

特集 2 新規治療標的としてのグリアの可能性

2. 高齢認知症におけるミクログリアと前シナプスタンパク

澤田 健*

抄録：ミクログリアは、貪食やT細胞への抗原提示を行い、神経免疫に寄与している。また、神経発達時に余剰のニューロンやシナプスの除去に関与し、脳組織の恒常性を保つと考えられている。成熟してからも認知機能に関与する。アルツハイマー病においては、プラークや異常タウタンパクを除去すると同時に正常ニューロンやシナプスに傷害を及ぼすことにより、認知機能低下を導いている可能性が示唆されており、特に前シナプス部位の異常が報告されている。いくつかの前シナプスタンパクは認知症患者において、減少がみられる。抑制性神経に分布する complexin-1 の減少は、初期の認知症の認知機能低下と関連し、興奮性神経に分布する complexin-2 の減少は認知症の進行時の認知機能と相関することが示されている。現在、筆者らは認知症の海馬組織を用いてミクログリアと complexin やその他の前シナプスタンパクの評価を行っている。

日本生物学的精神医学会誌 32 (1) : 33-37, 2021

Key words : microglia, dementia, Alzheimer's disease, presynaptic proteins, complexins

はじめに

ミクログリアは、神経系に広く分布し、神経免疫において中心的な役割をもつ。末梢組織におけるマクロファージと同じく、清掃、貪食、T細胞への抗原提示、サイトカインなどの放出などの役割がある。認知症などの神経変性疾患や外傷、脳損傷などがあると、その異常を検知したミクログリアが、病理部位だけでなく、正常なニューロン、シナプスに対して傷害作用を起こし、認知機能の低下を引き起こしていると考えられている^{8, 14, 18)}。その機構として、ミクログリアは、補体を使用してシナプスへの接触後、そのシナプス除去をして記憶を消去し修飾していることが想定されている²¹⁾。しかし実際の認知症患者における病理的シナプスとミクログリアとの関連性は明らかでない。本稿では、簡単にミクログリアと前シナプスタンパクについて述べたのち、高齢認知症患者のブレインバンクを用いて行っている筆者らの研究について簡単に述べたい。

1. ミクログリア

ミクログリアは、マウスでは胎生 7.5 ~ 9.5 日頃の卵黄嚢から神経組織に遊走した赤芽球系前駆細胞を起源にもつ。ヒトにおいても同様に胚性循環が始まった時点で神経組織に移動し、脳血液関門ができた後は、生涯にわたり自己増殖をして恒常性を保つ^{4, 11)}。脳内に存在する全細胞の 10% を占め中枢神経系に一樣に分布しており、神経免疫の中心的役割を果たしている¹¹⁾。正常時、その形態は ramified 型で、分枝をもち長い突起を伸ばし神経系に異常がないか、常に監視を行っている。いったん感染や傷害などの異常を検知するとダイナミックに変化を起こし、amoeboid 型になり、感染源に集積するなど免疫機能を発現し、異物や死細胞を貪食し取り除き、神経保護因子を放出して組織の修復を行う¹⁰⁾。その病的変化を発見するためには、カリウムの変化やサイトカインの放出などを感知し、その形態を変化させ周囲の組織を清掃、貪食を行う。アルツハイマー病患者の脳においては、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などの炎症性サイトカインが放出され、神経変性や中枢神経系の炎症応答を引き起こす。また、一酸化窒素、

Microglia and presynaptic proteins in dementia

* 高知医療センター こころのサポートセンター (〒 781-8555 高知県高知市池 2125-1) Ken Sawada : Kokorono-Support Center, Kochi Health Sciences Center. 2125-1, Ike, Kochi City, Kochi 781-8555, Japan

