

Title	Direct activation of microglia by $\beta$ -glucosylceramide causes phagocytosis of neurons that exacerbates Gaucher disease
Author(s)	清水, 隆
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/92038">https://hdl.handle.net/11094/92038</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	清水 隆
論文題名 Title	Direct activation of microglia by $\beta$ -glucosylceramide causes phagocytosis of neurons that exacerbates Gaucher disease ( $\beta$ -グルコシルセラミドによって直接活性化されたミクログリアは神経細胞を食食することでゴーシェ病を悪化させる)
論文内容の要旨 (Abstract of Thesis)	
〔目的 (Purpose)〕	
<p>自然免疫受容体は病原体のみならず、自己も認識し免疫応答を惹起する。この受容体の1つであるMincleが自己由来の<math>\beta</math>-グルコシルセラミド (<math>\beta</math>-GlcCer) を認識することが近年明らかとなった。<math>\beta</math>-GlcCerの代謝は分解酵素GBAにより厳密に制御されているが、GBA変異により<math>\beta</math>-GlcCerが蓄積するとゴーシェ病 (GD) を発症する。GDで生じる重篤な神経症状は<math>\beta</math>-GlcCer蓄積に伴う神経細胞死が主たる機序とされているが、グリア細胞の寄与は不明であった。本研究では、<math>\beta</math>-GlcCerの認識を介してグリア細胞がGD病態に寄与しているかどうかを明らかにすることを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績 (Methods/Results)〕	
<p>神経特異的GBA欠損マウス (<math>Gba^{flox/flox} \times Nestin-Cre; Gba^{\Delta Nes}</math>) を樹立し、これをMincle欠損マウスと交配させたところ、運動症状や早期死亡などのGD患者に類似した表現型が改善した。またGBA阻害薬によって誘導した薬剤性GDモデルにおいては、Mincle欠損により全てのマウスが生存した。Mincleは脳細胞の中ではミクログリアに高発現しており、Mincle<math>^{flox/flox} \times Cx3cr1-Cre</math>により全ての薬剤性GDマウスは生存したことから、Mincleを発現するミクログリアが責任細胞であることが確認された。そこでミクログリアの状態を評価したところ、WTマウスと比較して<math>Gba^{\Delta Nes}</math>マウスの免疫染色では強いIba1シグナルが認められ、シングルセルRNA-seq解析でも著しい活性化遺伝子発現パターンを示した。ミクログリア活性化の原因の1つとして<math>\beta</math>-GlcCerが考えられたため、脳組織の質量分析イメージング解析を行ったところ、<math>\beta</math>-GlcCerはミクログリア活性化の強い領域に一致して蓄積していた。<i>In vitro</i>実験でも<math>\beta</math>-GlcCer刺激によりミクログリアはMincle依存性に活性化型への形態変化、炎症性サイトカイン産生を示したことから、<math>\beta</math>-GlcCerが直接ミクログリアの活性化を誘導することが分かった。活性化ミクログリアのGD病態への寄与を評価するために、ミノサイクリン投与によりミクログリアの活性化を抑制したところ、<math>Gba^{\Delta Nes}</math>マウスの運動症状や生存期間が改善した。運動をつかさどる運動野の神経細胞を評価したところ、ミクログリアの活性化部位に一致して神経細胞死と神経細胞消失が観察され、これらはMincle欠損やミノサイクリン投与によるミクログリアの活性化抑制によって緩和された。この領域で活性化ミクログリアは変性神経細胞を食食するだけでなく、生きた神経細胞も食食していた。食食関連分子の中で<math>Gba^{\Delta Nes}</math>マウスのミクログリアで<i>Axl</i>が高発現しており、<i>Axl</i>依存性の食食をBMS-777607によって阻害したところ<math>Gba^{\Delta Nes}</math>マウスの運動症状が改善した。また<i>Axl</i>が認識する食食シグナルであるホスファチジルセリン (PS) は<math>Gba^{\Delta Nes}</math>マウスの神経細胞表面に多く露出していた。PSの露出は可溶性因子によっても誘導されることから脳内の炎症性サイトカインを評価したところ、Mincle依存性にTNFが増加しており、その由来は活性化ミクログリアであった。TNFはnecroptotic signalを介してPS露出を誘導することが知られている。実際に<math>Gba^{\Delta Nes}</math>マウスの神経細胞はnecroptotic signatureが亢進しており、エタネルセプトによってTNFシグナルを阻害することでミクログリアによる神経細胞の食食が抑制され運動症状が改善した。またGD患者の脳組織を観察すると、ミクログリアの活性化や神経細胞の食食像など、GDモデルと共通する所見が認められた。この炎症病態を標的として、FDA承認薬であるミノサイクリンとエタネルセプトの併用により薬剤性GDマウスを治療したところ、神経細胞死、運動症状、生存が著しく改善した。</p>	
〔総括 (Conclusion)〕	
<p>脳に蓄積した<math>\beta</math>-GlcCerがMincleを介してミクログリアを活性化し、これが産生したTNFによってストレスを受けた神経細胞をミクログリアが食食することで神経細胞死が生じるという、新たなメカニズムが明らかとなった。FDA承認薬による炎症病態の抑制は神経症状に有効であったことから、ドラッグリポジショニングによる迅速な臨床応用も期待される。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 清水 隆	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 山崎 晶
	副 査 大阪大学教授 原 英 二
	副 査 大阪大学教授 鈴木 一 博
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>ゴーシェ病 (GD) は <i>GBA</i> 遺伝子の変異により、<math>\beta</math>-グルコシルセラミド (<math>\beta</math>-GlcCer) が蓄積する遺伝性難病であり、致死性の神経症状を伴う。<math>\beta</math>-GlcCer蓄積に伴う神経細胞死メカニズムが提唱されているが、周辺に存在するグリア細胞の寄与は不明であった。神経細胞特異的 <i>Gba</i> 欠損マウスを樹立したところ、GD患者と類似した運動症状が再現されたが、同時に運動野における局所的なミクログリア活性化とそれに伴う過剰な神経細胞の食食が観察された。一連の現象とGD症状は、Mincle欠損や薬剤によるミクログリア活性化抑制によって軽減された。以上より、GDにおけるグリア細胞を介する神経細胞死の誘導機構が明らかとなった。同様の所見がGD患者でも観察され、この経路をFDA承認薬の併用療法により阻害することで神経症状が著明に改善したことから、ドラッグリポジショニングが有望である可能性が示された。上記の研究業績は博士 (医学) の授与に値すると認める。</p>	