

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591721

研究課題名(和文)活性化ヒトグリア細胞による神経毒性の研究

研究課題名(英文)Study of neurotoxicity of activated human glial cells

研究代表者

橋岡 禎征 (Hashioka, Sadayuki)

島根大学・医学部・講師

研究者番号：00622523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトグリアの神経毒性を導く炎症性活性化の解析と、その神経毒性を抑制する薬物同定を行った。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤が、インターフェロン- γ によって活性化されたアストロサイトの神経毒性を有意に抑制した。またL型カルシウム拮抗剤は活性化アストロサイトのみならず活性化ミクログリアの神経毒性も有意に抑制した。これらの薬物は、活性化アストロサイト内の炎症性転写因子STAT3の705チロシン残基のリン酸化を抑制した。以上より、活性化ヒトアストロサイトの神経毒性は、STAT3のリン酸化の阻害によって抑制され、上記薬物が、活性化グリア細胞が関与している神経変性疾患の治療に応用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Using primary culture of human glial cells, we studied inflammatory activation processes of glial cells, which induce neurotoxicity, and identified the drugs that inhibited the glial neurotoxicity. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid significantly attenuated the neurotoxicity of astrocytes activated by IFN- γ . L-type calcium channel blockers significantly suppressed neurotoxic secretions from activated human astrocytes and microglia. These drugs reduced the STAT3 phosphorylation at the tyrosine-705 residue in the IFN- γ -activated astrocytes.

These findings suggest that neurotoxicity of human astrocytes is mediated by STAT3 phosphorylation both and that both histone deacetylase inhibitors and L-type calcium channel blockers could be a useful treatment option for a broad spectrum of neurodegenerative diseases. Moreover, the tyrosine-705 residue in STAT3 could be a molecular target to develop new drugs for treatment of neurodegenerative disorders.

研究分野：精神神経免疫

キーワード：ヒトグリア細胞 炎症性活性化 神経毒性 ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 L型カルシウム拮抗剤

1. 研究開始当初の背景

近年、社会の急速な高齢化に伴い、神経変性疾患による認知症患者の急増が深刻な社会問題になっている。また平成 10 年以降、我が国の自殺者数は常に年間 3 万人を超え、その大多数に抑うつ症状を伴う感情障害が関与していると見られている。これらの精神神経疾患に対し、臨床的に精神科医療が早急に介入することが大変重要であるが、基礎的研究においても病因解明、更にはそれに基づく根治的治療法の確立が望まれる。

アルツハイマー病、パーキンソン病を含む様々な神経変性疾患において、アストロサイトおよびミクログリアといったグリア細胞が炎症性に活性化し、炎症性サイトカイン、フリーラジカルといった潜在的に神経毒性を有する物質を産生することによって近傍の神経細胞を傷害し、その炎症性過程が病因に増悪因子として深く関与していることがよく知られている。近年の研究により、活性化グリア細胞は神経変性疾患のみならず、うつ病の病因にも関与していることが示唆されている。このように活性化グリア細胞は、認知症を引き起こす神経変性疾患やうつ病といった社会的問題となる精神科疾患の共通の原因因子となっている可能性があり、活性化グリア細胞によって引き起こされる炎症性・神経毒性プロセスの全容を解明することは、これら精神神経疾患の根治的治療法の確立にむけて、非常に重要と考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト初代培養グリア細胞を用いて、活性化グリアの神経毒性および炎症性因子産生を抑制する薬物・化合物を同定し、その際の作用機序を、Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (STAT)3 経路の観点から検討する。本研究は、種々の神経変性疾患やうつ病に幅広く認められる活性化グリア細胞の炎症性・神経毒性プロセスの全容を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 神経毒性評価

ヒト初代培養アストロサイト、またはヒト初代培養ミクログリアを様々な抗炎症薬物で前処置を行い、前者を interferon (IFN)- γ で、後者を lipopolysaccharide (LPS) と IFN- γ で刺激した。48 時間後、それらの培養上清をヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞へ移し、72 時間後、SH-SY5Y 細胞の生存率を MTT 法、LDH 法を用いて測定し、薬物の抗神経毒性作用をスクリーニングした。

