

第10回西日本医学生学術フォーラム 0-2-2

加齢パーキンソン病モデルマウスでの ミクログリア置換による影響

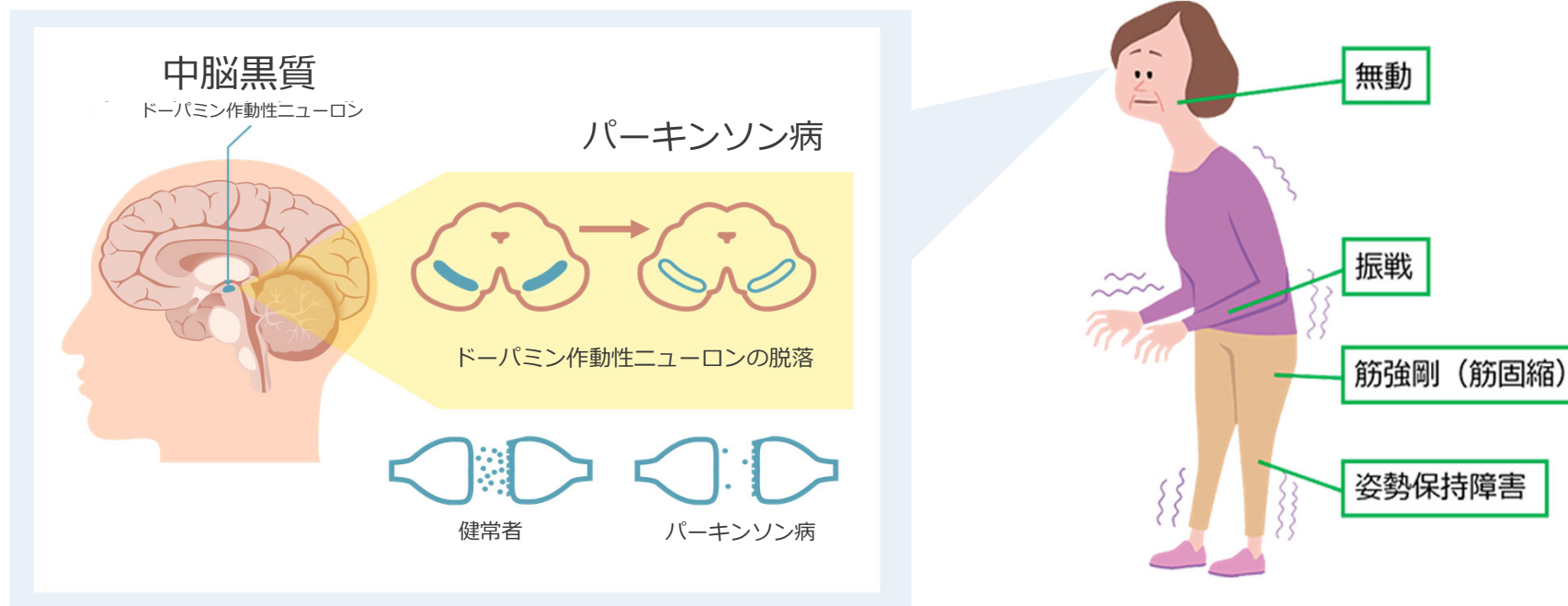
竹永 絢音¹、ME. Choudhury²、宮上 紀之¹、山本 温人¹、中條 滉太¹、塩川 大介³、永井 将弘¹

¹愛媛大学大学院医学系研究科臨床薬理学、²愛媛大学医学系研究科麻酔・周術期学、

³愛媛大学医学部附属病院先端医療創生センター

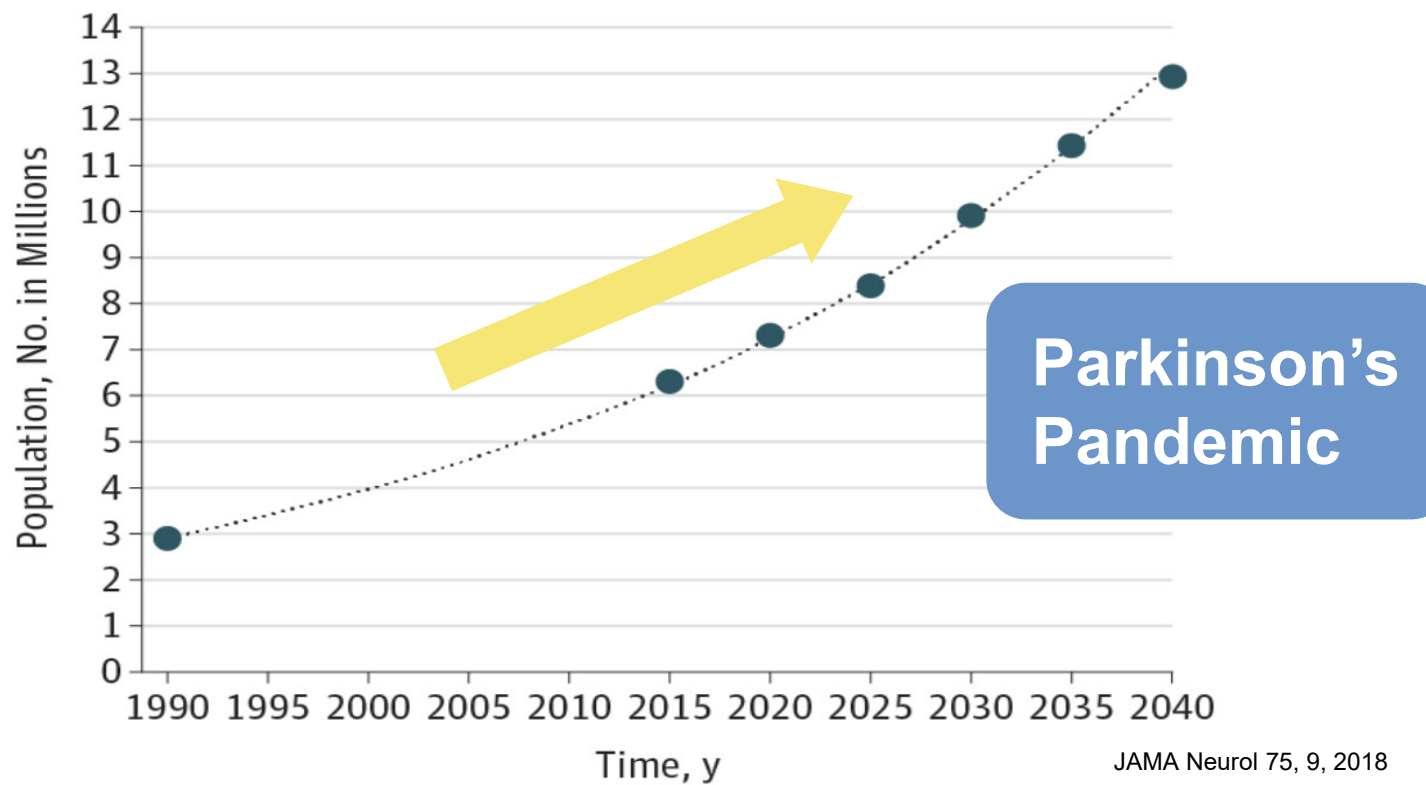
研究背景

パーキンソン病 (PD) とは？



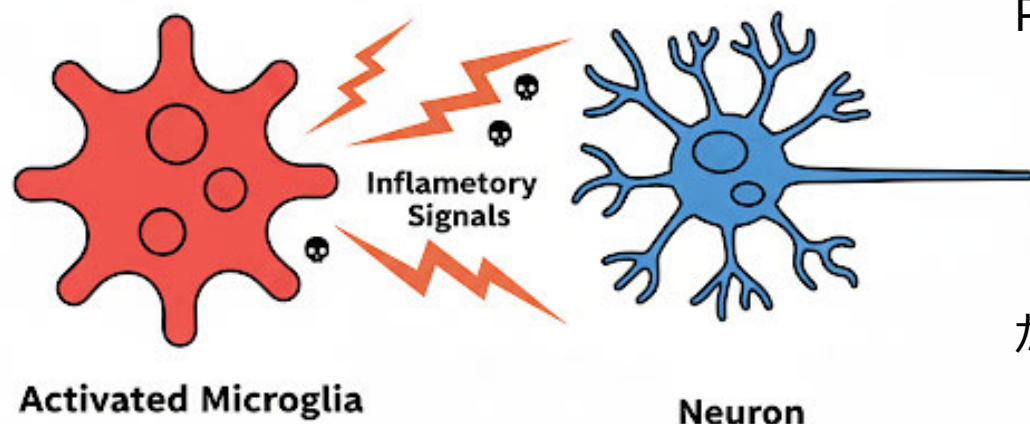
➡ 発症メカニズムが解明されておらず、根治は難しい
…… レボドパによるドーパミンの補充療法 など

研究背景



PDの発症率は加齢によって高まることが知られている
そのため、高齢化に伴い、患者数は増加している

研究背景



PD患者の脳内では、

- ・ 炎症関連サイトカインの上昇
- ・ 活性化ミクログリアの増加

が認められる



“**ミクログリアを介した神経炎症**” が

PDの病態進行に重要な役割を果たすことが示唆される

(McGeer et al, 1988, Neurology)

