋白質貪食後、タウ蛋白質が細胞外へ排泄され、蓄積すると考えられている(Wang, Cell 2015, Leys, Nat Neurosci 2019)。認知症で2番目に多い脳梗塞例でも、タウ蛋白質蓄積、認知機能低下が生じる(Hatsuta, Acta Neuropath Comm 2018)が、脳血管障害と神経変性疾患は分野が脳神経外科と脳神経内科で異なることもあり、あまり注目されていない。認知症研究はアルツハイマー病が主体で神経に注目されているが、根本的な解決には至っていないのが現状である。

申請者はこれまで、脳血管障害の病態研究に従事し、虚血刺激により転写因子PPAR γ を介して、ミクログリアの極性を組織保護的に変化させることを示している。また認知症に関わるプログランニューリンが脳梗塞でも保護に作用することを示した(右図、Brain 2015, Sci Rep 2017/2019, Int J Mol Sci 2017)。脳血管障害と神経変性疾患という全く異なる病態と考えられている疾患も関連するという新しい視点から、本提案を着想するに至った。

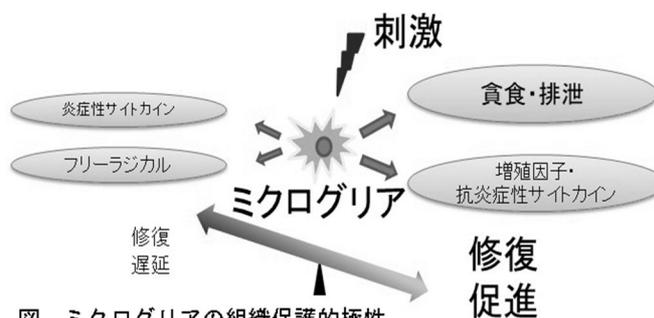


図 ミクログリアの組織保護的極性

2. 研究の目的

認知症の原因とその治療として、脳神経外科との融合的な発想をもとに、脳血管性認知症の病態機序を明らかにし、アルツハイマー病も含めた治療戦略に挑戦する。

3. 研究の方法

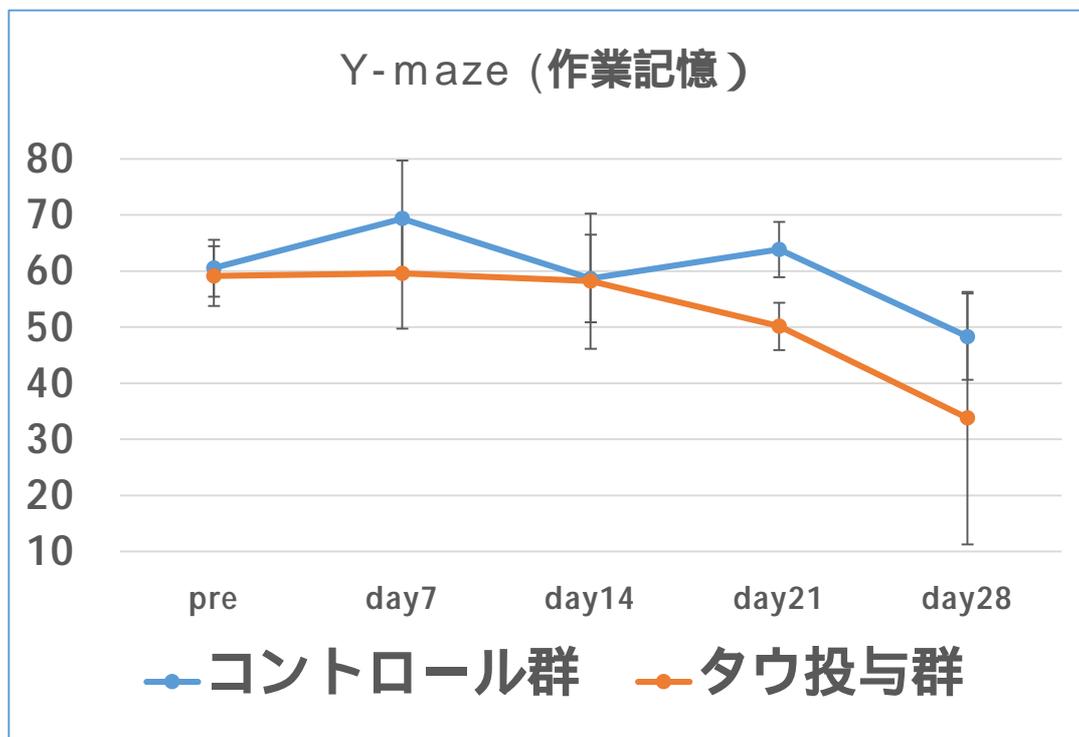
- ・ラット塞栓系脳梗塞再還流モデルを使用する。認知機能はY迷路試験で評価した。さらに、組み換えタウ蛋白質(5 μ g、Bon Opus Bioscience, BP228)とその対照としてリン酸緩衝生理食塩水を虚血7日後に脳室内投与することで、脳血管性認知症がさらに増悪するかを検証した。
- ・脳虚血モデルを作成し、虚血前、虚血10日、虚血28日の病理サンプルを用いて、免疫染色を行った。630倍一視野あたりのタウ蛋白質陽性細胞数を評価した。
- ・ミクログリアの関与を検討するため、ミクログリアを除去するPLX3397含有餌25g/日を2週間与えて、タウ発現と作業記憶障害の違いを評価した。
- ・ミクログリア除去で症状が変化した際には、脳組織のプロテオミクス解析で標的蛋白質を検討した。

