

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号： 33916
 研究種目： 基盤研究 (C)
 研究期間： 2010 ~ 2012
 課題番号： 22590945
 研究課題名 (和文) 神経疾患でのミクログリアの病態発現に果たす役割の解明と
 診断治療への応用
 研究課題名 (英文) Elucidation of the role of microglia in the pathogenesis of
 neurological disorders.
 研究代表者
 武藤 多津郎 (MUTOH TATSURO)
 藤田保健衛生大学 医学部 教授
 研究者番号： 60190857

研究成果の概要 (和文) : 最近のミクログリア (MG) を巡る研究展開より、種々の神経疾患でその各々の病態形成に主要な役割を果たしていることが明らかとなっている。これら MG が病変部位で病態形成に如何に関与しているのか、即ち神経保護作用を示しているのかあるいは神経障害的に作用しているのかについてはその全貌は明らかになっていない。我々はこの問題を明らかにするため、神経保護的 MG と神経障害性 MG の character を糖鎖生物学的に解明することを試みた。その結果、1) 神経保護的あるいは神経障害的 MG で糖脂質特に中性糖脂質含量が大きく異なること、2) 中性糖脂質含量を化学的あるいは細胞生物学的にモジュレートすると互いにその表現形質が変換できること、3) この、中性糖脂質含量の差を利用して、実際の患者脳での病変部位に集簇する MG 機能を類推できる可能性を見出した。さらに 4) この中性糖脂質含量が大きく異なる分子機序の解明を試み、神経障害的 MG では中性糖脂質合成酵素蛋白が著減していることを明らかにした。本年度は、neuroinflammation のメディエータとなる LacCer ドメインに対する抗 LacCer 抗体は、細胞内チロシンリン酸化で見た場合神経保護的 MG は良好な反応を示すが、神経障害的 MG には変化を惹起させなかった。つまり、中性糖脂質含量・組成の差がその表現型を深く関わっている可能性を見出した。

研究成果の概要 (英文) : Recent advances on the understanding of microglia have revealed that microglia plays important roles on the development and propagation of neurological disorders, which are recruited to the lesions of the brain. What are these recruited microglia doing on the lesions of central nervous system? Previous reports including ours have demonstrated that there are two different microglia, one is acting as neuroprotective roles and other as neurotoxic roles on neurons. At present, however, the molecular mechanisms for two different phenotypes of microglia remain to be elucidated. In this study, we tried to characterize these cells from the neuro-glycobiological point of view and found that there is an obvious difference of the contents of neutral glycosphingolipids. These differences of neutral glycosphingolipid contents seem to determine their biological and immunological property.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：神経内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

最近の MG を巡る研究展開より、サイトカインの発現種類の差やスーパーオキシド発生などの差などから神経保護的 MG (P-MG) と神経障害的 MG (T-MG) があることが明らかとなってきた。中枢神経内で病変部位に集簇してくる MG が T なのか P なのかにより、病態形成に於ける役割を推定することが可能である。それでは、同じ MG で T 的に作用するものと P 的に作用するものでは一体どこに差異があるのか、お互いに転換が起きるのかなどの疑問に対する分子科学的回答を我々は持ち合わせていない。

2. 研究の目的

P 的 MG と T 的 MG の差異を糖鎖生物学的観点より解明し、T 的 MG の P 的 MG への変換を促進する方法と開発とその分子メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

我々が既に樹立している P 的及び T 的 MG のセルラインを用い、1) 各々細胞が LPS 刺激及び INF- γ 刺激に応答して発現するサイトカインプロファイルを確認する。2) これら両細胞から既報の如く全脂質を抽出し、薄層クロマトグラフで展開後、オルシノール試薬あるいはアニサルデート試薬で染色しデンシトメータで半定量を行った。さらに、3) 両細胞でその含量に明瞭な相違を認めた中性糖脂質を細胞培養液中に添加し細胞へ取り込ませた後上記 1) と同様に両細胞を刺激し、リアルタイム PCR でサイトカイン mRNA 発現パターンを確認し両細胞の相互変換が起こっているかを確認する。4) 両細胞より、中性糖脂質合成酵素特異的抗体を用い免疫沈降法用い中性糖脂質合成酵素蛋白量を Western blot 法で比較した。

4. 研究成果

上記のように実験を進め、下記の結果を得ている。即ち、1) P 的 MG と T 的 MG の細胞内糖脂質分析の結果、T 的 MG は中性及び酸性糖脂質含量が P 的 MG に比し著減していた。2) その理由は、T 的 MG 中の glucosyleceramide (GlcCer) 合成酵素蛋白が著減していることによるものと考えられ、GlcCer を分解する glucocerebrosidase 活性は両者に差異はなかった。3) T 的 MG 培養液中に GlcCer を投与すると LPS に対するサイトカインの反応性が P 的 MG のそれと類似するようになることが判明した。即ち、これら両者は相互に転換の可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