研究背景

加齢に伴い、ミクログリアは炎症性刺激に過敏になり、通常より強力かつ迅速に反応するようになる

Neurodegeneration

Microglia development

ミクログリアの老化は神経炎症の慢性化を引き起こし、
ドーパミン作動性ニューロンなどの神経細胞に障害を
生じさせると考えられる



高齢者に神経変性疾患が多い原因ではないか？

研究目的

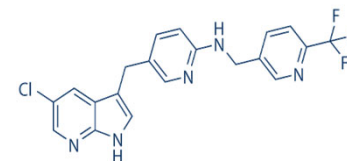
- ① 従来のモデルマウスは若齢であり、臨床で多く見られる高齢患者の病態を十分に再現出来ていない可能性がある

→ 高齢マウスを用い、加齢による影響を検討



- ② ミクログリアは生理的にアポトーシスと再増殖を行うが、比較的長寿な細胞なので、細胞の加齢によるダメージが、ミクログリアの性状変化に関連している可能性がある

→ **PLX3397 (CSF-1R阻害剤)** を投与することで、脳内のミクログリアを一時的に枯渇させ、人為的に再増殖を促す



研究方法

【Sample】

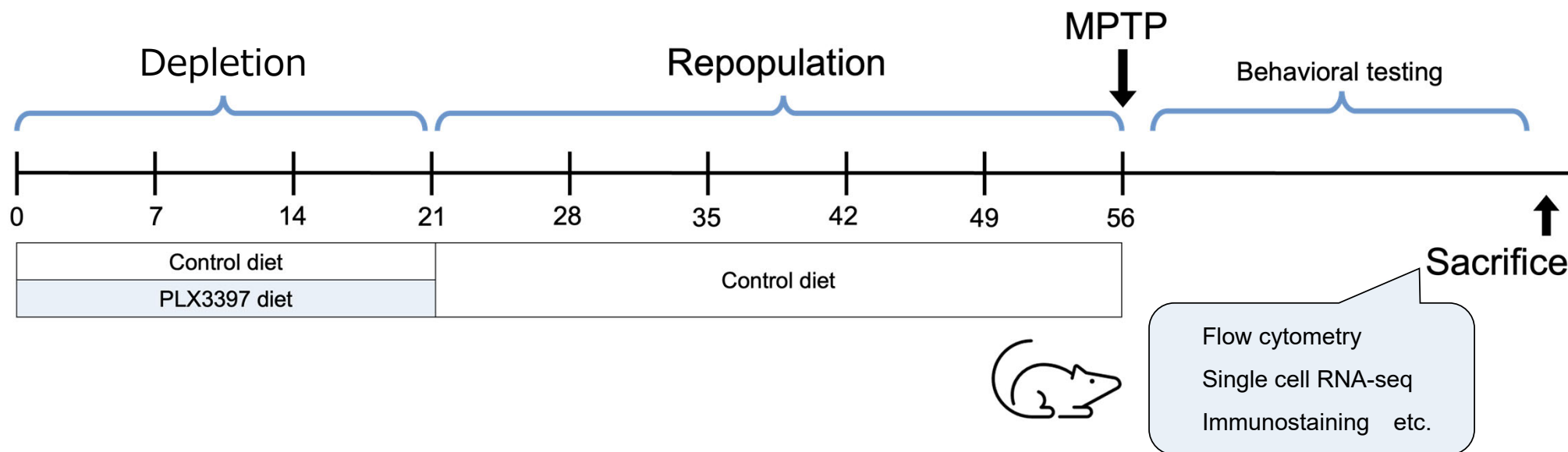
Young : 2 months old

Aged : 18 months old

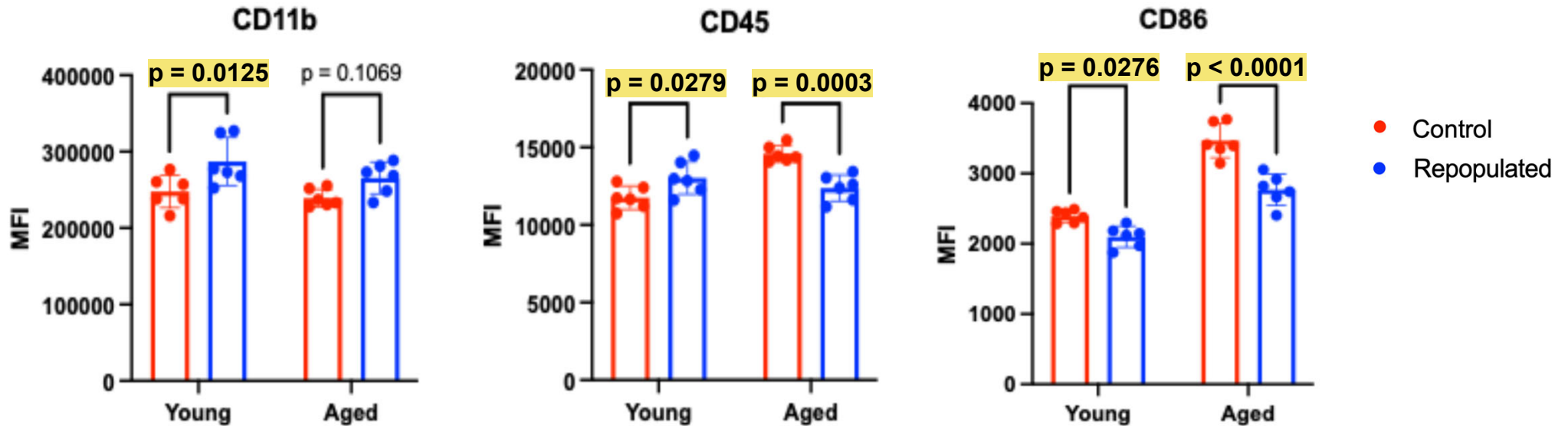
Control : MPTP+, PLX-

Repopulated : MPTP+, PLX+

} PD model

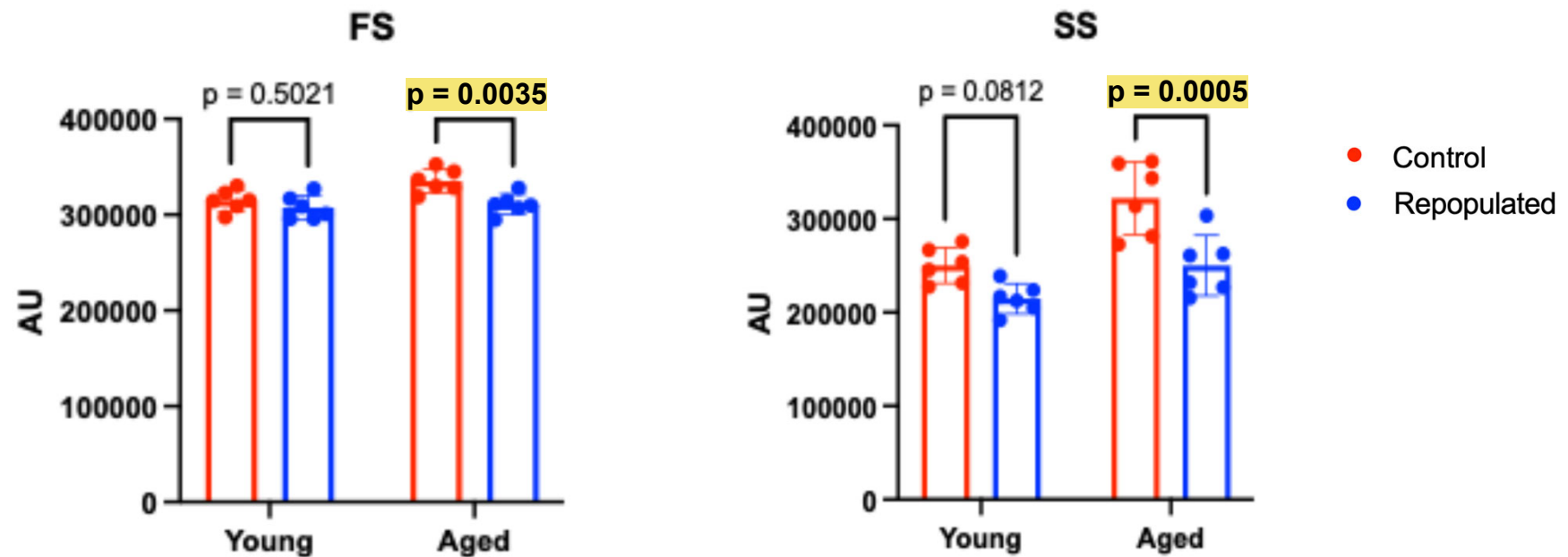


ミクログリア置換後の炎症関連タンパクの発現変化



高齢群ではCD45、CD86といった起炎症性の活性化のマーカーの発現量が有意に減少した。このことからミクログリアの置換は、炎症抑制に寄与すると考えられる。一方、若齢群ではCD11bにも有意差が認められた。これはミクログリアの恒常性の維持に繋がったものと考えられる。

