

患者由来直接誘導ミクログリア様細胞を用いた精神神経ループスの病態関与

河野通仁

北海道大学病院 リウマチ・腎臓内科

【研究の背景】

全身性エリテマトーデス(SLE)は若年女性に発症する自己免疫性疾患で様々な臓器病変を伴う。SLE 患者の 20~40% に精神神経ループス(NPSLE)が認められ、意識障害やてんかんなどを呈し高次機能障害など後遺症を残す例も多い。病態は不明で、エビデンスのある治療戦略が立てられないのが現状である。そのため、NPSLE の病態を明らかにすることが求められている。近年 NPSLE の病態にミクログリアが関わっていることが明らかとなってきたが、未だその詳細は明らかとなっていない。我々は SLE モデルマウスである MRL/*lpr* マウスの行動解析をすることで、認知機能障害が起きていること、コントロールマウス(MRL/MpJ)と比較し、Inhibitor of NF- κ B Kinase Subunit ϵ (IKBKE)などの特定の遺伝子発現が亢進し、ミクログリアの活性化が起きていること、IKBKE 阻害薬でミクログリアの活性化が抑制され、その髄腔内投与により認知機能障害が改善することを明らかにした¹⁾。一方、SLE 患者の脳からミクログリアを分離することは非常に困難である。近年末梢血単核球(PBMC)からヒトミクログリア様細胞(iMG)を誘導することが可能となっており、iMG と同じ患者の脳から分離したミクログリアの遺伝子発現に強い相関があることが明らかとなった²⁾。

【目 的】

本研究ではミクログリアに注目し NPSLE の新たな病態を明らかにすることを目的とした。

【方 法】

① iMG の誘導

SLE 患者、NPSLE の既往のある患者、健常者から PBMC を採取し、CD11b 陽性細胞を Magnetic cell sorting 法を用いて分離した。分離した細胞を GM-CSF、IL-34 で刺激し、iMG を誘導した。iMG の確認には Iba-1 ならびにミクログリア特異的マーカーとして Tmem119 を用いて免疫染色を行った。

② iMG のサイトカイン刺激による遺伝子の変化

SLE 患者由来の iMG に IFN α 、IFN γ 、TNF α 、IL-6 で刺激を行い、遺伝子発現の変化を検討した。

③ 注目した遺伝子の阻害薬によるマウスミクログリア細胞の活性化への影響

MRL/*lpr* マウスからミクログリアを分離し、注目した遺伝子の阻害薬を添加し、ミクログリア活性化マーカーの遺伝子発現を RT-PCR で検討した。また食食能についても pHrodo ビーズを用いて検討した。

④ 注目した遺伝子の阻害薬による SLE モデルマウスへの治療効果

MRL/*lpr* マウスに注目した遺伝子の阻害薬の髄腔内注射を行い、空間認知機能の検索として新規物体認識試験を行った。さらに、脳組織を CD68、Iba-1 で免疫染色し、ミクログリアの活性化を評価した。

【結 果】

① ヒトマイクログリア様細胞 (iMG) の誘導

図1のように Iba-1、Tmem119 で染まる iMG を誘導した。

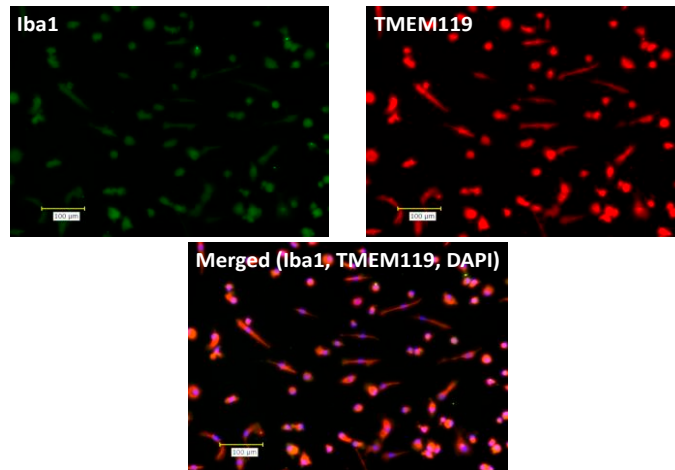


図 1 ヒト末梢血から誘導したマイクログリア様細胞

② iMG のサイトカイン刺激

SLE 患者由来の iMG に $IFN\alpha$ 、 $IFN\gamma$ 、 $TNF\alpha$ 、IL-6 で刺激を行い、MRL/MpJ マウスと MRL/*lpr* マウスで発現に変化があった遺伝子 X に注目し、遺伝子発現量を検討した。遺伝子 X はサイトカイン刺激により発現が亢進していた。

③ 注目した遺伝子の阻害薬によるマウスマイクログリア細胞の活性化への影響

SLE モデルマウスである MRL/*lpr* マウスからマイクログリアを分離し、注目した遺伝子 X の阻害薬を添加したところ、マイクログリア活性化マーカーである TNF の発現は減少した。また食能についても X の阻害薬により低下した。

④ 注目した遺伝子の阻害薬による SLE モデルマウスへの治療効果

MRL/*lpr* マウスに注目した遺伝子の阻害薬の髄腔内注射を行い、新規物体認識試験を行ったところ、空間認知記憶は改善した。さらに、治療群で脳のマイクログリアの活性化が低下していた。

【考 察】

本研究では遺伝子 X の阻害薬により、マイクログリアの活性化の抑制ならびに SLE モデルマウスの認知機能障害の改善を認めた。さらに、患者由来 iMG においてもマウスと同様にサイトカイン刺激により遺伝子 X の発現量の増加が認められたことから、NPSLE においても治療ターゲットとなる可能性があると考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

これまで、NPSLE の病態は不明であった。本研究によりその病態にマイクログリアの活性化が関わるということが明らかになり、さらにその原因遺伝子のひとつが明らかになった。今後はヒト iMG の活性化を阻害できるかどうかも含め、さらなる研究を進めていく。また、本研究の結果は NPSLE だけでなく、マイクログリア活性化が病態にかかわるアルツハイマー病、精神変性疾患、精神疾患にも応用できる可能性がある。

【謝 辞】

本研究は公益財団法人 先進医薬研究振興財団の助成で行いました。心より深謝申し上げます。また特許等の観点から一部の遺伝子名を伏せさせていただきました。大変恐縮ですがご理解いただけますと幸いです。

【参考・引用文献】

1. Karino K, Kono M, Takeyama S, Kudo Y, Kanda M, Abe N, Aso K, Fujieda Y, Kato M, Oku K, Amengual O, Atsumi T. Inhibitor of NF- κ B Kinase Subunit ϵ Contributes to Neuropsychiatric Manifestations in Lupus-Prone Mice Through Microglial Activation. *Arthritis Rheumatol.* 75(3):411-423. 2023.
2. Ohgidani M, Kato TA, Setoyama D, Sagata N, Hashimoto R, Shigenobu K, Yoshida T, Hayakawa K, Shimokawa N, Miura D, Utsumi H, Kanba S. Direct induction of ramified microglia-like cells from human monocytes: dynamic microglial dysfunction in Nasu-Hakola disease. *Sci Rep.* 4:4957. 2014.