(2) STAT3 経路解析

IFN- γ によって誘導されるヒトアストロサイトの神経毒性は、主に STAT3 経路によっ

て仲介されることを既に報告しているが、本研究では上記項目(1)で同定された神経毒性抑制薬物が、ヒトアストロサイト内における活性化 STAT3 を抑制するかどうか、抗 phospho-Tyr⁷⁰⁵-STAT3 抗体を用いてウェスタンブロット解析を用いて調べた。

(3) 炎症性因子の測定

IFN- γ で刺激されたヒトアストロサイトが産生する代表的な炎症性ケモカインである IFN- γ -inducible T cell alpha chemoattractant (I-TAC) を ELISA 法で測定した。また、IFN- γ 刺激ヒトアストロサイトが発現する選択的細胞接着分子である Intracellular adhesion molecule (ICAM)-1 の発現量を免疫細胞化学的手法により定量化し、項目(1)で同定された神経毒性抑制薬物が、これら炎症性因子を抑制するかどうか調べた。

4. 研究成果

(1) 神経毒性評価

L 型カルシウムチャネル阻害剤である nimodipine、verapamil は共に、細胞生存率に影響を与えない濃度において、IFN- γ によって誘導されたヒトアストロサイトの神経毒性を有意に抑制することが明らかになった(図 1)。更に nimodipine は、LPS によって誘導されたヒトミクログリアの神経毒性も有意に抑制した。

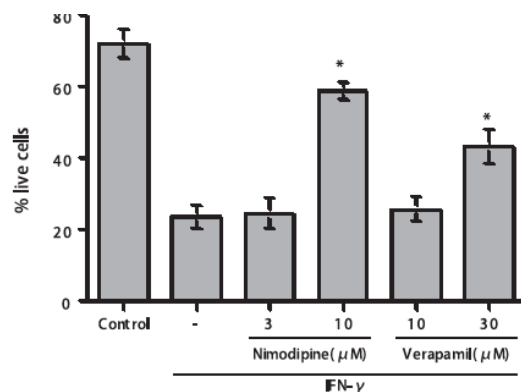


図 1 L 型カルシウムチャネル阻害剤のヒトアストロサイト神経毒性に対する効果

また、ヒストン脱アセチル化阻害剤である suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) は、細胞生存率に影響を与えない濃度において、IFN- γ 誘導性ヒトアストロサイトの神経毒性を有意に抑制することが分かった(図 2)。

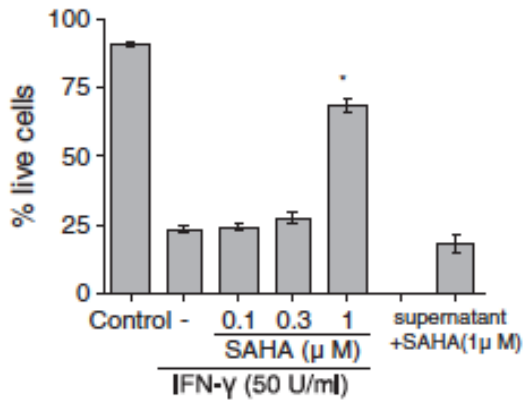


図2 SAHAのヒトアストロサイト神経毒性に対する効果

(2)STAT3経路解析

Nimodipine、verapamil および SAHA は、上記項目(1)で使用した濃度において、IFN- γ で刺激されたヒトアストロサイト内における炎症性転写因子であるSTAT3のTyr⁷⁰⁵残基のリン酸化を抑制し、STAT3の活性化を抑制することが分かった。一方、これらの薬剤は、STAT1の活性化には影響しなかった。以上の結果より、nimodipine、verapamil および SAHA は、STAT3経路を阻害することによって、IFN- γ で誘導されるヒトアストロサイトの神経毒性を抑制することが示唆された(図3)。

(3)炎症性因子の測定

Nimodipine、verapamil および SAHA は、上記項目(1)で使用した濃度において、IFN- γ で刺激されたヒトアストロサイトによるI-TACの産生を有意に抑制することが明らかになった。一方、これらの薬剤は、IFN- γ 刺激ヒトアストロサイトによるICAM-1の発現には影響しないことが分かった。

以上の結果より、nimodipine、verapamil および SAHA は、ヒトグリア細胞による炎症性・神経毒性プロセスにおいて、抗炎症作用・抗神経毒性作用を発揮するため、活性化グリアが関与する幅広い神経変性疾患に対する治療薬として応用できる可能性が示唆された(図3)。