ミクログリア置換はミクログリアの異常な活性化を抑制する

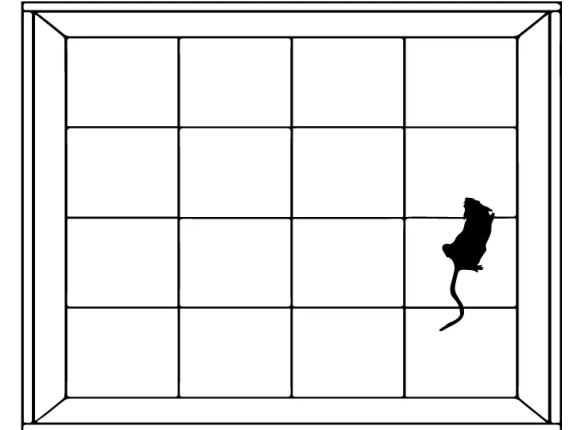
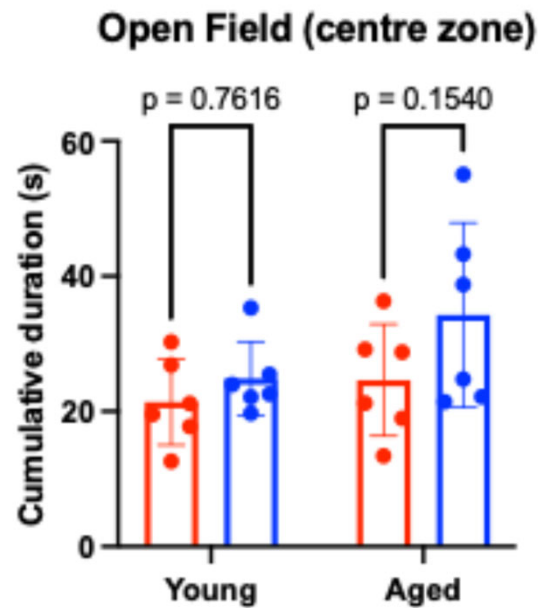
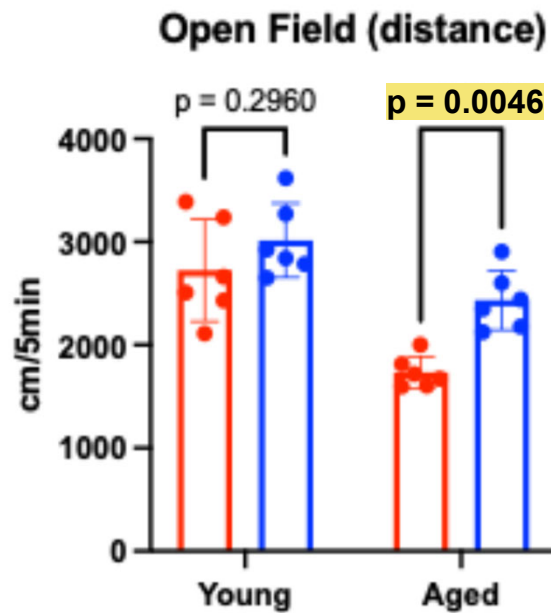


形態的には、ミクログリア置換後に細胞の大きさは小さくなっており、活性型ミクログリアの数が減少したことが予想される。また、貪食能も低下していることがわかった。

なお、これらは高年齢群で有意な結果を得た。

ミクログリア置換による行動への影響

Open Field



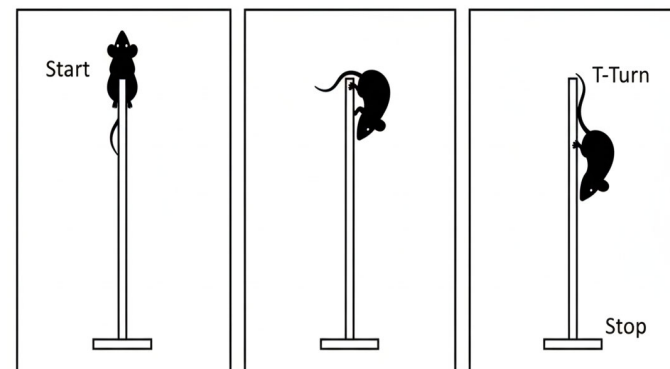
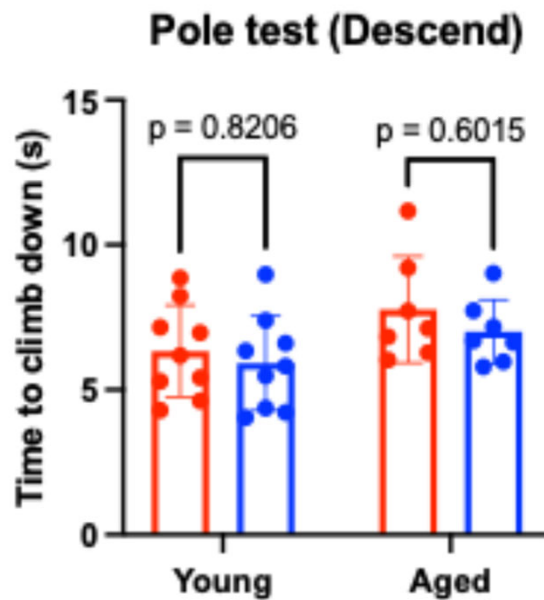
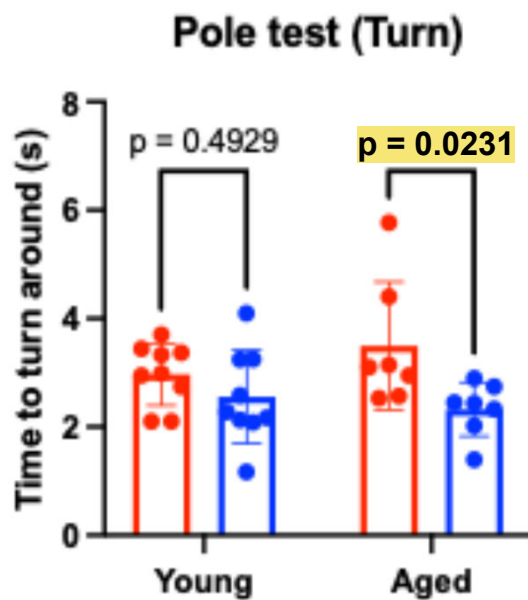
- Control
- Repopulated

特に高齢群で運動機能の改善が認められた。

一方で、精神的な不安にはあまり影響が見られなかった。

ミクログリア置換による行動への影響

Pole test

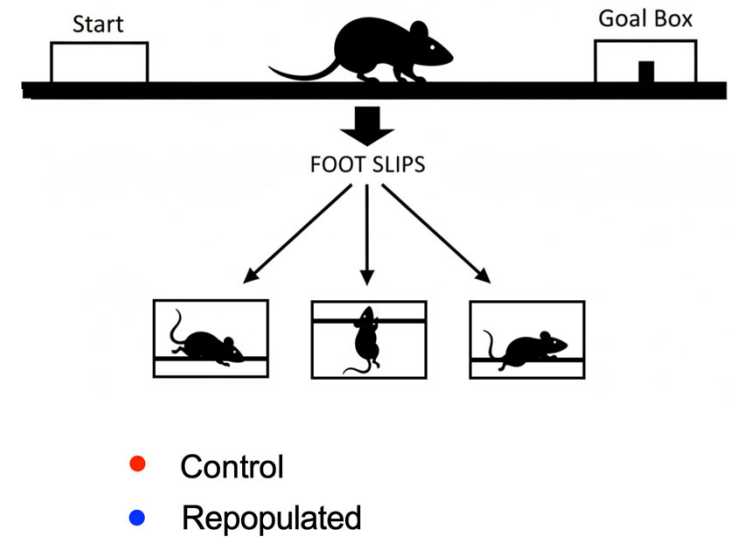
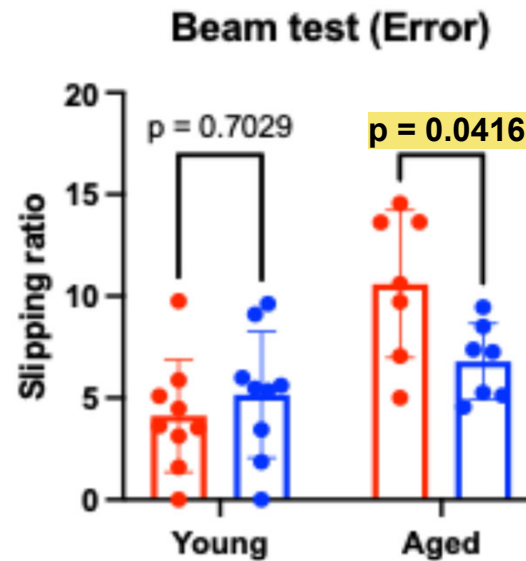
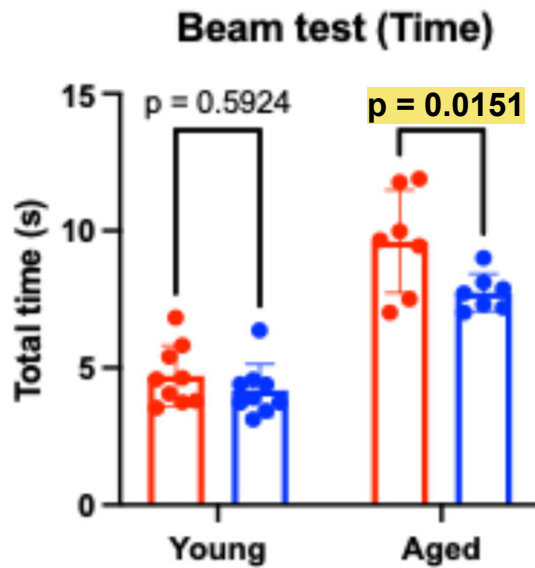


