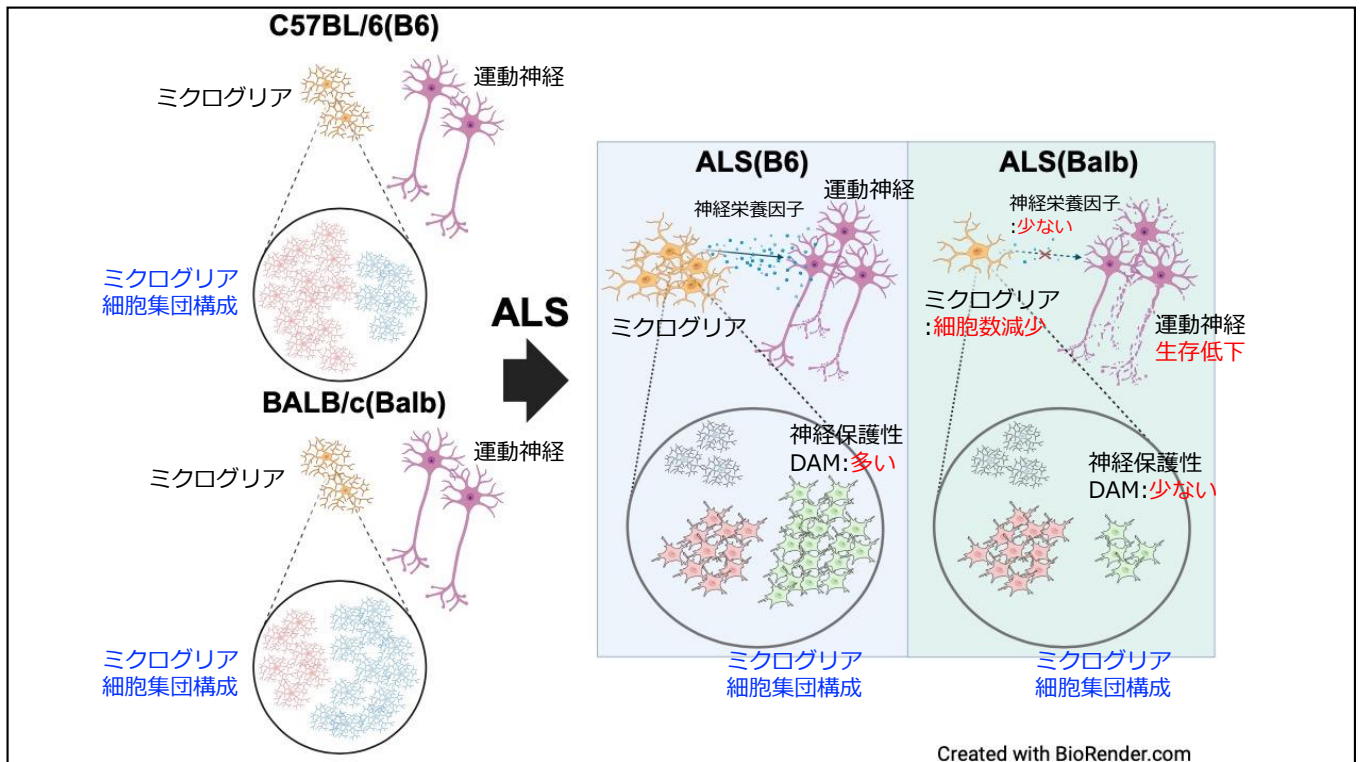


# 遺伝的個体差が脳内免疫担当細胞の細胞集団構成や筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態進行に影響を与える

～神経変性疾患における脳内免疫反応性に個人差がある可能性～

## 【ポイント】

- ・遺伝背景の異なる実験マウス系統である C57BL/6 系統と BALB/c 系統では、脳内免疫担当細胞であるミクログリアの細胞集団構成が異なることを発見。
- ・ALS モデルマウスの系統を C57BL/6 系統(ALS(B6))から BALB/c 系統(ALS(Balb))に変化させるとミクログリアの細胞数の減少や神経保護性の疾患関連ミクログリア(DAM)(※1)の出現誘導が減弱し、ALS 病態の進行が加速することを発見。
- ・遺伝的個体差に由来する全身の免疫環境などの違いが脳内のミクログリアの細胞集団構成に影響を与えている可能性を示唆。