【澤田 健 E-mail : ken_sawada@khsc.or.jp】

活性酸素、炎症性サイトカイン、ケモカインなどを産出することが示されている^{2, 5, 11)}。ミクログリアはその神経免疫機能とともに、神経発達時の神経回路の洗練化にも重要な役割をもつことが示されている。発達時に、神経細胞死の残骸を除去し、冗長なシナプスの剪定を行うことにより、神経回路の伝達を最適化させる。神経回路形成の過程では、発生初期に過剰なシナプスが形成され、未熟なシナプスを除去して必要なシナプスを補強することで適切な神経回路が形成される^{12, 13)}。ミクログリアは記憶の形成、消去にも関与しており、免疫機能や清掃を行っているものと同じ分子基盤があると考えられる^{9, 15, 21)}。

アルツハイマー病などの神経変性疾患において、ミクログリアは、プラークや変性したニューロンやシナプスの周辺に移動して貪食し、清掃を行っていると考えられている。補体依存性の経路と発生時に過剰なシナプスを剪定するミクログリアが不適切に活性化され、アルツハイマー病におけるシナプスの減少を媒介している⁸⁾。ミクログリアとマクロファージは形態上区別できない。このため、血液脳関門が破綻したとき、マクロファージの迷入があり、これがミクログリアとして活動をしていると以前は考えられていた。しかし、血液脳関門破綻時にも自己増殖をしたミクログリアが活動して免疫機能を発現していることが明らかとなった¹⁷⁾。アルツハイマー病プラーク近傍の活性化したミクログリアは、アルツハイマー病で神経免疫を行いアミロイドβやタウタンパクなどの病的なタンパクを取り除くという役割があるが、同時にシナプスを過剰に刈り込むことで、シナプスの減少をきたして認知機能低下を引き起こしているという病的な側面があることが示されている。ニューロン周囲のシナプスに入り込み、細胞周囲の抑制性伝達を除去することによって、神経伝達をより興奮化させる効果があると考えられている³⁾。このシナプス前終末と後膜の間にミクログリアが入り、シナプス伝達を阻害することをストリッピング効果というが、実際には、シナプス前終末がどのようなになっているのか明らかではない。ミクログリアがシナプスを攻撃することで、シナプス量の減少が行っているのではないかと推測されている。その分子機構としてC1q, C3などの補体をミクログリアが使用していることが明らかとなった¹⁹⁾。アルツハイマー病のマウスモデルでは、プラーク形成前のシナプスでC1qが増加することが示され、アミロイドβタンパク質のオリゴマー投与によりC1qが増加することが明らかになった。さらに、ア

ミロイドβタンパク質のオリゴマーを投与することで、急性モデルでミクログリアがC3受容体を介してシナプスを除去することが示された⁸⁾。アルツハイマー病動物モデルでC3をノックアウトするとシナプスの喪失が少なくなり、行動も改善していた²³⁾。また、記憶の消失にもC1q, C3が関与していることが明らかとなった²¹⁾。

2. 前シナプスタンパク

まず、シナプス前終末からの神経伝達物質のエキソサイトーシスについて述べる。シナプス前終末から神経伝達物質を放出するために、神経伝達物質を内包したシナプス小胞をシナプス前膜に癒合し放出する分子機構が必要である。神経伝達物質がシナプス間隙に放出されるまでのステップ（ドッキング、プライミング、小胞融合）を通じて神経伝達物質放出を制御しているタンパク群がある。この分子機構がsoluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptors (SNARE) タンパク複合体とその関連タンパクである。Syntaxin, SNAP-25, VAMPがSNAREを形成する神経伝達物質放出機構の主要なタンパクであり、munc-18そしてcomplexinなどのSNARE関連タンパクで構成されている。前シナプスタンパクであるcomplexinは、神経伝達物質を内包するシナプス小胞をシナプス前膜に固定する。そして、活動電位がシナプス前部に到達すると電位依存性Ca²⁺チャネルを通じて細胞外からCa²⁺が流入すると、complexinが解離し、シナプス小胞とシナプス前膜を融合し神経伝達物質をシナプス間隙に放出する²⁰⁾。アルツハイマー病では、さまざまなシナプスタンパクが低下を示すことが示されているが、認知機能との相関をしていることが示されている分子は少ない。SNAP-25などの前シナプスタンパクは、プラークやタウタンパクよりも認知機能と相関があった¹⁾。筆者らの報告では、SNAP-25や抑制性神経に主に発現するcomplexin-1と興奮性神経に主に発現が多いcomplexin-2の発現量の減少がアルツハイマー病発症のオッズ比を高くしていた。また、complexin-2の減少は皮質萎縮と相関をしていた⁶⁾。また、418人の生前同意を得た地域ベースの認知症の脳バンクの試料を用いて、前シナプスタンパクをELISAで測定した研究では、complexin-1はBraak0-IIの全体的な認知の分散の14.4%を説明し、complexin-2はBraakV-VIの分散の7.3%を説明した。すなわち、高齢認知症患者での初期の認知機能低下とcomplexin-1の低下が、そ