- Control
- Repopulated

PDでは動きが遅くなるが、ミクログリア置換後、特に高齢群で改善した。

ミクログリア置換による行動への影響

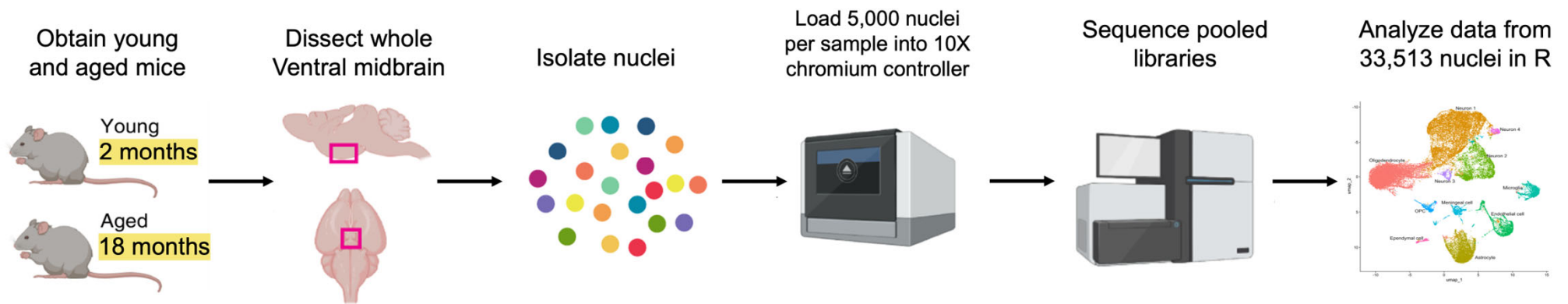
Beam test



PDで障害される協調運動能力やバランス能力が、ミクログリア置換後、特に高齢群で改善した。

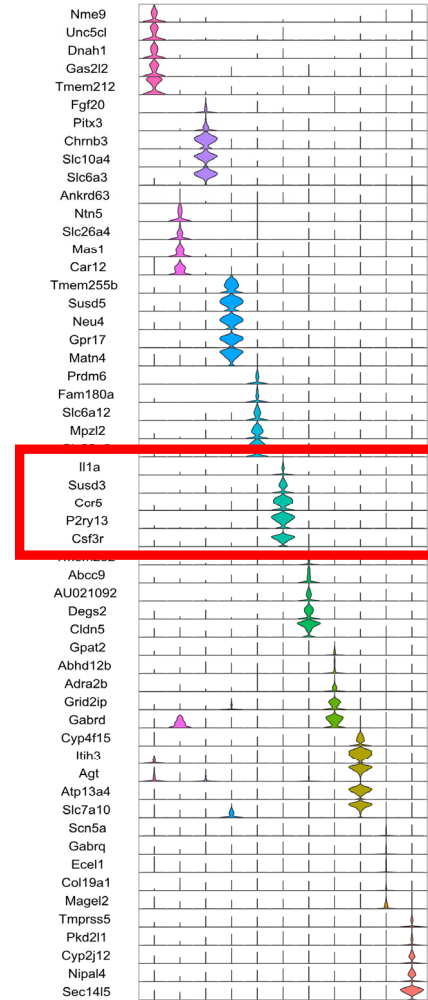
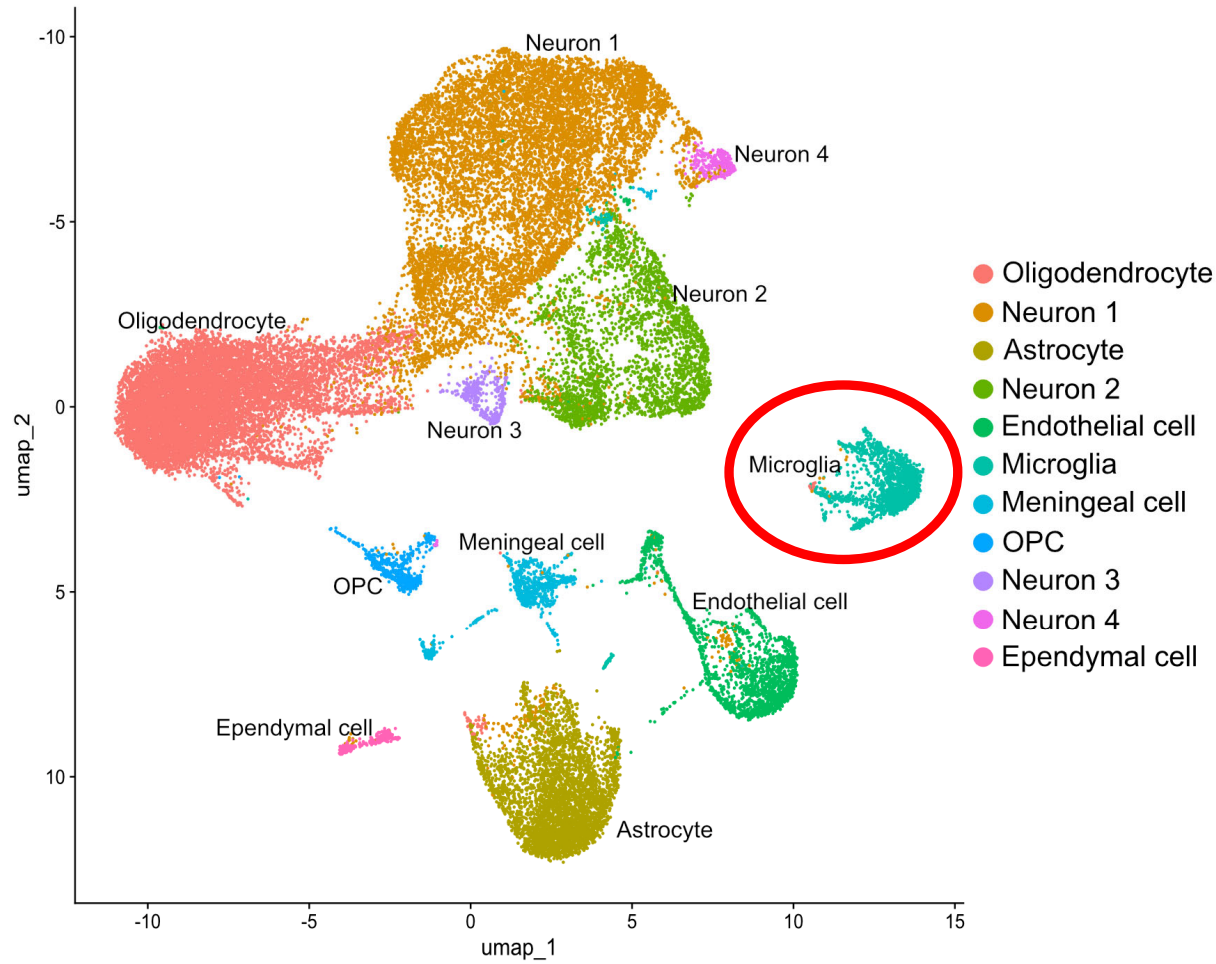
シングルセル解析

中脳腹側（Ventral midbrain）より細胞核を単離し、RNAデータを取得した。

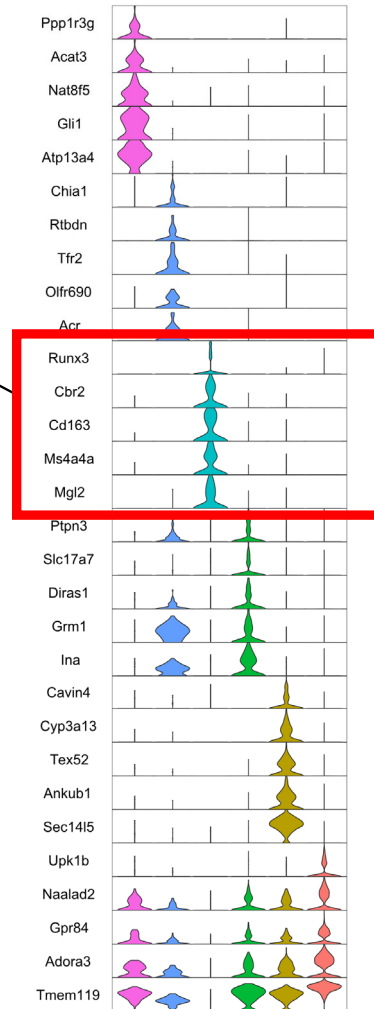
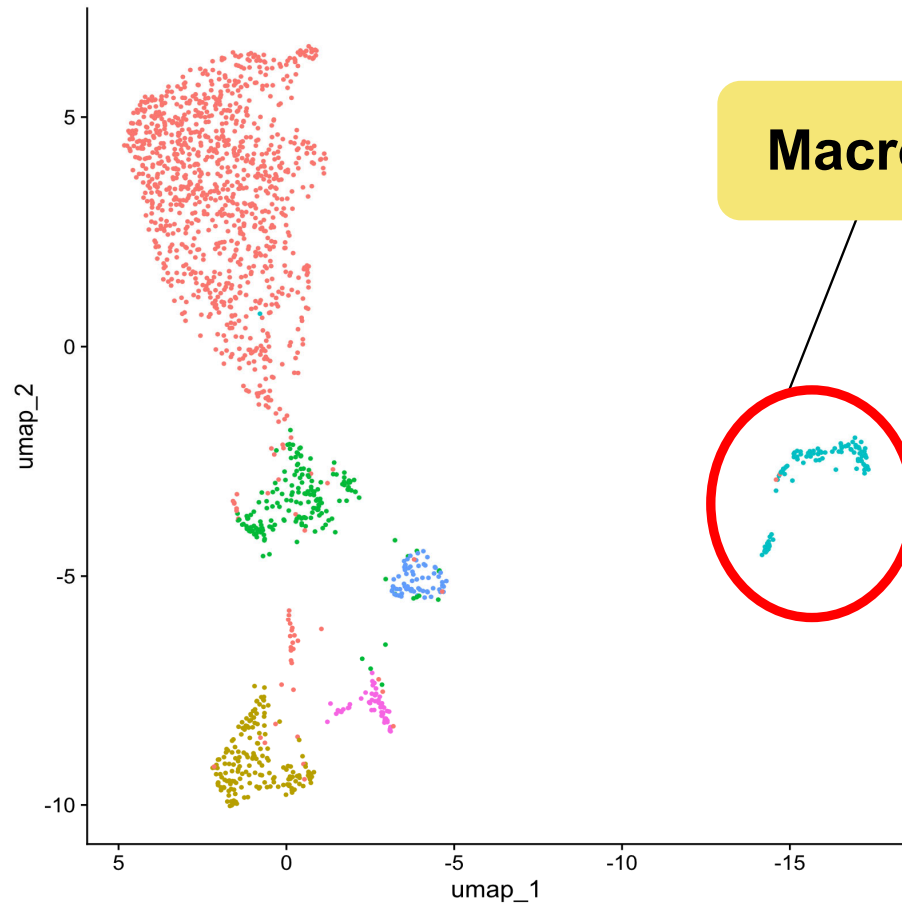


