

依頼稿 (報告)

平成 21 年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題

1) 脱髄および再髄鞘化におけるニューロシンの発現意義およびその作用機序

研究代表者 田中 達英

[研究の背景と目的]

多発性硬化症に代表される脱髄疾患の病因は現時点では不明であり、その根治療法は存在しない。患者は長期にわたり神経障害に苦しむため、効果的な治療法の開発が急務である。一方で脱髄疾患に対する、より有効な治療法の開発のためには、どのようなメカニズムで脱髄が起こるのかという問題を解決することが重要である。

これまで、多発性硬化症モデルマウス (EAE) の脱髄部位周囲においてセリンプロテアーゼの一つ、ニューロシン (別名 kallikrein 6, 以下 KLK6 と略す) の発現が髄鞘 (ミエリン) 形成細胞であるオリゴデンドロサイトで惹起されることを見出し、KLK6 は脱髄に対して非常に重要な因子であることが示唆されている。しかしながら、KLK6 を介したその詳細な作用機序については不明な点が多い。

そこで、本研究では KLK6-KO マウスを用いて髄鞘に及ぼす KLK6 の詳細な作用機序の解明を目指した。

[結果と考察]

1. WT および KLK6-KO マウスにおけるミエリン構成因子の発現量

0.2% cuprizone 含有飼料をマウスに与えると脳梁において徐々に脱髄が進行する。本研究ではまず、WT (8-10 週齢雌性 C57BL/6-KLK6<sup>+/+</sup>) および KLK6-KO マウス (8-10 週齢雌性 C57BL/6-KLK6<sup>-/-</sup>) に 0.2% cuprizone を 6 週間投与し、ミエリン構成因子 (MBP, CNPase) の発現量を蛋白質レベル、遺伝子レベルで比較した。WT では脱髄とともに MBP および CNPase の発現量が減少していたのに対し、KLK6-KO マウス

では減少の程度が少なかった。また、成熟型オリゴデンドロサイトの数も WT と比較して有意に多かった。

0.2% cuprizone 6 週間投与による脱髄の特徴の一つとして、投与終盤 (5-6 週目) における自発的な再ミエリン化がある。投与 6 週において KLK6-KO マウスのミエリン構成因子発現量が高いのは、脱髄が軽減されているのか、それとも自発的な再ミエリン化が促進されているのかを検討するため、経時的な変化を調べたところ、KLK6-KO マウスにおいて MBP および CNPase 遺伝子発現量は投与後 2 週間で WT と同程度減少するものの、その後の過程では WT と比べて発現の上昇がより顕著であった (図 1)。これは、cuprizone 投与 2 週以降に KLK6-KO マウスの方が WT よりも自発的な再ミエリン化が亢進されることを示唆している。

2. 再ミエリン化におけるミクログリアの役割

では、なぜ KLK6-KO マウスでは自発的な再ミエリン化が促進されるのだろうか。本研究では、組織の修復や再生に重要な働きを担うミクログリアの機能に着目した。Cuprizone を用いた本モデルでは 3-6 週にか

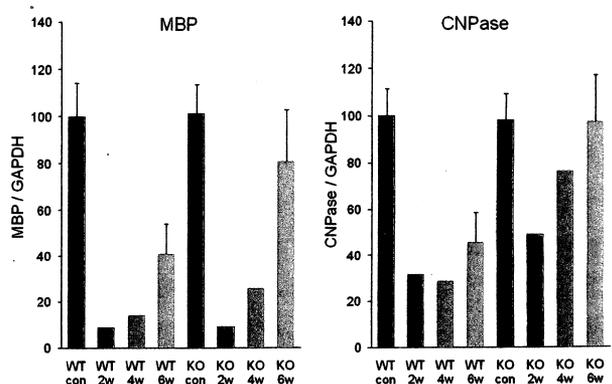


図 1 WT と KLK6-KO におけるミエリン構成因子の発現量

けて脱髄が顕著に誘導される脳梁においてミクログリアが集積し、様々なサイトカインや growth factor を分泌することにより、脱髄後の自発的な再ミエリン化に寄与することが報告されている。興味深いことに、KLK6-KO マウスでは WT と比べてミクログリアの活性化が早期に促進される傾向にあった。ミクログリアは中枢神経系において不要となったデブリスを貪食する機能を保持しているが、再生の観点からすれば、傷害によって形成されるデブリスの除去がその後の再生にとって重要なステップとなる。事実、cuprizone 投与 6 週目では WT よりも KLK6-KO マウスにおいてミクログリアの貪食能が亢進していることが、CD68 抗体を用いた免疫染色により明らかとなった (図 2)。

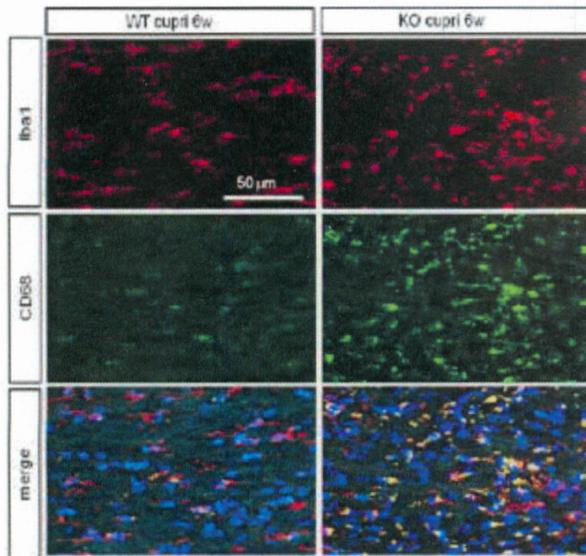


図 2 WTKLK6-KO における貪食能の比較

Iba1, ミクログリアのマーカー。CD68, リソソーム膜に発現し、その発現は貪食能と相関する。

[まとめ]

脱髄後に起こる自発的な再ミエリン化過程には活性化ミクログリアから遊離される組織保護的な因子に加えて、不要なデブリスの貪食が重要である。この過程において KLK6 はミクログリアの活性化を阻害して、再ミエリン化への移行を遅らせている可能性がある。今後、更なる詳細な分子機序の解明する予定である。