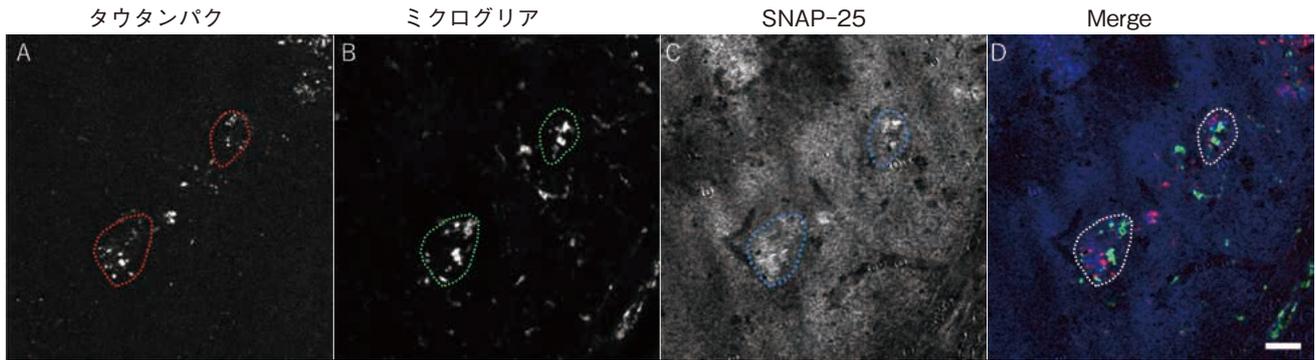


図 海馬歯状回の外分子層における3重染色像

A. タウタンパク (赤), B. ミクログリア (緑), C. SNAP-25 (青), D. それぞれを重ね合わせた画像。破線で囲った領域がタウタンパク, SNAP-25の染色強度が増強している病的シナプスが認められている部位である。この部位にミクログリアも集積していることがわかる。スケールバーは50 μ m。

して後期の認知機能低下は, complexin-2 の低下が相関していた¹⁶⁾。

3. アルツハイマー病における前シナプスタンパクとミクログリア

シナプス病理をみたメタ解析は, 海馬, 前頭葉などのシナプス減少がアルツハイマー病発症の初期イベントであることを確認した。57個のシナプスマーカーのメタ解析では, シナプス後のマーカーよりもシナプス前のマーカーのほうがアルツハイマー病で影響を受けていることが明らかになった²⁰⁾。アルツハイマー病と前シナプスタンパクの筆者らの総説は, いくつかの点を指摘している⁷⁾。第一に, すべての前シナプスタンパクが, 同じレベルの影響を受けるわけではないこと。第二に, 異なる脳領域における前シナプスタンパクは, 同じ分子であっても異なる影響を受けていること。第三に, アルツハイマー病の病理や加齢は前シナプスタンパクの病理と相関をしていること。第四に, 前シナプスタンパクは, タンパク質間相互作用を検討する必要があること。以上のようなことを考える必要があり, アルツハイマー病における前シナプスタンパク研究は, 異なる領域で, 多くの分子を同時に定量, 検討することが必要となっている。