Hajdarovic et al, 2022, Nature Aging

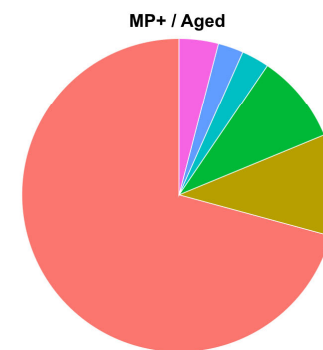
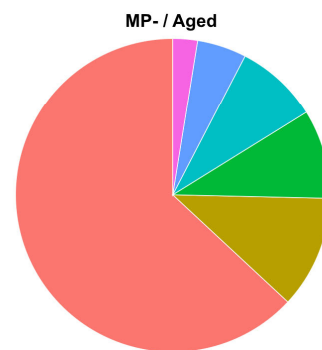
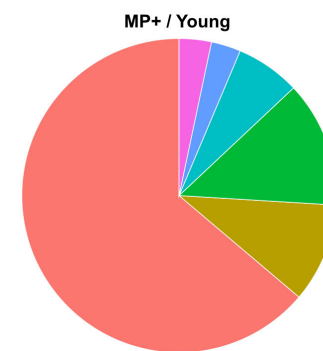
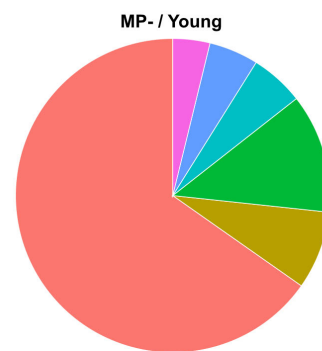
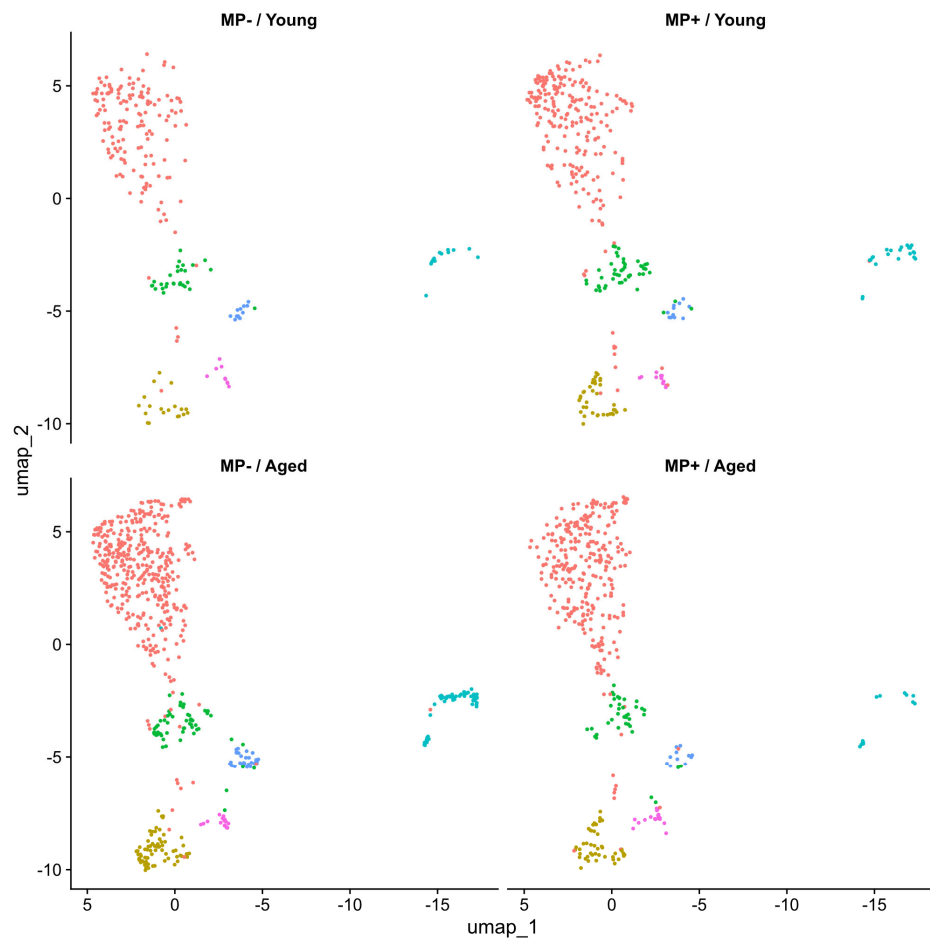
シングルセル解析：クラスタリング



