

## 神経炎症が増幅される新しいメカニズムを発見

神経炎症は、自閉症やアルツハイマー病などに共通して見られる症状の一つで、グリア細胞（中枢神経系を構成する神経細胞以外の細胞）から分泌された炎症性サイトカインによって引き起こされます。最近、神経細胞やグリア細胞のオルガネラ（細胞内の小器官）の異常によっても誘導されることが分かってきましたが、神経炎症とオルガネラ異常の関係は不明な点が多く残されています。

本研究では、神経炎症によって、異常なオルガネラである微小核が、海馬神経細胞で増加することを発見しました。まず、野生型の成体マウス脳を観察し、健康な状態でも、大脳皮質や海馬にわずかながら微小核が存在していることを見いだしました。そこで、脳内微小核の数や大きさを正確に定量するプログラムを開発し、解析を行いました。成体マウスに炎症誘導活性をもつリポ多糖（LPS）を投与して神経炎症を誘導すると、海馬周辺でグリア細胞の一つであるアストロサイトが活性化し、海馬神経細胞で微小核が増加しました。一方、培養した海馬神経細胞では、LPSなどの炎症誘導刺激で微小核は形成されませんでした。従って、LPSは直接神経細胞に作用するのではなく、神経細胞の周辺環境を変化させて神経炎症を誘導し、海馬神経細胞の微小核形成を促すことが示されました。がん細胞では微小核は炎症反応を亢進させることから、神経系でも同様の働きがある可能性が考えられます。

本研究成果は、微小核を三次元的に解析する新しいツールを提供するとともに、神経炎症が関連した疾患の新しい治療戦略につながることを期待されます。

### 研究代表者

筑波大学生命環境系

鶴田 文憲 助教

## 研究の背景

中枢神経系は、主に神経細胞と、それ以外のグリア細胞によって構成されます。グリア細胞の一つアストロサイト<sup>注1)</sup>は、細菌などの感染に対して迅速に応答し、炎症性サイトカイン<sup>注2)</sup>などの分泌因子を分泌します。これらの分泌因子は神経細胞に作用し、神経炎症が増幅されます。しかしながら、神経炎症がどのように増幅されるのか、その全容は解明されていませんでした。がん細胞などでは、核やミトコンドリアなどのオルガネラ<sup>注3)</sup>に対するストレスが、炎症反応の誘導につながることを示唆されています。本研究では、細菌の構成因子であるリポ多糖 (LPS)<sup>注4)</sup>で神経炎症を誘発した場合に、神経細胞の核にどのような影響が生じるか検証しました。

## 研究内容と成果

本研究では、健康な成体マウス脳を観察し、神経細胞やアストロサイトに微小核が存在することを発見しました。微小核とは、DNA と核膜から構成される小型の核様構造体です。がんや自己免疫疾患では、バイオマーカーとしても利用されており、微小核に含まれる DNA は、核膜の崩壊に伴って、炎症性サイトカインであるインターフェロン  $\beta$  を分泌する自然免疫応答経路を活性化します。一方、マウス中枢神経系では、胎仔期や新生仔期の脳形成過程で微小核が産生されることが示唆されていますが、その機能はよく分かっていません。そこで、微小核形成と炎症応答には何らかの関係があるのではないかと考え、成体マウスを用いて、炎症時に変化する微小核陽性細胞の割合を調べました。微小核を持つ細胞数を正確に把握するためには、核の大きさを三次元的に解析する必要があり、従来の二次元画像による解析では、データの正確性に限界があります。そこで、プログラミングソフト MATLAB を用いて、Z 軸方向に連続して撮影した細胞の三次元画像から「核の大きさ」や「画像内の微小核陽性細胞数」を算出する微小核自動定量プログラム (CAMDi: Calculating automatic micronuclei distinction) を新たに開発しました。これを用いて、LPS を投与した成体マウスの脳で微小核を持つ神経細胞の数を調べたところ、海馬周辺において微小核を持つ神経細胞が増加していました。興味深いことに、海馬周辺のアストロサイトは LPS 刺激によって活性化するものの、微小核の顕著な増加は観察されませんでした。また初代培養<sup>注5)</sup>した海馬神経細胞に LPS で炎症刺激を与えても、微小核陽性細胞の数は変化しませんでした。以上の結果から、炎症刺激は、直接神経細胞に作用するのではなく、アストロサイトの活性化をはじめとする神経細胞の周辺環境の変化によって神経細胞の微小核を増加させることが示唆されました (参考図)。

## 今後の展開

本研究成果は、がんや自己免疫疾患の指標として知られている微小核が神経炎症時に脳内で増加する現象を明らかにしました。微小核は DNA ウイルス感染による自然免疫応答経路を活性化することから、神経細胞でも同様の働きをしている可能性が考えられます。今後、アストロサイトの活性化によって微小核が増加するメカニズムが明らかになれば、神経炎症を伴った発達障害や神経変性疾患の新しい治療法開発につながると期待されます

