

北川良憲 学位論文審査要旨

主査 今村 武史
副査 松浦 達也
同 稲垣 喜三

主論文

System x_c^- in microglia is a novel therapeutic target for post-septic neurological and psychiatric illness

(ミクログリアの x_c^- 系は敗血症後の神経疾患および精神疾患に対する新規の治療標的である)

(著者：北川良憲、中曾一裕、堀越洋輔、森本昌樹、面谷卓馬、大槻明広、稲垣喜三、佐藤英世、松浦達也)

令和元年 Scientific Reports DOI:10.1038/s41598-019-44006-8

参考論文

1. Preconditioning by low dose LPS prevents subsequent LPS-induced severe liver injury via Nrf2 activation in mice

(マウスにおける低用量LPSによるプレコンディショニングは、Nrf2活性化を介して、その後のLPS誘発の重篤な肝障害を防止する)

(著者：仲宗根正人、中曾一裕、堀越洋輔、花木武彦、北川良憲、高橋徹、稲垣喜三、松浦達也)

平成28年 Yonago Acta Medica 59巻 223頁～231頁

学 位 論 文 要 旨

System x_c^- in microglia is a novel therapeutic target for post-septic neurological and psychiatric illness

(ミクログリアの x_c^- 系は敗血症後の神経疾患および精神疾患に対する新規の治療標的である)

種々の神経・精神疾患の病態に細胞外グルタミン酸 (Glu) やミクログリア (MG) の活性化が関与することが知られているが、Glu発生源を含めた詳細な機序は不明である。また、敗血症後にも記憶障害やうつ症状が出現することがあるが、その病態機序は不明であり、有効な治療法も確立していなかった。xCTと4F2hcの二量体からなる x_c^- 系は、細胞外からシスチンを取り込み、細胞外にGluを放出するシスチン/Gluアンチポーターである。 x_c^- 系は細胞自らが酸化ストレス耐性を獲得する一方で、周辺細胞にはGluによる毒性を示す可能性が指摘されている。そこで、本研究では敗血症後の神経・精神症状にも x_c^- 系由来のGluが関与すると仮説を立て、lipopolysaccharide (LPS) 投与マウスによる敗血症後の短期記憶障害・自発性低下モデルを確立し、表現型とGluの関係、Glu発生源および治療標的候補としてのミクログリアの x_c^- 系について検討を行った。

方 法

C57BL/6マウスにLPS 0.5 mg/kgあるいは生理食塩液を腹腔内投与し、短期記憶(Y字迷路)、活動性 (wheel running activity : WRA) 、運動平衡機能 (ロータロッド試験) を評価する行動実験を行った。また、単離したMGから細胞外へのGlu放出量を酵素法によって定量し、海馬のGlu濃度をin vivo マイクロダイアリシス法により評価した。脳内の炎症性サイトカインについては、海馬、大脳皮質、小脳でのtumor necrosis factor- α (TNF- α) 、interleukin-1 β (IL-1 β) などをウエスタンブロッティングにより評価した。さらに、脳内でのMGやアストロサイトのマーカーならびにxCTの発現を免疫染色およびウエスタンブロッティングによって検討した。

これらの実験は、xCT阻害薬であるスルファサラジンやGlu受容体拮抗薬をLPSとともに投与した条件下でも実施した。また、xCT欠失マウスについても同様に検討した。

結 果

LPS投与2週間後のY字迷路、WRA、ロータロッド試験のスコアは、対照群と比較してい

れも低下した。MGの活性化や海馬および大脳皮質におけるTNF- α やIL-1 β の発現は増加した。単離したMGからのGlu放出能はLPS投与によって高まっており、海馬のGluの濃度も上昇していた。NMDA型グルタミン酸受容体拮抗薬MK801をLPSと共投与することでY字迷路のスコア低下は改善したことや、MK801あるいはAMPA型グルタミン酸受容体拮抗薬DNQXの投与によってLPS投与によるWRAのスコアの低下が改善したことから、表現型とGluの関係性が示された。

Glu放出源の候補として x_c^- 系を考え検討したところ、構成分子xCTの発現は対照群では皆無であったが、LPS投与後には誘導されていた。免疫染色による検討では、xCT発現は主にMGに認められた。xCT欠失マウスにLPSを投与した場合は、野生型マウスに投与した場合と比較して、Y字迷路およびWRAのスコア低下は有意に軽度であり、海馬のGlu濃度やMGからのGlu放出量も低値であった。また、LPS投与による海馬でのTNF- α やIL-1 β の発現に有意な上昇は認められなかった。

xCT阻害薬スルファサラジンは、LPSと同時あるいは1時間後に投与することによって、Y字迷路やWRAのスコア低下を抑制した。さらに、スルファサラジンの同時投与によって海馬のGlu濃度の上昇やMGからのGluの放出は抑制された。

考 察

神経・精神疾患の病因としてMGの活性化が注目されており、炎症性サイトカインの他にも興奮性神経伝達物質であるGluの関与が報告されている。本研究では、敗血症後の神経・精神疾患の病態においてMGからのGlu放出能が高まり、海馬でのGlu濃度が上昇していることを示し、さらにGluの供給源として x_c^- 系の関与を明らかにした。

関節リウマチなど炎症性疾患に対して使用されているスルファサラジンはxCTの阻害作用をもつことが報告されているが、本研究においてもMGからのGluの放出を抑制し、海馬でのGlu濃度を低下させて記憶障害を軽減した。スルファサラジンの効果はLPSとの同時投与だけでなく、後投与した場合でも認められたことから、 x_c^- 系は、敗血症後の神経・精神疾患に対する新規の治療標的となりうる可能性が示唆された。

結 論

海馬でのMGの活性化と x_c^- 系に由来したGluの放出増加が、LPS投与後の記憶障害や活動性の低下に関与している。敗血症後の神経・精神疾患は、 x_c^- 系を抑制することで症状を軽減できる可能性があり、新規の治療標的となりうる。