ミクログリアの再クラスタリング

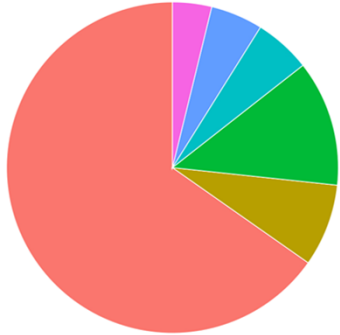


ミクログリアのクラスター：サンプル間での比較

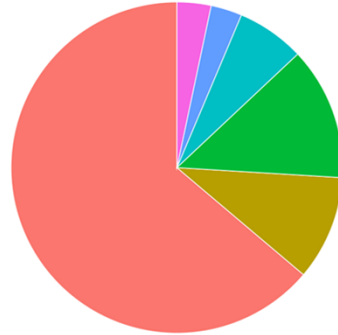


ミクログリアのクラスター：サンプル間での比較

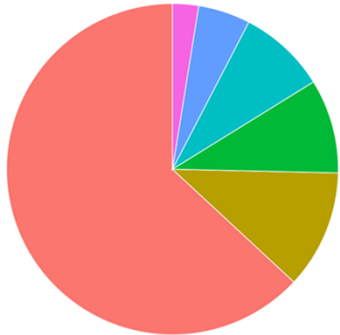
MP- / Young



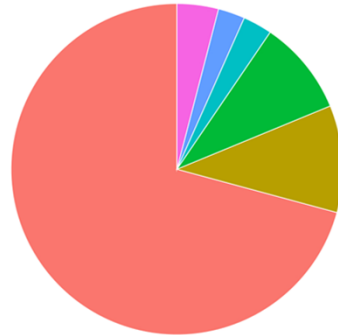
MP+ / Young



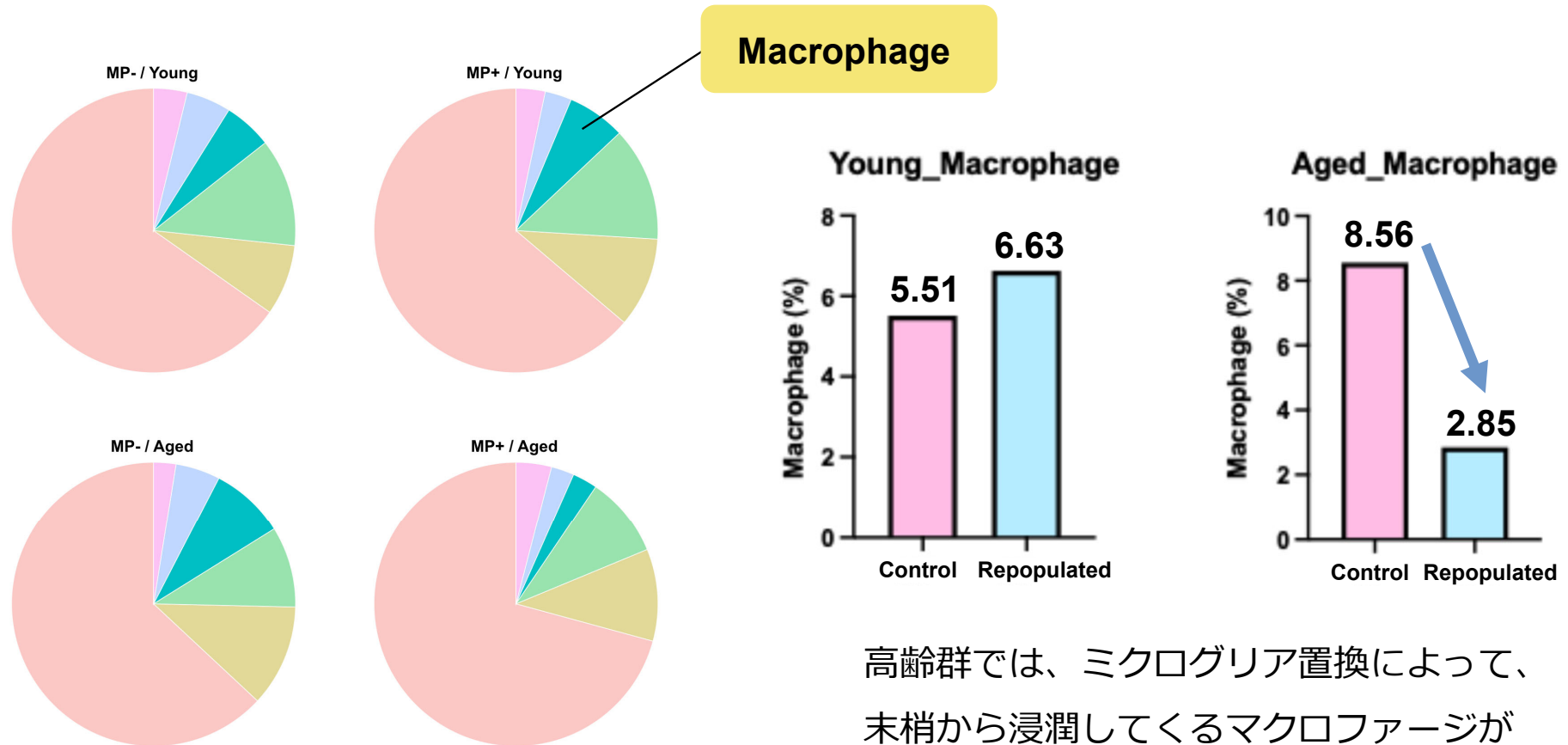
MP- / Aged



MP+ / Aged

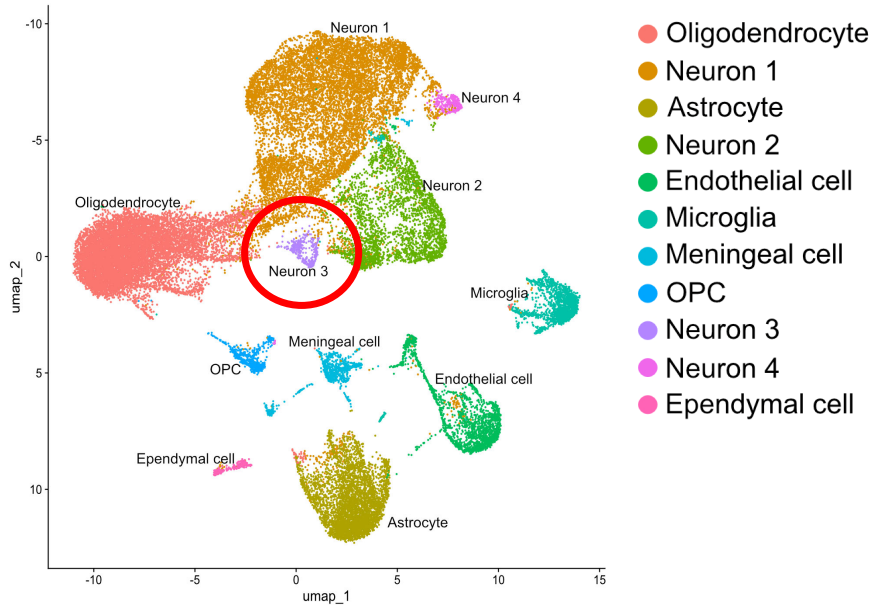


ミクログリアのクラスター：サンプル間での比較

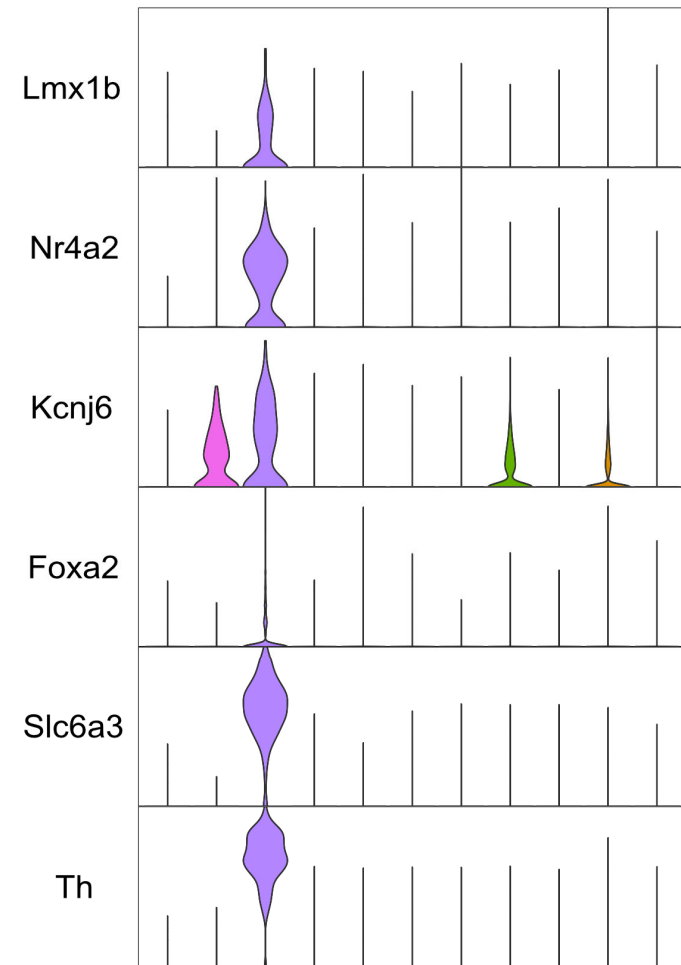


高齢群では、ミクログリア置換によって、末梢から浸潤してくるマクロファージが減少することが予想される。

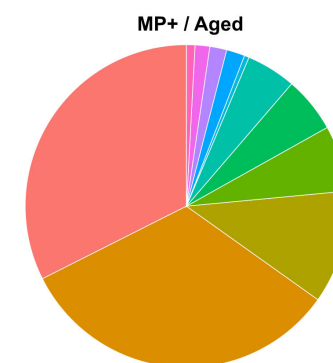
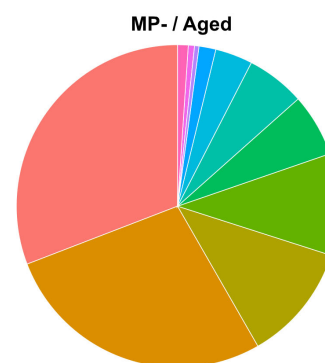
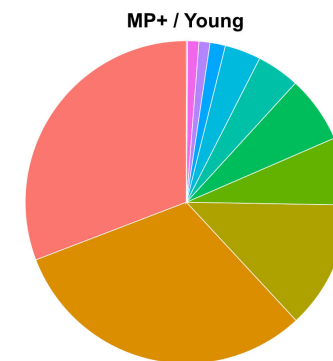
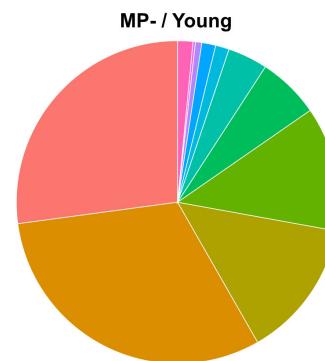
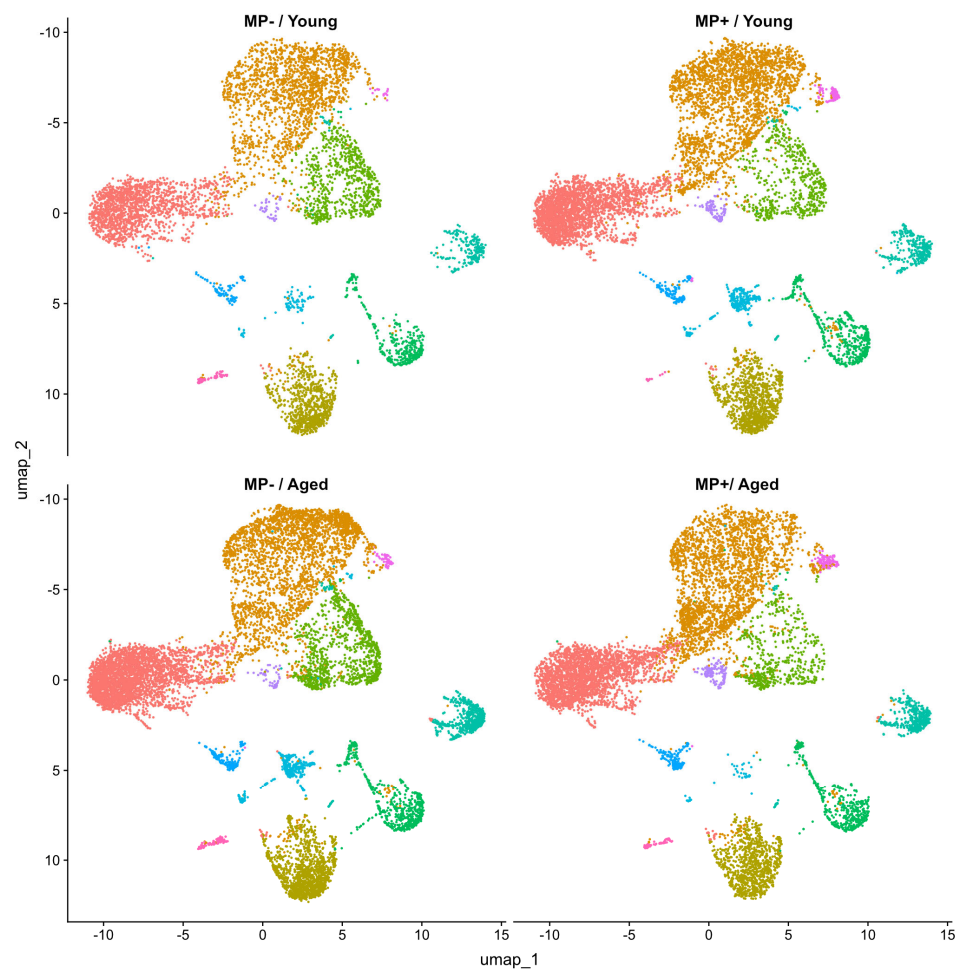
ドーパミン作動性ニューロンの同定