- ① **武藤多津郎**. 抗中性糖脂質抗体と辺縁系脳炎. 査読有. 神経内科 (in press)
- ② 石川等真、植田晃広、新美芳樹、引地智加、河村直樹、島さゆり、宮下忠行、伊藤信二、朝倉邦彦、**武藤多津郎**. 左角回から側頭葉にかけての深部白質の脳梗塞で漢字の純粋失書を呈した1例. 脳卒中. 査読有. (in press)
- ③ Kato M, Kawaguchi K, Nakai S, Murakami K, Hori H, Ohashi A, Hiki Y, Ito S, Shimano Y, Suzuki N, Sugiyama S, Ogawa H, Kusimoto H, **Mutoh T**, Yuzawa Y, Kitaguchi N. Potential therapeutic system for Alzheimer's disease: removal of blood A β s by hemodialyzers and its effect on the cognitive functions of renal-failure patients. *J Neural Transm*. 査読有. 2012 Dec;119(12):1533-44.
- ④ Hamano T, **Mutoh T**, Hirayama M, Uematsu H, Koga H, Umehara F, Komai K, Kuriyama M. Winged scapula in patients with myotonic dystrophy type 1. *Neuromusc Disord* 査読有. 22: 755-758, 2012
- ⑤ Kawamura N, Kizawa M, Ueda A, Niimi Y, **Mutoh T**. An update on diagnostic imaging studies of viral encephalitis. *Future Virol* 査読有. 7; 901-909, 2012
- ⑥ **Mutoh T**, Kawamura N, Hirabayashi Y, Shima S, Miyashita T, Ito S, Asakura K, Cazzaniga E, Muto E, Masserini M.

- Abnormal cross-talk between mutant presenilin 1 (I143T, G384A) and glycosphingolipid biosynthesis. *FASEB J* 査読有. 26: 3065-3074, 2012
- ⑦ Kawamura Y, Sugata K, Ihira M, Mihara T, **Mutoh T**, Asano Y and Yoshikawa T. Different characteristics of human herpesvirus 6 encephalitis between primary infection and viral reactivation. *J Clin Virol* 査読有. 51: 12–19, 2011
- ⑧ Kitaguchi N, Kawaguchi K, Nakai S, Murakami K, Ito S, Hoshino H, Hori H, Ohashi A, Shimano Y, Suzuki N, Yuzawa Y, **Mutoh T**, Sugiyama S. Reduction of Alzheimer's Disease Amyloid β in plasma by hemodialysis and its relation to cognitive functions. *Blood Purifi* 査読有. 32:57-62, 2011
- ⑨ Ito S, MD, Shima S, Ueda A, Kawamura N, Asakura K, **Mutoh T**. Transient Splenic Lesion of Corpus Callosum in the H1N1 Influenza virus–Associated Encephalitis/Encephalopathy. *Intern Med* 査読有. 50: 915-918, 2011
- ⑩ Kizawa-Ueda M, Ueda A, Kawamura N, Ishikawa T, Mutoh E, Fukuda Y, Shiroki R, Hoshinaga K, Ito S, Asasakura K, and **Mutoh T**. Levels Of Neurotrophins In Cerebrospinal Fluids From Adult Patients With Meningoencephalitis. *Eur Neurol* 査読有. 65:138-43. 2011
- ⑪ Ueda A, Shima S, Miyashita T, Ito S, Ueda M, Kusunoki S, Asakura K, and **Mutoh T**. Anti-GM1 Antibodies In Axonal form of Guillain-Barré Syndrome Affect The Integrity Of Lipid Rafts. *Mol Cell Neurosci* 査読有. 45: 355-62, 2010
- ⑫ Fukuda Y, Berry TL, Nelson M, Hunter CL, Fukuhara K, Imai H, Ito S, Ann-Charlotte Granholm-Bentley, Kaplan AP, **Mutoh T**. Stimulated Neuronal Expression of Brain-derived Neurotrophic Factor by the Analgesic Neurotrophin. *Mol Cell Neurosci* 査読有. 45:226-233, 2010
- ⑬ Hara H, Kataoka S, Anan M, Ueda A, **Mutoh T**, Tabira T. The therapeutic effects of the herbal medicine, Juzen-taiho-to, on amyloid-beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 査読有. 2010;20(2):427-39.
- ⑭ Kawaguchi K, Kitaguchi N, Nakai S, Murakami K, Asakura K, **Mutoh T**, Fujita Y, Sugiyama S. Novel therapeutic approach for Alzheimer's disease by removing amyloid protein from the brain with extracorporeal system. *J Art Org* 査読有. 13:31-7. 2010
- ⑮ Hamano T, Kawamura Y, **Mutoh T**, Hirayama M, Kuriyama M. Muscle MRI in myotonic dystrophy type with foot drop. *Eur Neurol* 査読有. 63; 144-148, 2010
- [学会発表] (計 3件)
- ① 石川等真. 当院における抗 CV2 抗体陽性患者の臨床的特徴. 第 53 回日本神経学会学術大会 ; 2012. 5. 23. 東京
- ② 木澤真努香. 脳炎・髄膜炎成人患者脳脊髄液中神経栄養因子類の検討. 第 52 回日本神経学会学術大会 ; 2011. 5. 19.

名古屋

- ③上田真努香. 髄膜炎・脳炎患者髄液中の
神経栄養因子類の検討. 第51回日本
神経学会総会 ; 2010.5.20. 東京

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計 0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武藤 多津郎 (MUTOH TATSUROU)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号 : 6 0 1 9 0 8 5 7

(2) 研究分担者

澤田 誠 (SAWADA MAKOTO)
名古屋大学・医学部・教授
研究者番号 : 1 0 1 8 7 2 9 7

(3) 連携研究者

()