アルツハイマー病での前シナプスタンパクとミクログリアとの関係をみるために予備的検討を行った。高齢者の認知症の死後脳サンプルを用いて SNAP-25 (Sp12 抗体 ラビット IgG), タウタンパク (Alz-50 抗体 マウスモノクローナル IgM), ミクログリア (HLA-DR マウスモノクローナル IgG1) の免疫組織染色を行った。生前同意を行ったアルツハイマー病患者の死後脳を用いた。前シナプスタン

パクの病理が強い病的シナプスが存在する海馬歯状回の外分子層においてミクログリアの集積が認められ, かつ, タウタンパクや SNAP-25 がその周囲に存在していた (図参照)。しかし, 同じサンプルを用いた筆者らの検討では, アルツハイマー病でより病初期に起こる外分子層における病的シナプス内部には, SNARE を構成するタンパクである Syntaxin, SNAP-25, VAMP は観察できたが, complexin-1 と complexin-2 は共に, 病的シナプスの部位には検出できなかった。海馬歯状回外分子層は, 病初期から中期にかけてタウタンパク, アミロイド β と共に病理的な前シナプスタンパク免疫強度が強い場所であるが, 認知症初期から complexin が除去されているのか, complexin が産生できていない可能性がある。

4. 今後の研究

現在, 死後脳バンクからの海馬サンプルにおいて, complexin-1, complexin-2, SNAP-25 などとともにミクログリアのマーカーである HLA-DR に対する抗体を用いて, 免疫組織染色を行ったのちタンパク発現量を測定している。海馬の垂領域でその変化を定量することで, どの領域に病理が存在するのか, どのように病理が進展していくのかを評価し, ミクログリアと前シナプスタンパクにおける病理の関係を評価していく予定である。

5. 終わりに

ミクログリアと前シナプスタンパクについて述べた。ミクログリアがシナプスに直接的に作用し, 記憶などの認知機能に影響を与えていることは明らかになってきている。認知症におけるミクログリアの

機能を考えるうえで認知機能と関連する前シナプスタンパクとの関係は、興味深い。complexin は、他の前シナプスタンパクとは異なり、アルツハイマー病初期か、後期の病期によってタンパク発現量が変化し、その発現量は認知機能と相関をする。ミクログリアと complexin との関係を検討することは重要と考えられる。今後、海馬や大脳皮質で、ミクログリアと complexin との関係を死後脳研究とモデル動物を用いて検討を行っていかうと考えている。