## 【要旨】

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学 環境医学研究所 病態神経科学分野の小峯起 講師(筆頭著者)、山中 宏二 教授らの研究グループは、発生・遺伝分野 荻 朋男 教授、および大学院医学系研究科 微生物・免疫学 日野原 邦彦 特任准教授らと共同して、筋萎縮性側索硬化症(ALS)モデルマウスにおいて、遺伝的個体差に由来する全身の免疫環境などの違いが脳内免疫担当細胞であるミクログリアの細胞集団構成や神経保護性の疾患関連ミクログリア(Disease-associated Microglia:以下 DAM)の出現誘導に影響を与えることにより、病態進行を変化させることを新たに発見しました。

ALS は、運動を司る運動神経細胞の変性と細胞死による脱落によって全身の筋力が低下することにより、発症から 2~5 年で死亡する最も重篤な神経変性疾患の一つです。近年のシングルセル遺伝子発現解析(※2)の発展により、ミクログリアは、均一な集団ではなく、様々な特徴を持つ集団から構成される不均一な集団であり、脳の発達期や成熟期から老年期だけでなく、ALS においてもその構成が大きく変化することが示唆されておりました。しかし、遺伝的個体差がこれらのミクログリアの細胞集団構成や ALS 病態に与える影響については、明らかになっていませんでした。

本研究グループは、遺伝的に異なる実験マウス系統である C57BL/6 系統と BALB/c 系統では、ミクログリアの細胞集団構成が異なることを発見しました。そこで、ALS モデルマウスの系統を C57BL/6 系統(ALS(B6))から BALB/c 系統(ALS(Balb))に変化させたところ、ALS(Balb)では、ミクログリアの細胞数の減少や神経栄養因子を産生する DAM の出現誘導が減弱し、ALS(B6)に比べ ALS 病態の進行が加速することを発見しました。さらに、遺伝的個体差に由来する全身の免疫環境などが脳内のミクログリアの細胞集団構成に影響を与えている可能性を示唆するデータが得られました。

本研究により、遺伝的個体差に由来する全身の免疫環境などの違いが脳内のミクログリアの細胞集団構成や神経保護性の DAM の出現誘導に影響を与え、ALS の病態進行を変化させることが明らかになりました。このことは、ミクログリアの細胞集団構成やその神経保護性に個人差があり、ALS などの神経変性疾患の罹病期間における感受性などが異なる可能性を示唆しています。また、これらは全身の免疫環境などの環境要因にも影響を受ける可能性が示唆されます。ミクログリアの細胞集団構成や神経保護性の DAM の出現誘導に関する免疫環境因子などに着目することで、新規バイオマーカーの同定や個別化医療の創出にもつながることが期待されます。

本研究成果は、2024年1月 11 日付で米国科学雑誌「*iScience*」に掲載されました。

## 1. 背景

ALSは、運動を司る運動神経細胞が選択的に傷害されて変性し、脱落する神経変性疾患です。全身の筋肉が萎縮して筋力低下し、発症から 2~5 年で死亡する最も重篤な神経変性疾患の一つであり、根本的な治療法も確立されていないため、早急な病態解明および治療法の開発が望まれています。

これまで、脳内免疫担当細胞とされているミクログリアの ALS 病態における役割について様々な報告がされています。一方で、近年のシングルセル遺伝子発現解析の発展により、ミクログリアは、均一な集団ではなく、様々な特徴を持つ集団から構成される不均一な集団であり、脳の発達期や成熟期から老年期だけでなく、ALS においてもその構成が大きく変化することが示唆されておりました。特に、アルツハイマー病モデルマウスや ALS モデルマウスにおいては、疾患関連ミクログリア(Disease-associated Microglia:DAM)という神経変性疾患に関連して出現する特徴的な遺伝子発現プロファイルをもつ新たなミクログリアが、近年同定されています。しかし、遺伝的個体差がこれらのミクログリアの細胞集団構成や ALS 病態に与える影響については、明らかになっていませんでした。

## 2. 研究成果

研究グループは、遺伝的に異なる実験マウス系統である C57BL/6 系統(B6)と BALB/c 系統(Balb)のマウスを用いて 2 種類の ALS モデルマウス(ALS(B6)、ALS(Balb))を作製し、両者を比較することにより検討を行いました。まず、ミクログリアの細胞集団構成について比較するため、ミクログリアのシングルセル遺伝子発現解析を行なったところ、B6 と Balb では、ミクログリアの細胞集団構成が異なることがわかりました(図 1 左下段)。また、ALS モデルマウスにおいても、ALS(B6)マウスに比較して、ALS(Balb)マウスでは、一部の DAM の出現誘導が弱く、両者のミクログリアの細胞集団構成が異なることが判明しました(図 1 左上段)。また、ALS(Balb)マウスのミクログリアは、細胞数が減少することがわかりました(図 1 右)。

