

**PRESS RELEASE (2015/09/10)**

**脳内の免疫担当細胞ミクログリアの M1/M2 極性転換分子スイッチを発見  
～リソソーム酵素カテプシン群の新たな機能を解明～**

**概要**

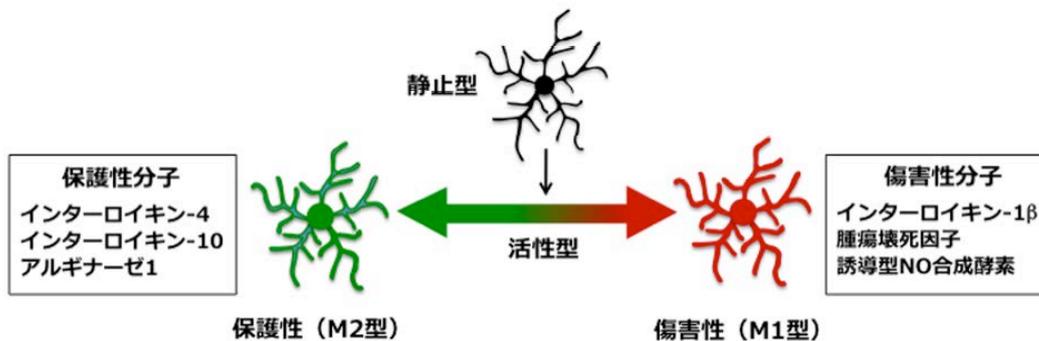
九州大学大学院歯学研究院の中西 博教授らの研究グループは、リソソーム酵素カテプシン E ならびにカテプシン B (※1) によるプロテアーゼ反応のリレーが脳常在性ミクログリア (※2) のもつ傷害性 (M1 型) ならびに保護性 (M2 型) の極性転換における分子スイッチとして働くことをマウスの低酸素/脳虚血モデル (※3) を用いて明らかにしました。この研究成果は、脳炎症の慢性化ならびに神経傷害の発生メカニズムを理解するうえでの新たな知見をもたらし、カテプシン E ならびにカテプシン B を標的とした新しい炎症性脳病態に対する治療薬開発の可能性を提示するものです。

なお、本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST) ならびに国立研究開発法人科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 (CREST) の一環として行われ、本研究成果は、2015 年 9 月 9 日 (水) (米国東部時間) に米国神経科学会誌『Journal of Neuroscience』にオンライン掲載されました。

**背景**

高齢化が急速に進行する日本において慢性炎症が原因となる疾患が急増しており、炎症の慢性化メカニズムの解明ならびに制御法の開発は急務となっています。炎症時に見られる浸潤性マクロファージは機能的に相反する傷害性 (炎症性) に働く M1 型ならびに保護性 (抗炎症性) に働く M2 型に分類され、同様に脳常在性ミクログリアについても M1/M2 分類が適用されるようになってきています (図 1)。これまでの研究では、このようなミクログリアの性質が傷害性、保護性に变化する「極性転換」において、炎症反応に必須な転写因子 (NF-κB) (※4) の活性化が重要な役割を果たすことが知られていますが、どのような仕組みでミクログリアの性質が変化するか、極性転換の「分子スイッチ」の全容は、未だ明らかになっていません。

本研究グループは、長年に渡り、ミクログリアの産生するリソソーム酵素カテプシン群のプロテアーゼ作用に着目し、これまでカテプシンが疼痛の発症や慢性化において重要な役割を果たしていることを明らかにしてきました。今回の研究では、カテプシン群がミクログリアの性質の変化にどのように関わっているのか、転写因子 NF-κB の活性化への関連を調べ、カテプシン群がミクログリアの M1/M2 極性転換における「分子スイッチ」として働く可能性について検討を行いました。



**(図 1) ミクログリアの相反する二つの極性：「傷害性 (M1 型)」ならびに「保護性 (M2 型)」**

脳の炎症に関わっていると考えられているミクログリアは、保護性に働く場合と傷害性に働く場合があると知られています。ただし、脳内におけるミクログリアはこのような二極に分類できるような単純なものではなく、より多彩な性質を持っていると考えられます。