本総説において紹介した予備的検討は、倫理的に配慮を行い、ブリティッシュコロンビア大学の倫理委員会の承認を得て行っている。本稿に関して開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Arnold SE, Louneva N, Cao K, et al (2013) Cellular, synaptic, and biochemical features of resilient cognition in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 34 : 157-168.
- 2) Brown GC and Vilalta A (2015) How microglia kill neurons. *Brain Res*, 1628 : 288-297.
- 3) Chen Z, Jalabi W, Hu W, et al (2014) Microglial displacement of inhibitory synapses provides neuroprotection in the adult brain. *Nat Commun*, 5 : 4486.
- 4) Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, et al (2010) Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science*, 330 : 841-845.
- 5) Griffin WS (2013) Neuroinflammatory cytokine signaling and Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 368 : 770-771.
- 6) Honer WG, Barr AM, Sawada K, et al (2012) Cognitive reserve, presynaptic proteins and dementia in the elderly. *Transl Psychiatry*, 2 : e114.
- 7) Honer WG, Ramos-Miguel A, Alamri J, et al (2019) The synaptic pathology of cognitive life. *Dialogues Clin Neurosci*, 21 : 271-279.
- 8) Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, et al (2016) Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science*, 352 : 712-716.
- 9) Klein RS (2020) On complement, memory, and microglia. *N Engl J Med*, 382 : 2056-2058.
- 10) Lai AY and Todd KG (2006) Microglia in cerebral ischemia : molecular actions and interactions. *Can J Physiol Pharmacol*, 84 : 49-59.
- 11) Li Q and Barres BA (2018) Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease. *Nat Rev Immunol*, 18 : 225-242.
- 12) Lichtman JW and Colman H (2000) Synapse elimination and indelible memory. *Neuron*, 25 : 269-278.
- 13) Paolicelli RC and Gross CT (2011) Microglia in development : linking brain wiring to brain environment. *Neuron Glia Biol*, 7 : 77-83.
- 14) Prinz M, Jung S and Priller J (2019) Microglia biology : One century of evolving concepts. *Cell*, 179 : 292-311.
- 15) Rajendran L and Paolicelli RC (2018) Microglia-mediated synapse loss in Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 38 : 2911-2919.
- 16) Ramos-Miguel A, Sawada K, Jones AA, et al (2017) Presynaptic proteins complexin-I and complexin-II differentially influence cognitive function in early and late stages of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, 133 : 395-407.
- 17) Reed-Geaghan EG, Croxford AL, Becher B, et al (2020) Plaque-associated myeloid cells derive from resident microglia in an Alzheimer's disease model. *J Exp Med*, 217.
- 18) Salter MW and Stevens B (2017) Microglia emerge as central players in brain disease. *Nat Med*, 23 : 1018-1027.
- 19) Schafer DP, Lehrman EK, Kautzman AG, et al (2012) Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron*, 74 : 691-705.
- 20) Sudhof TC (2013) Neurotransmitter release : the last millisecond in the life of a synaptic vesicle. *Neuron*, 80 : 675-690.
- 21) Wang C, Yue H, Hu Z, et al (2020) Microglia mediate forgetting via complement-dependent synaptic elimination. *Science*, 367 : 688-694.
- 22) de Wilde MC, Overk CR, Sijben JW, et al (2016) Meta-analysis of synaptic pathology in Alzheimer's disease reveals selective molecular vesicular machinery vulnerability. *Alzheimers Dement*, 12 : 633-644.
- 23) Wu T, Dejanovic B, Gandham VD, et al (2019) Complement C3 is activated in human AD brain and is required for neurodegeneration in mouse models of amyloidosis and tauopathy. *Cell Rep*, 28 : 2111-2123 e2116.

■ ABSTRACT

Microglia and presynaptic proteins in dementia

Ken Sawada

Kokorono-Support Center, Kochi Health Sciences Center

Microglia are the primary cells responsible for neuroimmune. The roles of microglia include phagocytosis, scavenging, the release of cytokines, and antigen presentation to T cells. Furthermore, microglia help to form efficient neural circuits by removing excess neurons and synapses during neurodevelopment. After maturity, microglia also have an essential role in memory formation and elimination by using a complement-dependent system. In degenerative diseases such as Alzheimer's disease, microglia have the capacity to clean pathological changes like amyloid- β and abnormal tau protein. Moreover, microglia attack and remove normal neurons and synapses, resulted in cognitive decline. In patients with Alzheimer's disease, synaptic pathology and abnormalities of presynaptic proteins were reported. The reductions of presynaptic proteins were associated with cognitive declines in the patients. Presynaptic proteins, complexin-1, mainly distributed in inhibitory neurons, were reported to be associated with cognitive functions in early dementia. Complexin-2, dominantly distributed in excitatory nerves, was shown to be correlated with cognitive functions during the progression of dementia. We plan to evaluate the distribution of complexin and microglia by quantitative immunohistochemistry of older adults' hippocampal tissues with and without dementia.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 32 (1) : 33-37, 2021)