ドーパミン作動性ニューロンのマーカー遺伝子を調べると、Neuron3のクラスターがドーパミン作動性ニューロンであることがわかった。

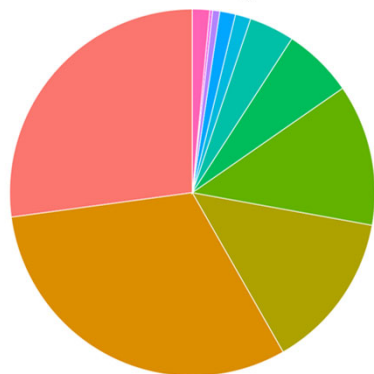


ドーパミン作動性ニューロン：サンプル間での比較

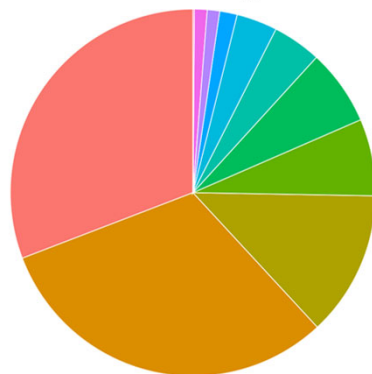


ドーパミン作動性ニューロン：サンプル間での比較

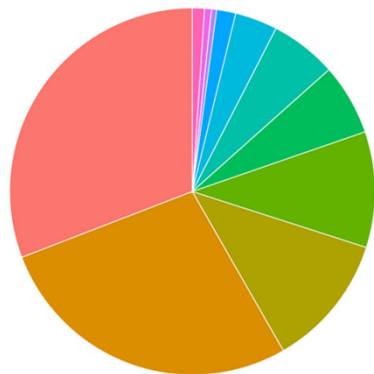
MP- / Young



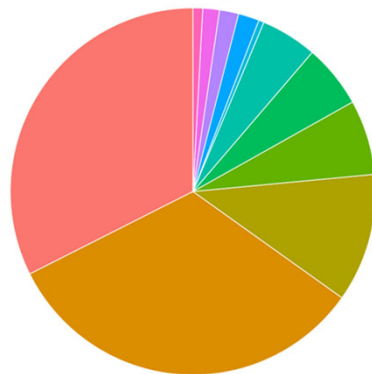
MP+ / Young



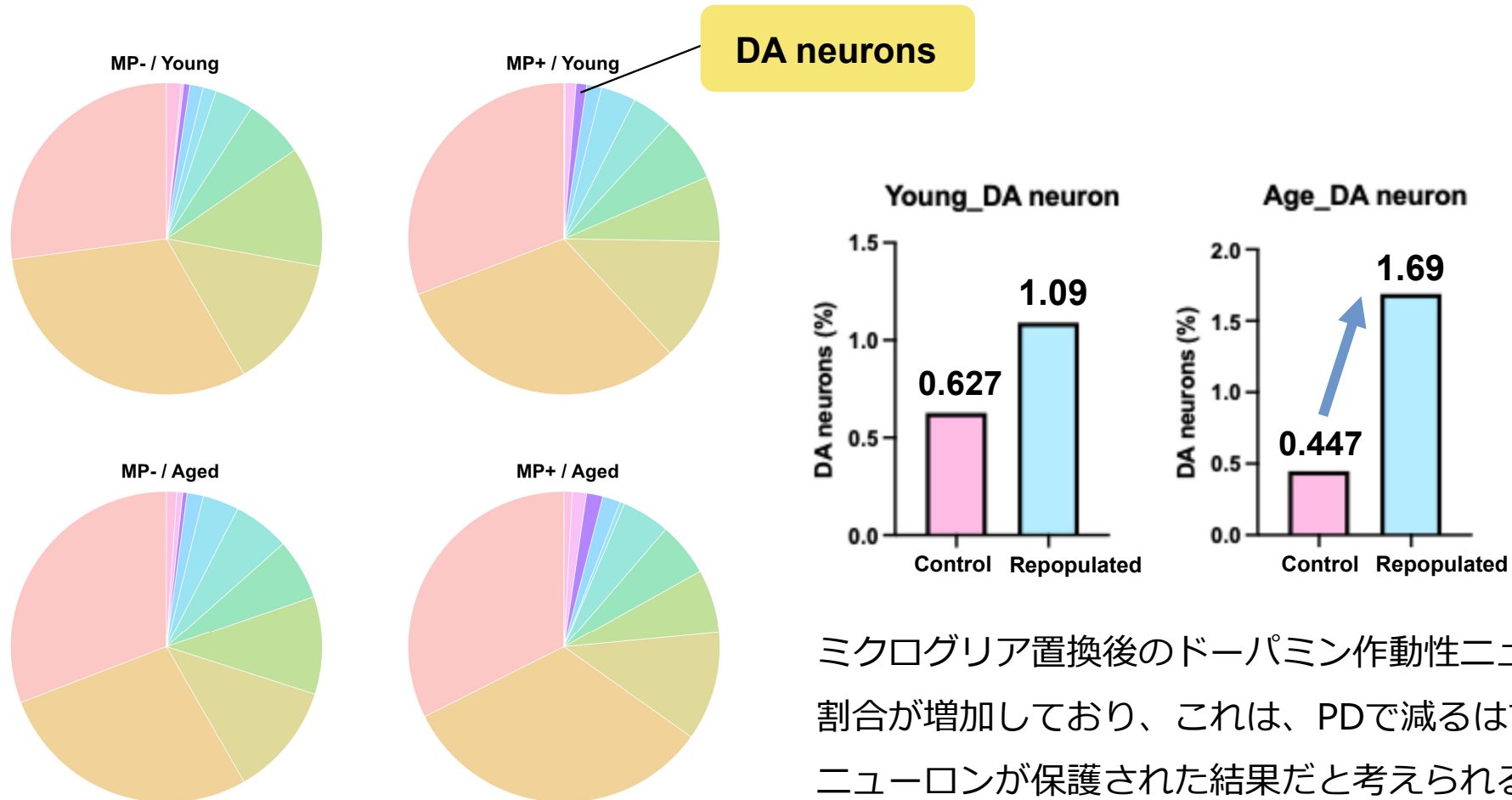
MP- / Aged



MP+ / Aged

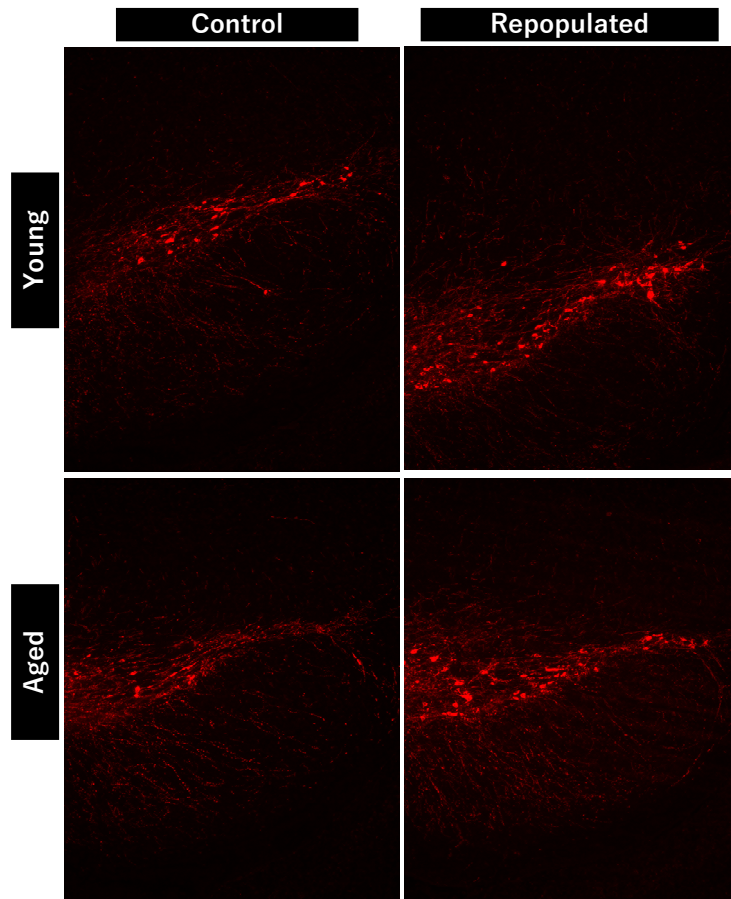


ドーパミン作動性ニューロン：サンプル間での比較

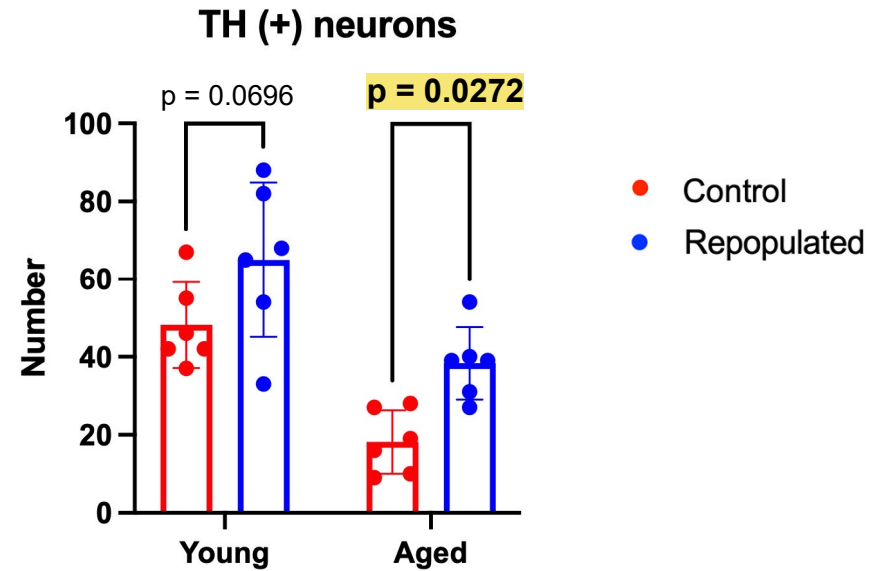


ミクログリア置換後のドーパミン作動性ニューロンの割合が増加しており、これは、PDで減るはずのニューロンが保護された結果だと考えられる。

ミクログリア置換後のドーパミン作動性ニューロンの存在



TH陽性ニューロン（ドーパミン作動性ニューロン）



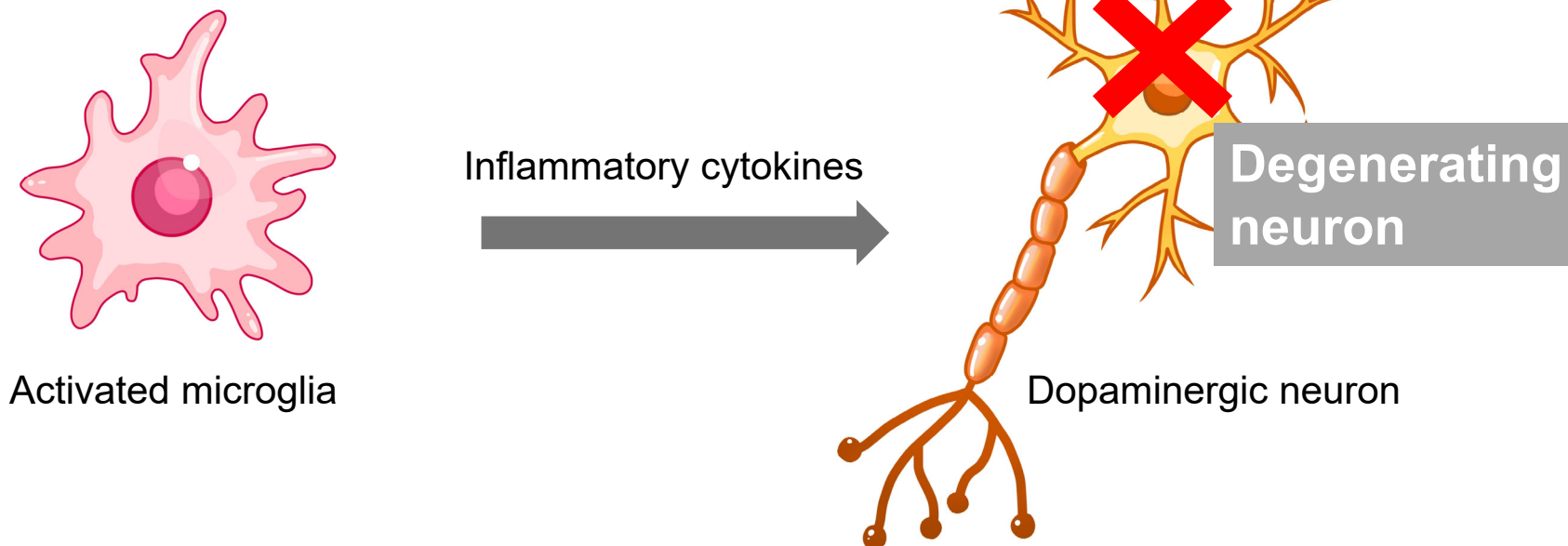
ミクログリア置換後、PDによるドーパミン作動性ニューロンの減少が抑制されていた。

結果のまとめ