次に、ALS 病態に与える影響を調べるため、生存解析を行いました。その結果、発症期は、両者で差が見られませんでした。生存期間については、ALS(B6)マウスに対し、ALS(Balb)マウスでその生存期間が有意に短縮し、病態の進行が加速することがわかりました(図 2)。

そこで、病気の進行が加速したメカニズムを明らかにするため、ALS(Balb)で出現誘導が弱かった DAM の遺伝子発現を調べたところ、ALS において神経保護的に機能することが知られている神経栄養因子である IGF-1(※3)を強く発現していることがわかりました(図 3)。

最後に、これらのミクログリアの違いが、遺伝的個体差に由来するミクログリア自身の違いに起因するのか、遺伝的個体差に由来するミクログリアの周囲環境の違いに起因するのかについて、明らかにするため、それぞれのマウスの個体から直接単離したミクログリアとそれぞれのマウス系統から培養したミクログリア(同一の培地を使用するため、ミクログリアの周囲の環境は同一となる)の発現遺伝子について主成分分析を行いました。その結果、遺伝的個体差に由来するミクログリア自身の違いにおける寄与率(この場合は発現遺伝子の違いの何割を説明できるかを表す)は、10.5%と低く、その違いの多くは遺伝的個体差に由来するミクログリアの周囲環境の違いに起因することが示唆されました(図 4)。従来から知られているように、B6 と Balb の全身の免疫環境が異なることも確認できていることから、遺伝的個体差に由来する全身の免疫環境などの違いが脳内のミクログリアの細胞集団構成に影響を与えている可能性が示唆されました。

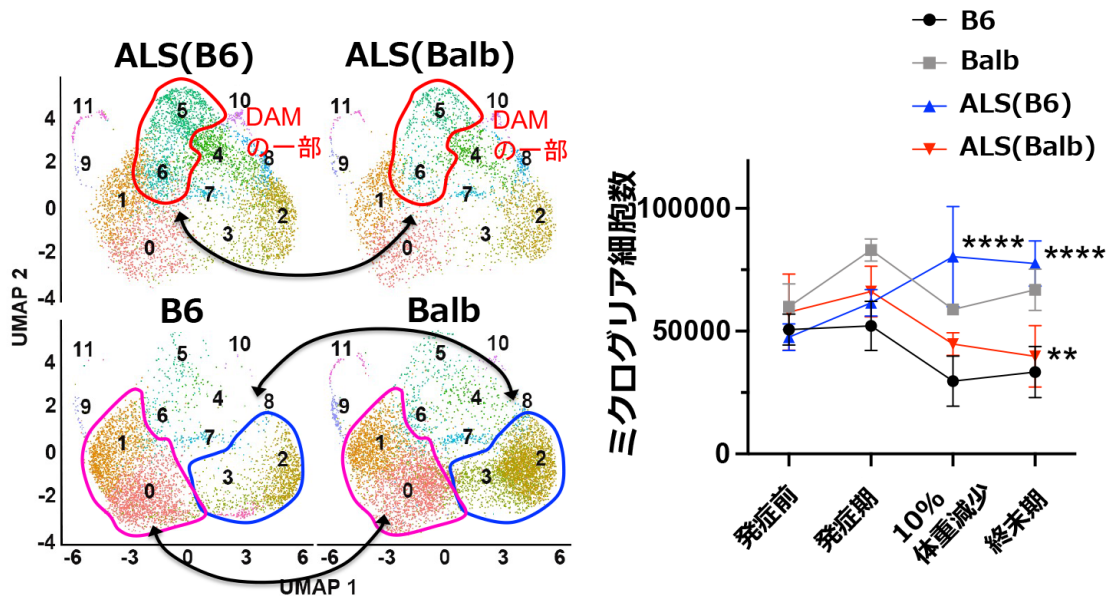


図1 ミクログリアのシングルセル解析により、C57BL/6系統(B6)とBALB/c系統(Balb)で細胞集団構成が異なること、ALS(Balb)において、一部のDAMの出現誘導が弱いことが判明した(左)。また、ALS(Balb)ミクログリアの細胞数が減少することがわかった(右)。

