

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2015.2) 15,1:56-57.

平成24・25年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 6)ミクログリアの活性化を調節する内在性制御因子の同定

田中 達英

6) ミクログリアの活性化を調節する内在性制御因子の同定

研究代表者 田中 達英

【研究の背景と目的】

中枢神経は神経細胞と3種類のグリア細胞で構成されている。グリア細胞の一つであるミクログリアは、脳内の主要な免疫担当細胞であり、脳細胞の10%程度を占める細胞である。活性化ミクログリアは組織傷害性細胞（以下、M1と呼ぶ）として作用する一方、保護性細胞（以下、M2と呼ぶ）としても作用する。この二面性は細胞内でどのように制御されているのかは不明である。本研究は、ミクログリアの持つ二面性はM1ミクログリアとM2ミクログリアを変換させる内在性因子（switch因子）が存在するという仮説に基づいてM1ミクログリアとM2ミクログリアのswitchingを制御する内在性因子を同定することを目的とした。

【結果】

1. ミクログリアのフェノタイプは細胞外の刺激に応じてシフトする

ミクログリアをLPS（リポ多糖）で処理すると傷害性因子であるTNF- α やIL-1 β 、また、M1フェノタイプのマーカーであるCD86、iNOSの発現量が上昇するのに対して、IL-4で処理すると保護性因子であるNGFやBDNFなどの神経栄養因子、また、M2フェノタイプのマーカーであるArg1、CD206の発現量が上昇することをqRT-PCR、免疫染色法で確認した。

続いて、M1ミクログリアとM2ミクログリアは細胞外の刺激に応じてシフトするのかを検討するため、ミクログリアをLPSまたはIL-4で18時間処理した後、

mediumを交換し、更に刺激する試薬もIL-4またはLPSに交換して、各フェノタイプのマーカー発現を調べた。その結果、LPSで刺激後、mediumを交換してIL-4で刺激すると時間依存的にM1マーカーの発現量は減少し、M2マーカー発現は時間依存的に上昇した（図1）。また、IL-4でミクログリアを刺激した後LPS刺激に変換するとM1マーカーは上昇し、M2マーカーは減少した（図1）。以上の結果から、M1とM2ミクログリアは細胞外の刺激に応じてフェノタイプがシフトすることが示唆された。

2. ミクログリアの内在性因子IRF7はミクログリアのM1へのシフトに関与する

では、ミクログリアに発現するどのような因子がフェノタイプのswitchingに寄与しているのであろうか。最近になり、マクロファージやミクログリアにおいてInterferon Regulatory Factor（IRF）が細胞の活性化を制御していることが報告されている。本研究では、M1やM2ミクログリアの性質を制御している内在性因子として、転写因子であるIRFファミリーに着目した。IRFは1-9までが知られており、その中でもLPS刺激で発現量が顕著に亢進するIRF7に着目した。ミクログリアをLPSで刺激するとIRF7の発現量が上昇するが、IL-4刺激によってM2へシフトさせると、IRF7の発現量は時間依存的に減少した。一方でM2からM1にシフトさせるとIRF7の発現量は時間依存的に上昇した。

IRF7は*in vitro*においてM1、またはM2からM1

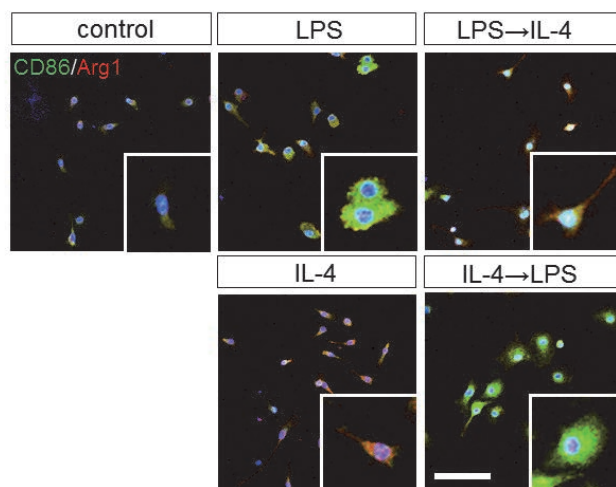


図1 各刺激に応じたM1マーカー（CD86）、M2マーカー（Arg1）発現変化

にシフトさせた時に発現が上昇することから、IRF7のM1マーカーに及ぼす影響について検討した。IRF7の発現をsiRNAでノックダウンするとLPS誘導性のM1マーカーの発現量は抑制された(図2)。さらにミクログリアをM2からM1にシフトさせた時のM1マーカー発現量もIRF7の発現をsiRNAでノックダウンしたもので抑制された(図2)。これらのことから、IRF7はM1マーカーの発現を制御していることが明らかになった。

【まとめ】

M1とM2ミクログリアが細胞外の刺激に応じてフェノタイプがシフトし、ミクログリアの傷害的性質の決定にはIRF7が関与することが示唆された。

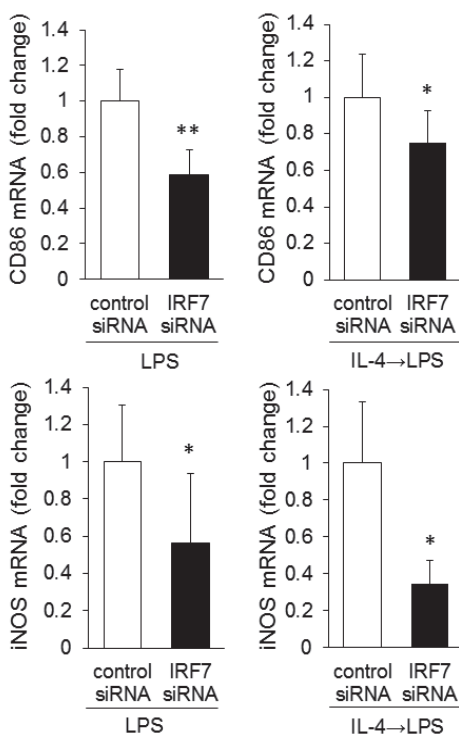


図2 IRF7 siRNA 導入時のM1マーカー発現

【文献】

Interferon regulatory factor 7 participates in the M1-like microglial polarization switch. GLIA in press.