ミクログリア置換は、特に高齢マウスに対してPD予防的な影響を及ぼす可能性がある。

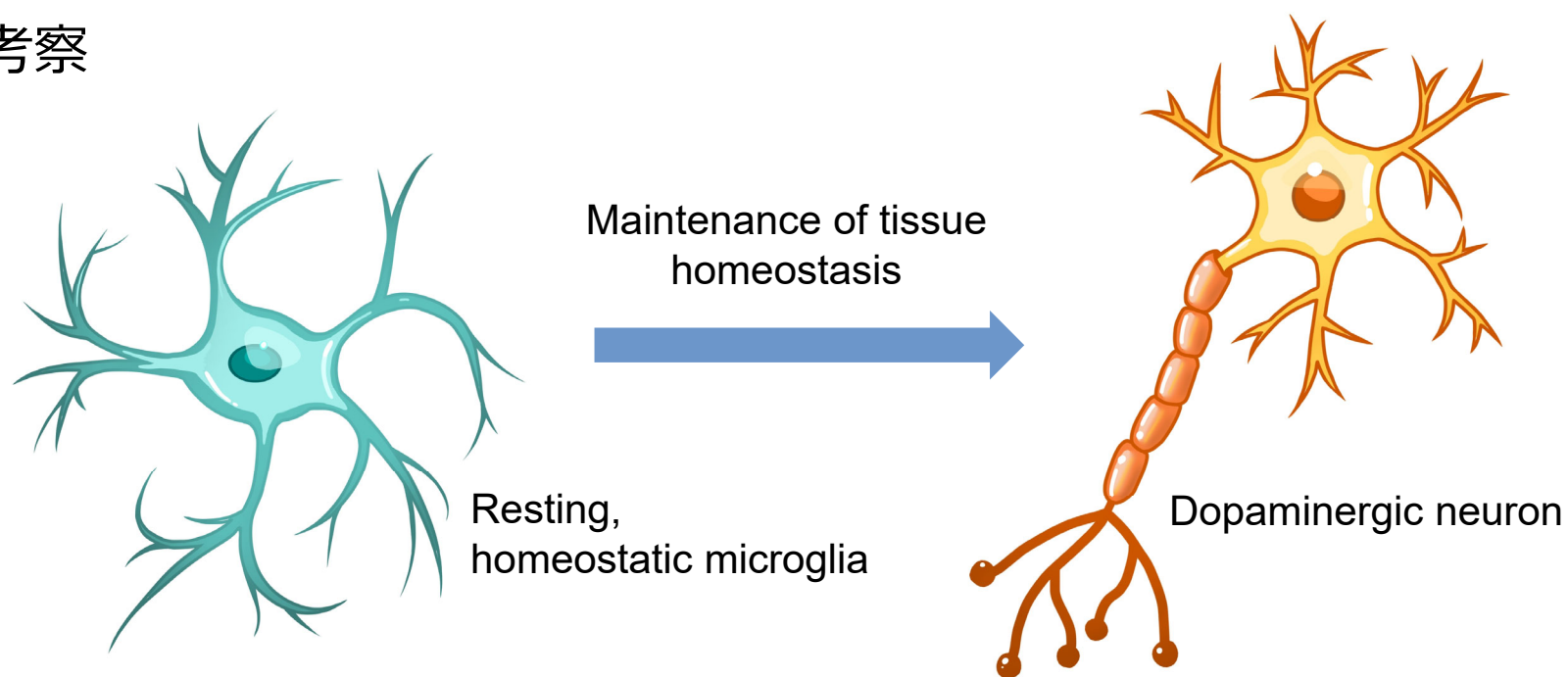
- ・ ミクログリア置換は、老化で機能不全に陥ったミクログリアを若返らせ、病的な炎症性活性化を抑制した。
- ・ シングルセル解析により、ミクログリアを置換すると、末梢由来のマクロファージの割合が減少していることがわかった。
- ・ また、ミクログリアを置換しておくと、ドーパミン作動性ニューロンの減少が抑えられた。
- ・ ミクログリアを置換したマウスでは、PDの運動症状が軽減した。

考察



老化したミクログリアは、炎症性刺激に敏感になり、活性型ミクログリアに変化しやすくなる。炎症関連サイトカインを放出し、貪食能も亢進する。このミクログリアを介した神経炎症は、ニューロンを障害し、神経変性疾患の発症、進行に関連すると考えられる。

考察



老化したミクログリアを置換すると、静止型ミクログリアとなり、脳組織の恒常性の維持に貢献する。

そのため、神経への病的な障害が起こらず、パーキンソン病などの神経変性疾患に対して予防的な効果を発揮すると考えられる。

展望

病態改善の背景にある分子メカニズムは未解明である。

今後は以下のことを確認していきたい。

- ・ シングルセル解析を用いて、再増殖したミクログリアが発現する遺伝子や、再増殖後のニューロンに見られる遺伝子の網羅的な変動を捉え、治療効果に関わる鍵となる経路を探索する。
- ・ これにより得られた候補遺伝子や経路について、免疫染色やqPCRなどの手法を用いて、その役割を検証していく。