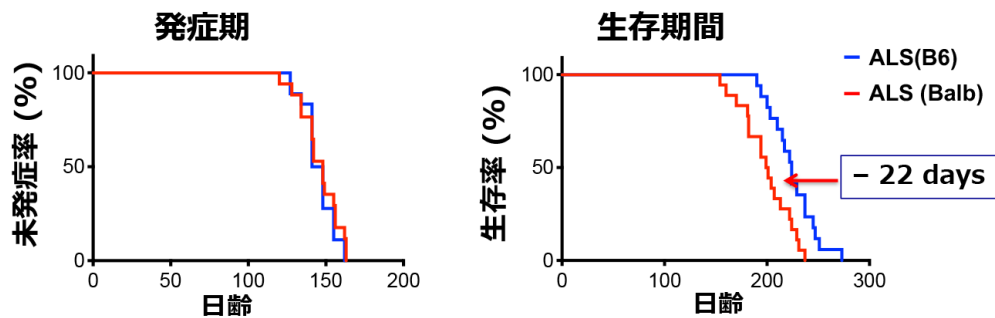


図2 ALS(Balb)マウスは、ALS(B6)マウスに比較し、病態の進行が加速する。

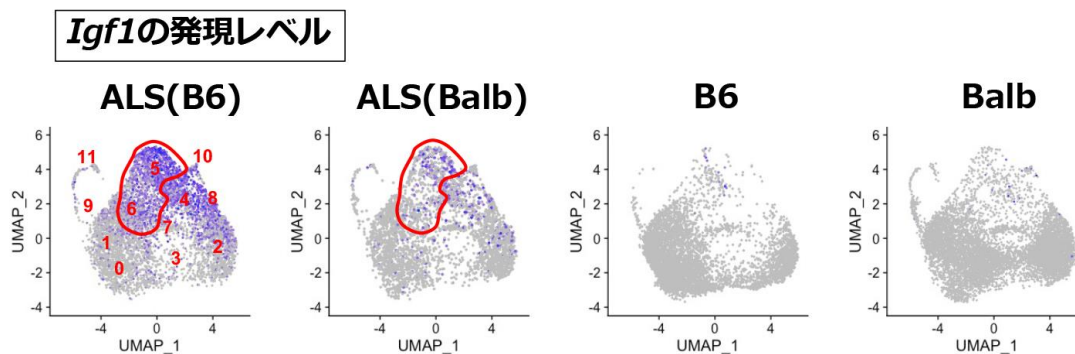
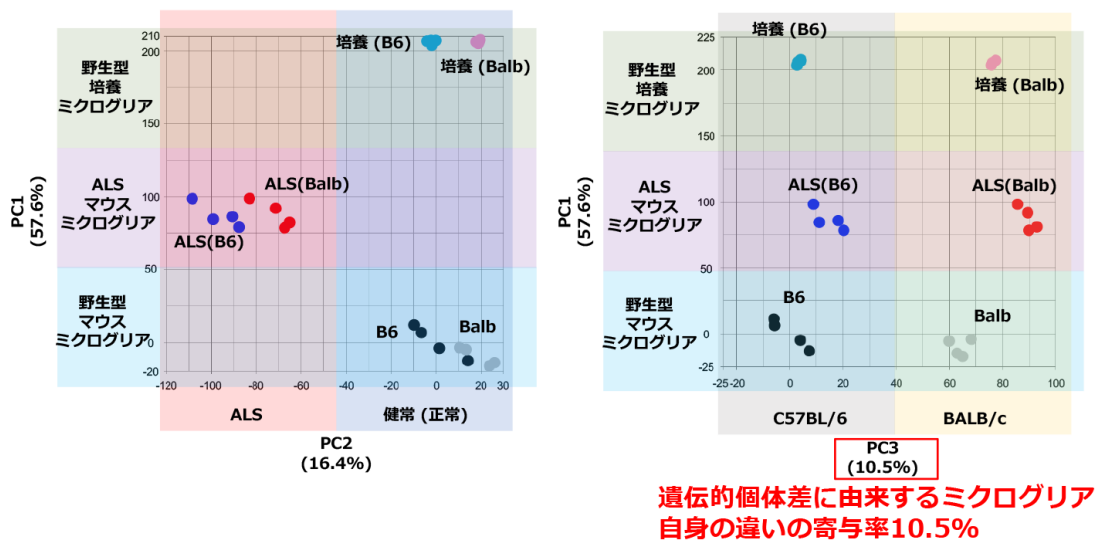