4. 研究成果

1. 脳梗塞後、タウ蓄積で認知症状は増悪する

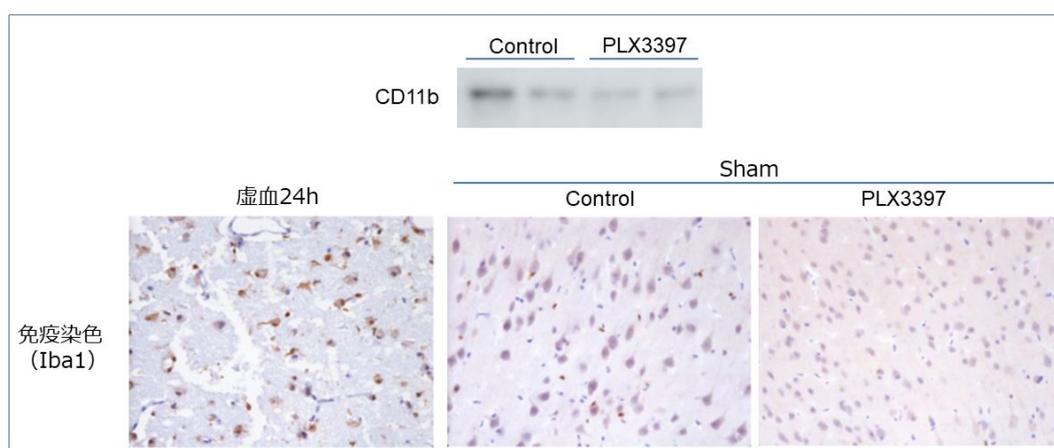
脳梗塞後の認知機能障害を評価するためY迷路試験を行った。術前には60%であった作業記憶は、虚血28日後低下した。私たちは、脳虚血後にタウ蛋白質が神経細胞に蓄積することを見出しているが、タウが本当に脳虚血後の認知症に関わるかを検証するため、組

み換えタウ蛋白質を脳室内に定位脳手術にて投与した。結果、虚血28日後に作業記憶の低下は増悪した。



2. ミクログリア除去にて脳梗塞後のリン酸化タウ蛋白質蓄積が増悪する

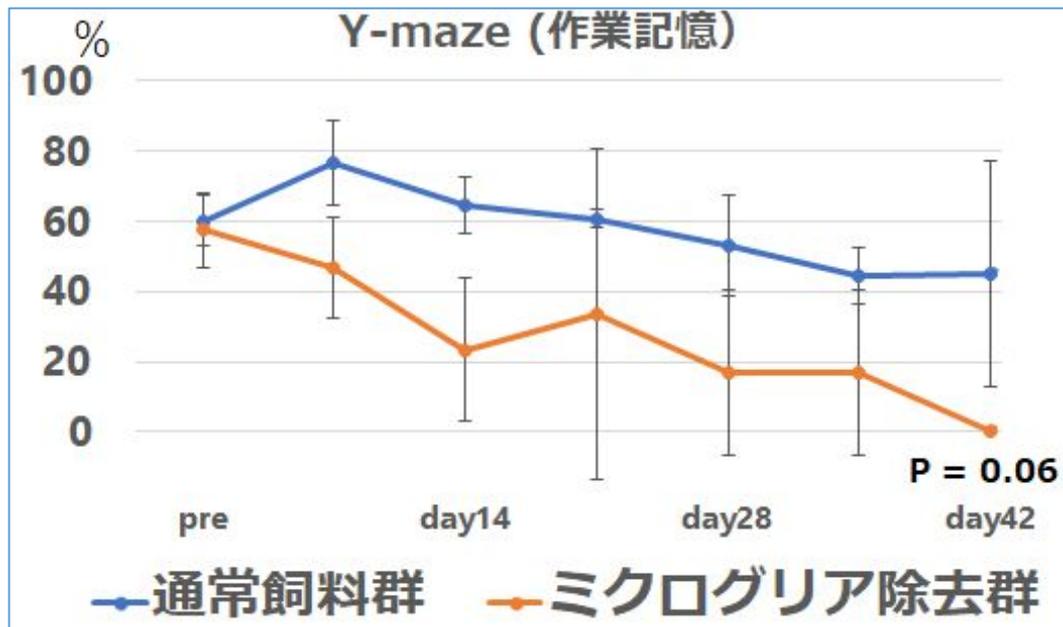
初めに、CSF1受容体阻害薬であるPLX3397含有餌を摂取させ、ミクログリアが除去できるかを検証した。対照では、ミクログリアが発現しているCD11bの発現をウエスタンブロットで確認できたが、PLX3397負荷でその発現が減じた。さらに、免疫染色でも対照で発現していたミクログリアマーカーIba1は、ほとんど観察できなくなった。



