

| | |
|-------------|--|
| Title | EP4 Receptor-Associated Protein in Microglia Promotes Inflammation in the Brain(Abstract_要旨) |
| Author(s) | Fujikawa, Risako |
| Citation | Kyoto University (京都大学) |
| Issue Date | 2017-03-23 |
| URL | https://doi.org/10.14989/doctor.k20237 |
| Right | 学位規則第9条第2項により要約公開 |
| Type | Thesis or Dissertation |
| Textversion | none |

| | | | |
|--|---|-----|----------|
| 京都大学 | 博士 (医学) | 氏 名 | 藤川 理 沙 子 |
| 論文題目 | EP4 Receptor-Associated Protein in Microglia Promotes Inflammation in the Brain (ミクログリアの EP4 受容体関連蛋白 EPRAP は脳内で炎症を促進する) | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>ミクログリア細胞は、脳で炎症反応を担う細胞である。過剰に活性化したミクログリアが炎症性サイトカインを放出し、神経細胞死を引き起こすことから、アルツハイマー病をはじめとする中枢性炎症疾患と深い関わりがある。しかし、ミクログリアの活性化メカニズムについては未だ不明な点が多い。EP4-Receptor Associated Protein (EPRAP) は、EP4 受容体関連蛋白として近年クローニングされ、マクロファージで炎症を抑制することが報告されている (M Minami, et al. J Biol Chem, 2008)。EPRAP は脳にも存在するが、脳での EPRAP の役割は解明されていない。今回、EPRAP が脳内でミクログリアに存在することを明らかにし、ミクログリアの EPRAP の脳内炎症における役割について調べた。</p> <p>EPRAP がミクログリアに存在することを、野生型マウス脳切片の免疫染色により明らかにした。ミクログリア活性化のマーカーである Iba1 染色を用いて、無刺激状態の野生型マウスと EPRAP 欠損マウスで、ミクログリアの活性化に差がないことを示した。脳内炎症における EPRAP の役割を検討する為、野生型マウスと EPRAP 欠損マウスの腹腔内に 100 mg/kg の lipopolysaccharide (LPS) を投与した 6 時間後、大脳皮質におけるミクログリアの活性化を免疫染色で評価し、炎症性サイトカイン mRNA 量を、定量的 PCR 法を用いて比較した。LPS 投与後の大脳皮質における Iba1 陽性ミクログリア及び TNFα mRNA 発現量が EPRAP 欠損マウスで有意に減少していた。次に、神経細胞死に対する EPRAP の作用を明らかにする為、カイニン酸 0.2 μg (in 4 μl PBS) をマウスの脳室内に投与し、海馬 CA1 領域の神経細胞死をクレシルバイオレット染色で、ミクログリアの活性化を Iba1 染色にて評価した。カイニン酸投与 3 日後、野生型マウスの CA1 領域の多くの神経細胞で核が凝縮し、神経細胞死が確認されたが、EPRAP 欠損マウスではより多くの神経細胞が保持されていた。また、ミクログリアの活性化も野生型マウスと比較し EPRAP 欠損マウスで抑制されていた。さらに、ミクログリアの活性化における EPRAP の役割を明らかにする為、野生型マウスと EPRAP 欠損マウスの初代培養グリア細胞からミクログリアを単離し、LPS 刺激 24 時間後の炎症性サイトカイン・ケモカイン産生量を測定した。細胞実験でも同様に、野生型マウスと比較して EPRAP 欠損マウス由来のミクログリアで、LPS 誘導性の TNFα や MCP-1 産生量が減少していた。EPRAP が関わるシグナル経路を明らかにする為、ミクログリアの活性化に重要な MAPK 経路のリン酸化をウエスタンブロットティングで評価し、さらにシグナル伝達阻害剤を用いた際のサイトカイン産生量を比較した。LPS 刺激 1 時間後、野生型マウスと比較し EPRAP 欠損マウス由来のミクログリアで JNK と p38、その上流の MKK4 のリン酸化の程度が減少していた。JNK 阻害剤と MKK4 阻害剤で細胞を前処理すると、LPS 刺激 24 時間後の TNFα 産生量は、野生型と EPRAP 欠損マウス由来のミクログリアで差は見られなかった。</p> <p>以上の結果から、ミクログリアの EPRAP は MKK4 関連経路を介して炎症促</p> | | | |

進に働くことが示唆された。EPRAP は中枢性炎症疾患の進行に関わるミクログリアの活性化において、重要な役割を担っていることが考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

ミクログリア細胞は、アルツハイマー病をはじめとする炎症が関連する中枢性疾患と深く関与し、活性化機序の解明が望まれている。EP4 受容体関連蛋白 (EPRAP) は、マクロファージで炎症を抑制することが報告されている蛋白である。申請者は、EPRAP が脳内でミクログリアに存在することを明らかにし、ミクログリアの EPRAP の脳内炎症における役割について調べた。

腹腔内 LPS 投与後、野生型マウスと比較して EPRAP 欠損マウスでミクログリアの活性化と炎症性サイトカイン mRNA 発現量が抑制されていた。カイニン酸脳室内投与後、野生型マウスの CA1 領域で神経細胞死が確認されたが、EPRAP 欠損マウスでは有意に神経細胞が保持されていた。野生型マウスと比較して EPRAP 欠損マウス由来のミクログリアで、LPS 誘導性の TNF- α や MCP-1 産生量が減少していた。LPS 刺激後、EPRAP 欠損マウス由来のミクログリアで JNK と p38、その上流の MKK4 のリン酸化の程度が減少していた。JNK 阻害剤と MKK4 阻害剤で細胞を前処理すると、LPS 刺激後の TNF- α 産生量は、野生型と EPRAP 欠損マウス由来のミクログリアで差は見られなかった。以上の結果から、ミクログリアの EPRAP は MKK4 関連経路を介して炎症促進に働くことが示唆された。

以上の研究は、ミクログリア活性化機序の解明に貢献し、炎症が関連する中枢性疾患の治療に寄与する可能性がある。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 1 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降