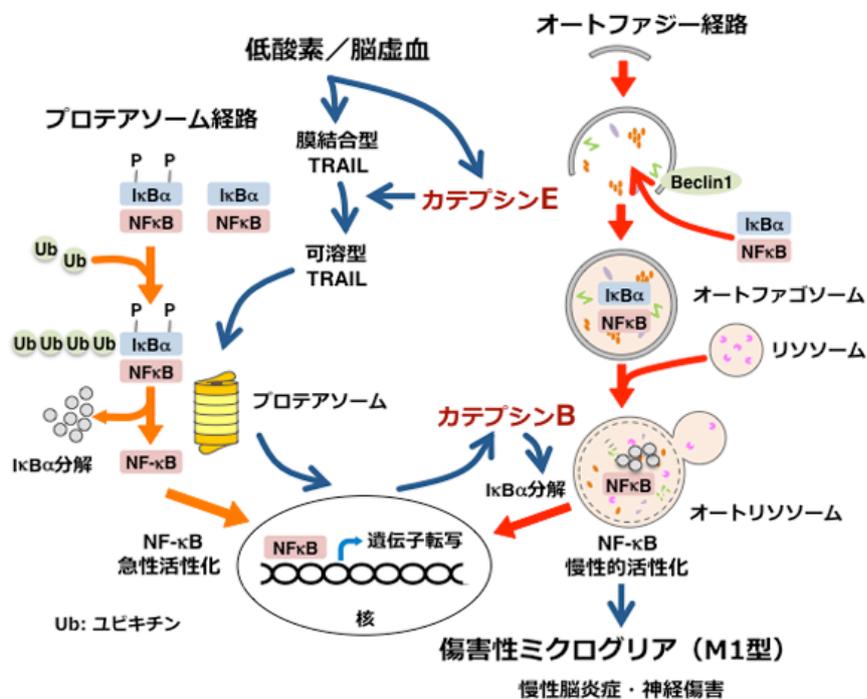
**内容**

脳の炎症状態モデルとして低酸素/脳虚血の負荷をかけた野性型マウスでは、海馬 (※5) に重度の神経傷害が生じていること、神経傷害に先行して海馬に集積したミクログリアにカテプシン B が増大していることがわかりました。一方、カテプシン B の機能を明らかにする目的で、カテプシン B を欠損さ

せたマウスを作成したところ、神経傷害が有意に軽減していることがわかりました。低酸素/脳虚血を負荷した野生型マウスの海馬より経時的に単離したマイクログリアでは、図1に示すような傷害性分子の持続的発現とともに、保護性分子の一過性発現が認められました。ところが、カテプシン B を欠損させたマウスの海馬より単離したマイクログリアでは、保護性分子の早期からの一過性発現のみが認められました。さらに、培養系における脳虚血モデルである低酸素/低グルコースを負荷すると、培養マイクログリアにおいてオートファジー (※6) が誘導され、オートファジーの実行因子であるカテプシン B は、普段は転写因子 NF-κB に結合することで不活性化させている抑制因子 IκBα (※7) を分解し、転写因子 NF-κB の核内移行を促進することで傷害性分子の遺伝子転写を誘導しました (図2: オートファジー経路)。

一方、カテプシン B と同様に、低酸素/脳虚血の負荷をかけた野生型マウスではカテプシン E が神経傷害に先行して海馬に集積したマイクログリアで増大し、カテプシン E を欠損させたマウスでは神経障害が有意に軽減していました。興味深いことに、カテプシン E を欠損させたマウスでは、低酸素/脳虚血を負荷しても、マイクログリアにおけるカテプシン B 増大は誘導されませんでした。また、低酸素/脳虚血を負荷した野生型マウスの海馬より経時的に単離したマイクログリアでは、カテプシン E ならびに TNF 関連アポトーシス誘導リガンド (TRAIL) (※8) の発現が増大しました。低酸素/低グルコースを負荷した培養マイクログリアにおいて、培養上清にはカテプシン E に依存した TRAIL の分泌が認められました。さらに TRAIL の添加により、タンパク質分解酵素複合体のプロテアソームは修飾タンパク質であるユビキチンを目印として抑制因子 IκBα を分解し、転写因子 NF-κB の活性化ならびにカテプシン B の発現増大を誘導しました (図2: プロテアソーム経路)。

