

## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		神経変性疾患におけるグリオトランスミッターとしての補体因子の機能			
研究テーマ (欧文) AZ		Function of complement factors as a gliotransmitter in neurodegenerative diseases			
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓) ハセベ	名) リエ	研究期間 B	2016 ~ 2017 年
	漢字 CB	長谷部	理絵	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	HASEBE	RIE	研究機関名	北海道大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		北海道大学 大学院獣医学研究院・講師			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>プリオン病は人と動物の神経変性疾患であり、神経組織への異常型プリオンタンパク質の沈着、アストロサイトおよびミクログリアの活性化を特徴とする。プリオン病感染マウスでは神経変性が起こる前から補体遺伝子の発現が上昇し、C1q 遺伝子はミクログリアで発現が高い。本研究では、神経変性疾患における神経細胞、アストロサイト、ミクログリア間のクロストークを担うグリオトランスミッターとしての補体因子の機能を探索すること目的とした。まず初代培養神経細胞、成マウスの脳より分離したミクログリア、アストロサイトの共培養系の確立を試みたが、アストロサイト非存在下での神経細胞とミクログリアの共培養では、非感染の状態でも神経細胞が死滅した。また、感染マウス脳からのアストロサイトの分離ではミクログリアの混入が避けられなかったため、神経細胞・アストロサイト初代培養系にミクログリアを加えた共培養系を用いた。プリオン Chandler 株感染神経細胞・アストロサイトに Chandler 株感染マウス由来ミクログリアを加えると、神経細胞の膜透過性が亢進した。これはミクログリアの C1q 遺伝子発現をノックダウンすると観察されなくなった。ミクログリアの代わりにリコンビナント C1q (rC1q) を添加した場合にも膜透過性が亢進したが、プリオン 22L 株感染神経細胞・アストロサイトでは起こらなかった。阻害剤を用いた実験により、C1q による膜透過性の亢進には p38MAPK 経路が関与することが示唆された。また興味深いことに、Chandler 株感染神経細胞・アストロサイトにミクログリアまたは rC1q を添加すると、アストロサイトマーカー GFAP の発現が増加し、C1q 遺伝子発現をノックダウンすると、GFAP の発現増加は起こらなかった。プリオン感染マウスの脳で C1q 遺伝子発現をノックダウンしても、同様に GFAP の発現増加が抑制された。以上の結果から、ミクログリアから分泌される C1q はプリオン感染神経細胞において p38MAPK 経路を介して膜の透過性を亢進すること、アストロサイトを活性化させることが示唆された。</p>					
キーワード FA	プリオン病	補体因子	神経細胞・グリア細胞 間クロストーク		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	なし							
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>	なし							
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

Prion diseases are neurodegenerative disorders in humans and animals, characterized by accumulation of an abnormal form of prion protein, and activation of astrocytes and microglia. It has been reported that gene expression of complement factors is upregulated in prion-infected mouse brains before neurodegenerative changes occur. In this study, we assessed roles of complement factors as a transmitter for neuron-glia crosstalk. At first, we attempted to establish a co-culture system of primary-cultured neurons, and astrocytes and/or microglia isolated from adult mouse brains. However, it was not successful because neurons died in the co-culture with microglia in the absence of astrocytes, even in uninfected condition. Another problem was contamination of microglia in astrocytes when isolated from prion-infected mouse brains. Therefore, we prepared mixed primary culture of neurons and astrocytes at first, and then added purified microglia from adult mouse brains. When microglia from prion Chandler strain-infected mouse brains were added to Chandler-infected primary cultured neurons and astrocytes, membrane permeability of the neurons were increased. The membrane permeability was not increased when C1q gene expression was knocked down in microglia. The membrane permeability was also increased when recombinant C1q (rC1q) was added to the culture instead of microglia. These phenomenon were not observed in prion 22L strain-infected culture. Involvement of p38MAPK pathway in the increase of membrane permeability by C1q was suggested by experiments using MAPK inhibitor. Interestingly, C1q from microglia and rC1q increased expression of an astrocyte marker GFAP in Chandler-infected neuron and astrocyte culture. When gene expression of C1q was knocked down by induction of shRNA in Chandler-infected mouse brains, GFAP expression was down-regulated. These results suggest that C1q from microglia increased membrane permeability of neurons via p38MAPK, and that C1q activate astrocytes both ex vivo and in vivo system.