このミクログリアが除去されている状態で、経時的なリン酸化タウ蛋白質の発現をAT8染色にて観察した。虚血10日では、AT8陽性細胞数はPLX3397群と対照群で有意差はなかったが、虚血28日はPLX3397群で有意にAT8陽性細胞数の増加が増加していた。

	虚血10日	虚血28日
通常飼料群 (平均%)	45.8	63.1
ミクログリア除去群 (平均%)	68.9	78.6
P値	0.09	0.017

ミクログリア除去による認知機能を評価するためY迷路試験を行った。ミクログリア除去群では、対照と比べて認知機能低下が強く、虚血42日の時点では改善せず、悪化した (P=0.06)。一方、虚血7日からミクログリアを除去した際には、症状は変わりなかった。



3. ミクログリア除去にてリン酸化タウ蛋白質蓄積する機序

ミクログリアがタウ蛋白質蓄積に及ぼす因子を明らかにするため、脳組織のプロテオミクス解析を行った。結果、保護的なミクログリアが分泌する成長因子が低下していることが分かった。

これらの結果から、保護的なミクログリアが存在し、成長因子を分泌されていることが、脳梗塞後のリン酸化タウ蛋白質蓄積を防ぐ可能性を考えた。タウ蛋白質蓄積を制御することでアルツハイマー病も含む認知症の治療にもつながり、さらにどのようにして介入するかを検討している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 金澤雅人
2. 発表標題 非神経細胞を用いた脳梗塞機能回復促進療法
3. 学会等名 第65回日本脳循環代謝学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金山武史、畠山公大、大津裕、秋山夏葵、二宮格、小野寺理、下畑享良、金澤雅人
2. 発表標題 脳梗塞治療に対する低酸素低糖刺激末梢血単核球投与による脳内変化
3. 学会等名 第65回日本脳循環代謝学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yutaka Otsu, Takeshi Kanayama, Itaru Ninomiya, Masahiro Hatakeyama, Osamu Onodera, Masato Kanazawa.
2. 発表標題 A chronological study of phosphorylated tau expression in acute and chronic ischemic rat models.
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 急性期脳梗塞における、単球由来マクロファージの化学的分化転換を利用した、生体内神経再生療法の開発
2. 発表標題 二宮 格, 小山哲秀, 大津裕, 小野寺理, 金澤雅人
3. 学会等名 STROKE2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yutaka Otsu, Masahiro Hatakeyama, Takeshi Kanayama, Natsuki Akiyama, Itaru Ninomiya, Kaoru Omae, Osamu Onodera, Masanori Fukushima, Takayoshi Shimohata, Masato Kanazawa
2. 発表標題 miRNA mediated neurovascular unit refinement by oxygen-glucose deprivation peripheral blood mononuclear cells against ischemic stroke
3. 学会等名 International Stroke Conference 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Nima Rezaei, Editor	4. 発行年 2024年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 3125
3. 書名 Comprehensive Hematology and Stem Cell Research	

〔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
研究分担者	田井中 一貴 (Tainaka Kazuki) (80506113)	新潟大学・脳研究所・教授 (13101)	
研究分担者	清水 宏 (Shimizu Hitoshi) (40608767)	新潟大学・脳研究所・准教授 (13101)	
研究分担者	上野 将紀 (Ueno Masaki) (40435631)	新潟大学・脳研究所・教授 (13101)	

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
---------	---------