また、従来の微小核の解析は、二次元画像を用いて行われてきましたが、本研究で開発したプログラム CAMDi により、三次元情報をもとに核の大きさと微小核陽性細胞数を、迅速かつ高い信頼性で解析することが可能となりました。CAMDi は、細胞内における他のタンパク質やオルガネラを対象とした計測にも応用でき、細胞生物学研究における新しい解析ツールになると考えられます。

## 参考図

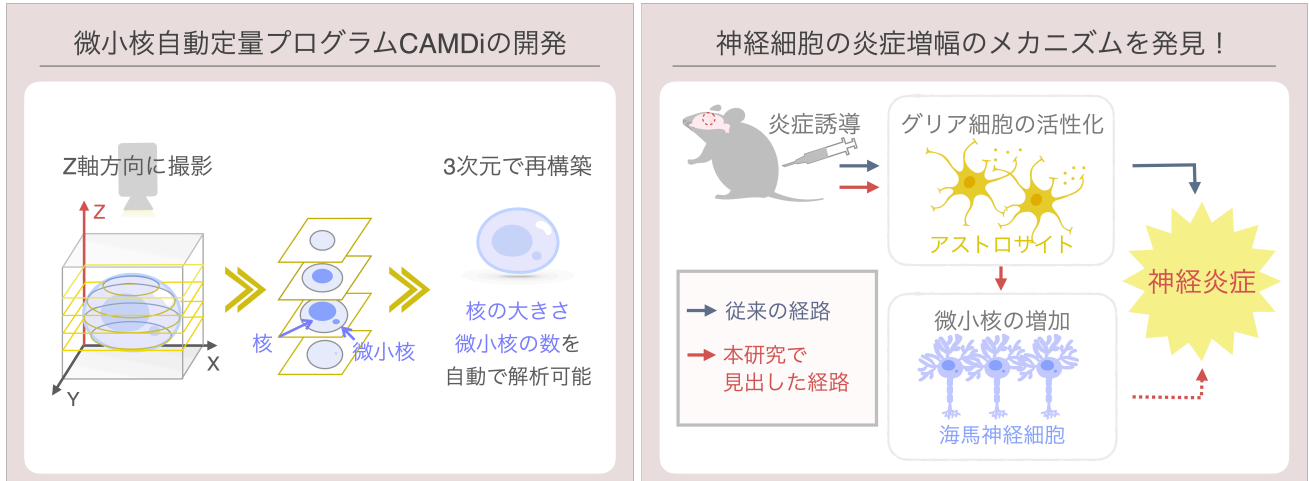


図 本研究の概要

(左) MATLAB ソフトウェアを用いて、Z 軸方向に撮影した連続画像を三次元的に再構築し、微小核の大きさや数を自動で定量するプログラム(CAMDi)を開発した。(右) 炎症を誘導すると、脳内で海馬周辺のアストロサイトが活性化し、その近傍の海馬神経細胞で微小核が増加した。

## 用語解説

### 注1) アストロサイト

グリア細胞の1つ。突起を星状に伸ばし、神経細胞に接触しながらシナプスや血液脳関門などの調節、脳内恒常性の維持に貢献している。

### 注2) 炎症性サイトカイン

炎症反応を制御する細胞外分泌タンパク質。インターロイキンやインターフェロンなどが知られている。中枢神経系では、主にアストロサイトやミクログリアなどのグリア細胞から分泌される。

### 注3) オルガネラ

核やミトコンドリアなど、特定の機能を持つようになった細胞内小器官の総称。

### 注4) リポ多糖 (LPS)

グラム陰性菌の外膜に存在する脂質と糖からなる巨大分子。強い炎症誘導活性がある。

### 注5) 初代培養

生体から直接採取した細胞を用いて培養すること。元の器官や組織の細胞の性質が反映されるという特徴がある。

## 研究資金

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業および特別研究員奨励費のプロジェクトの一環として実施されました。

## 掲載論文

【題名】 A MATLAB-based program for three-dimensional quantitative analysis of micronuclei reveals that neuroinflammation induces micronuclei formation in the brain.

(神経炎症は脳内微小核形成を促進する -MATLAB を用いた微小核の三次元定量解析-)

【著者名】 Yano S, Akiyama K, Tsuchiya R, Kubotani H, Chiba T, Nagata T, Tsuruta F

【掲載誌】 Scientific Reports

【掲載日】 2021年9月15日

【DOI】 10.1038/s41598-021-97640-6

問合わせ先

【研究に関すること】

鶴田 文憲 (つるた ふみのり)

筑波大学 生命環境系 助教

URL: <https://ftsuruta.wixsite.com/fuminori-tsuruta>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: [kohositu@un.tsukuba.ac.jp](mailto:kohositu@un.tsukuba.ac.jp)