図3 両者のALSモデルミクログリアで差の見られたDAMは、神経栄養因子IGF-1を強く発現している。



**図4 マウス個体から直接単離したマイクログリアと培養マイクログリアの発現遺伝子の主成分分析**

### 3. 今後の展開

本研究により、遺伝的個体差に由来する全身の免疫環境などの違いが脳内のマイクログリアの細胞集団構成や神経保護性の DAM の出現誘導に影響を与え、ALS の病態進行を変化させることが明らかになりました。このことは、マイクログリアの細胞集団構成やその神経保護性に個人差があり、ALS などの神経変性疾患の罹病期間における感受性などが異なる可能性を示唆しています。また、これらは全身の免疫環境などの環境要因にも影響を受ける可能性が示唆されます。マイクログリアの細胞集団構成や神経保護性の DAM の出現誘導に関する免疫環境因子などに着目することで、新規バイオマーカーの同定や個別化医療の創出にもつながることが期待されます。

### 4. 用語説明

※1) 疾患関連マイクログリア(Disease-associated microglia: DAM): アルツハイマー病モデルマウスにおいて、2017 年に Keren-Shaul らによって同定された神経変性疾患に共通するマイクログリアの新たな表現型であり、その機能について注目されている。ALS モデルマウスにおいても存在が確認されている。

※2) シングルセル遺伝子発現解析: 様々な種類が混在している組織などから細胞を分散し、1 細胞ごとに転写産物の種類と量を網羅的に測定して解析を行う。構成細胞種の種類やそれぞれの細胞種の性質やその変化などを検出、比較できる。

※3) IGF-1(Insulin-like Growth Factor-1:インスリン様成長因子 1):神経栄養因子として機能する。ALS においては、活性化したマイクログリアから放出され、運動神経保護機能を持つことが示唆されている。



## 5. 支援・謝辞

本研究は、科学研究費補助金(日本学術振興会(JSPS))、脳とこころの研究推進プログラム(研究課題名:神経炎症に着目した認知症・神経変性疾患の分子病態解明と治療シーズ開発)(日本医療研究開発機構(AMED))、豊秋奨学会、武田科学振興財団の助成を受けて実施されました。

### 【論文情報】

雑誌名:iScience

論文タイトル:Genetic background variation impacts microglial heterogeneity and disease progression in amyotrophic lateral sclerosis model mice

著者名・所属名:

Okiru Komine<sup>1, 2, \*</sup>, Syuhei Ohnuma<sup>1, 2</sup>, Kunihiro Hinohara<sup>3, 4, 5</sup>, Yuichiro Hara<sup>6, 7</sup>, Mayuko Shimada<sup>6, 7</sup>, Tomohiro Akashi<sup>5, 8</sup>, Seiji Watanabe<sup>1, 2</sup>, Akira Sobue<sup>1, 2, 9</sup>, Noe Kawade<sup>1, 2</sup>, Tomoo Ogi<sup>6, 7, 10, 11</sup>, Koji Yamanaka<sup>1, 2, 10, 11, \*</sup>

<sup>1</sup> Department of Neuroscience and Pathobiology, Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University, Nagoya, Aichi, JAPAN

<sup>2</sup> Department of Neuroscience and Pathobiology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Aichi, JAPAN

<sup>3</sup> Department of Immunology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi, JAPAN

<sup>4</sup> Institute for Advanced Research, Nagoya University, Nagoya, Aichi, JAPAN

<sup>5</sup> Center for 5D Cell Dynamics, Nagoya University, Nagoya, Aichi, JAPAN

<sup>6</sup> Department of Genetics, Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University, Nagoya, Aichi, JAPAN

<sup>7</sup> Department of Human Genetics and Molecular Biology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi, JAPAN

<sup>8</sup> Center for Neurological Disease and Cancer, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi, JAPAN

<sup>9</sup> Medical Interactive Research and Academia Industry Collaboration Center, Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University, Aichi, JAPAN

<sup>10</sup> Institute for Glyco-core Research (iGCORE), Nagoya University, Aichi, JAPAN

<sup>11</sup> Center for One Medicine Innovative Translational Research (COMIT), Nagoya University, Aichi, JAPAN

\* Corresponding Authors

DOI: [10.1016/j.isci.2024.108872](https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.108872)

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/iSc\\_240130en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/iSc_240130en.pdf)