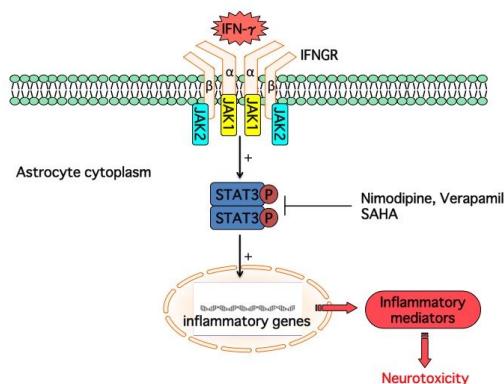


図3 ヒトアストロサイトの神経毒性抑制機序

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10件)全て査読あり

1. Hashioka S, Wang YF, Little JP, Choi HB, Klegeris A, McGeer PL, McLarnon JG. Purinergic responses of calcium-dependent signaling pathways in cultured adult human astrocytes. BMC Neurosci. 2014. 15: 18-25.
2. Hashioka S, McGeer PL, Miyaoka T, Wake R, Horiguchi J. Neuroleptics and microglial activation associated with neuropsychiatric disorders. J Neurol Disord Stroke 2014. 2: 1089-1095.
3. Madeira JM, Bajwa E, Stuart MJ, Hashioka S, Klegeris A. Gold drug auranofin could reduce neuroinflammation by inhibiting microglia cytotoxic secretions and primed respiratory burst. J. Neuroimmunol. 2014. 276: 71-79.
4. Liaury K, Miyaoka T, Tsumori T, Furuya M, Hashioka S, Wake R, Tsuchie K, Fukushima M, Limoa E, Tanra AJ, Horiguchi J. Minocycline improves recognition memory and attenuates microglial activation in Gunn rat: A possible hyperbilirubinemia-induced animal model of schizophrenia. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 2014. 50: 184-190.
5. Hashioka S, Miyaoka T, Wake R, Furuya M, Horiguchi J. Glia: an important target for anti-inflammatory and antidepressant activity. Curr. Drug Targets 2013. 14: 1322-1328.
6. Wu Z, Sun L, Hashioka S, Yu S, Schwab C, Okada R, Hayashi Y, McGeer PL, Nakanishi H. Differential pathways for interleukin-1 β production activated by chromogranin A and amyloid β in microglia. Neurobiol. Aging 2013. 34: 2715-2725.
7. Madeira JM, Renschler CJ, Mueller B, Hashioka S, Gibson DL, Klegeris A. Novel protective properties of auranofin: inhibition of human astrocyte cytotoxic secretions and direct neuroprotection. Life Sci. 2013. 92: 1072-1080.
8. Furuya M, Miyaoka T, Tsumori T, Liaury K, Hashioka S, Wake R, Tsuchie K, Fukushima M, Ezoe S, Horiguchi J.

Yokukansan promotes hippocampal neurogenesis associated with the suppression of activated microglia in Gunn rat. J. Neuroinflammation 2013. 10: 145-153.

9. Hashioka S, Klegeris A, McGeer PL. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid attenuates human astrocyte neurotoxicity induced by interferon- γ . J. Neuroinflammation 2012. 9: 113-120.

10. Hashioka S, Klegeris A, McGeer PL. Inhibition of human astrocyte and microglia neurotoxicity by calcium channel blockers. Neuropharmacology 2012. 63: 685-691.

〔学会発表〕(計3件)

1. Hashioka S, Horiguchi J. Can inhibition of microglial activation prevent various neuropsychiatric disorders? International Conference on Early Psychosis 17th November, 2014, Keio Plaza Hotel, Tokyo
2. Hashioka S, Klegeris A, Miyaoka T, Wake R, Horiguchi J, McGeer PL. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid attenuates human astrocyte neurotoxicity. International College of Geriatric Psychoneuropharmacology 1-4th October, 2014, Tsukuba International Congress Center, Tsukuba
3. 橋岡禎征 活性化ミクログリアと精神神経疾患 第40回日本脳科学会 2013年9月29日 アクトシティ浜松(浜松)

〔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：
出願年月日：
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
橋岡 禎征 (HASHIOKA SADAYUKI)
島根大学・医学部・講師
研究者番号：00622523

(2)研究分担者
なし

(4)研究協力者
Patrick L. McGeer
Department of Psychiatry, University of
British Columbia
Professor Emeritus