以上の結果より、次のことがわかりました。低酸素/脳虚血に伴い、マイクログリアで増大したカテプシン E は、マイクログリアの細胞膜に結合して存在する TRAIL (膜結合型) を遊離します。遊離した TRAIL (可溶型) は、マイクログリアに発現する TRAIL 受容体を介しプロテアソームによる抑制因子 IκBα の分解を促進し、転写因子 NF-κB の活性化を急性に引き起こします。さらに、転写因子 NF-κB はオートファジーの誘導ならびにカテプシン B の発現増大を引き起こし、オートファジーの実行因子であるカテプシン B による抑制因子 IκBα の分解をさらに誘導します。これらの2つのプロテアーゼ反応のリレーによって、最終的に転写因子 NF-κB の慢性的活性化を引き起こし、神経傷害性の性質を持ったマイクログリア (M1 型) に変化させることが明らかとなりました (図2)。



(図2) 低酸素/脳虚血におけるマイクログリアの傷害性変化の細胞内プロセス

カテプシン E とカテプシン B が関係するプロテアーゼ反応のリレーによって、転写因子 NF-κB の慢性的活性化が起こり、マイクログリアが傷害性 (M1 型) に変化する。

■効果・今後の展開

本研究は、低酸素/脳虚血時におけるリソソーム酵素カテプシン E ならびにカテプシン B によるプロテアーゼ反応のリレーがマイクログリアを神経傷害性に変化させ、慢性脳炎症ならびに神経傷害に関与することを明らかにしました。つまり、カテプシン E ならびにカテプシン B によるプロテアーゼ反応が

ミクログリアの M1/M2 極性転換に関与する「分子スイッチ」として働いていることを示したことになります。

また、神経傷害性に変化したミクログリア (M1 型) は、慢性脳炎症ならびに神経傷害を誘導すると考えられています。そこで今後は、末梢に投与可能なカテプシン E ならびにカテプシン B の特異的阻害剤を創出し、炎症性脳病態に対する治療薬としての有効性について検討を行う予定です。

#### <用語解説>

- (※1) カテプシン E ならびにカテプシン B : 両者ともリソソーム性プロテアーゼの一種
- (※2) ミクログリア : 脳脊髄に存在し免疫機能を担う中枢神経中のグリア細胞の一種
- (※3) 低酸素/脳虚血モデル : 片側総頸動脈閉塞による脳虚血を行った後、酸素濃度 8% 環境による低酸素を負荷する脳虚血モデル
- (※4) 転写因子 NF- $\kappa$ B : 主に炎症性分子の転写因子として働くタンパク質複合体
- (※5) 海馬】記憶や空間学習能力に関わる脳部位
- (※6) オートファジー : 細胞が持っている細胞内のタンパク質を分解するための仕組みの一つ
- (※7) 抑制因子 I $\kappa$ B $\alpha$  : 転写因子 NF- $\kappa$ B に結合し核移行シグナルを阻害することで不活性化するタンパク質で、抑制因子 I $\kappa$ B $\alpha$  の分解により転写因子 NF- $\kappa$ B は活性化される
- (※8) TNF 関連アポトーシス誘導リガンド (TRAIL) : 受容体である DR5 に結合し、アポトーシスや転写因子 NF- $\kappa$ B の活性化を誘導する TNF スーパーファミリーに属するリガンド

#### <本研究について>

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST) : 「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究開発領域 (研究開発総括 : 宮坂昌之 大阪大学未来戦略機構 特任教授、フィンランドアカデミー FiDiPro 教授) における研究開発課題「脳内免疫担当細胞ミクログリアを主軸とする慢性難治性疼痛発症メカニズムの解明」(研究開発代表者 : 井上和秀 九州大学理事・副学長、研究開発期間 : 2010 年度~2015 年度) の支援を受けて行われたものです。なお、AMED-CREST 「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究開発領域は、本年度 4 月の日本医療研究開発機構の発足に伴い、国立研究開発法人科学技術振興機構より移管されています。

##### 【研究に関するお問い合わせ】

九州大学大学院歯学研究院 教授  
中西 博 (なかにし ひろし)  
電話 : 092-642-6413  
FAX : 092-642-6215  
Mail : [nakan@dent.kyushu-u.ac.jp](mailto:nakan@dent.kyushu-u.ac.jp)

##### 【革新的先端開発支援事業に関するお問い合わせ】

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)  
戦略推進部 研究企画課  
〒100-0004 東京都千代田区大手町一丁目 7 番 1 号  
TEL : 03-6870-2224  
Mail : [kenkyuk-ask@amed.go.jp](mailto:kenkyuk-ask@amed.go.jp)