

パーキンソン病と炎症 (MPTPマーマセットにおけるマイクロアレイ実験)

岩田 真一

要 旨

PDの原因は、加齢に伴う物質が生成することがきっかけになっていると思われる。その物質は、正常加齢に伴ったものである。しかし、その物質に対しての反応に個人差があるので、若くしてPDに罹患する場合や超高齢になってからパーキンソニズムが明らかになる場合もある。その反応の一つとして炎症がある。加齢で蓄積する物質に対して、ミクログリアはその物質を除去しようとする。中枢神経系における炎症とはミクログリアの活性化のことであるので、加齢に伴う物質を除去する反応は広義の炎症である。炎症反応の初期、ミクログリアはその物質を除去し、ニューロンに対して保護的に作用する。しかし、ミクログリアが持続的に活性化すると、ニューロンに対して傷害的に働くようになってしまう。PDの発症予防として、ニューロンの細胞膜をミクログリアのターゲットとなってしまうような変化をさせないことが重要である。また、持続性の炎症を沈静化させるために抗炎症薬を使用すれば病勢の悪化を緩徐にすることができるかもしれない。

MPTPを投与したマーマセットの黒質緻密層における遺伝子発現を、マイクロアレイを使用して時間経過による発現量の推移を観察した。ニューロンの機能異常により細胞膜の抗原変化が起こり、それによりミクログリアが炎症促進型に変化する。同時に、ニューロン保護に働く分子も活性化したと考えられた。

略 語

APOE: Apolipoprotein E, ASC: Apoptosis-associated speck like protein containing a caspase recruitment domain (PYCARD), BAI1: Brain-specific angiogenesis inhibitor 1, BDNF: Brain-derived neurotrophic factor, CASP: Caspase, CIAP: Cellular inhibitor of apoptosis protein (BIRC), COX-2: cyclooxygenase 2, CSF1R: Colony-stimulating factor 1 receptor, CTSB: Cathepsin B, CX3CL1: Chemokine (C-X3-C motif) ligand 1, CX3CR1: Chemokine CX3C receptor 1, DAMP: Damage-associated molecular pattern, EMR1: EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 1, ERK: Extracellular signal-regulated kinase, FADD: Fas-associated protein with death domain, DD: Death domain, G-CSF: Granulocyte colony stimulating factor, GDNF: Glial cell line-derived neurotrophic factor, GFAP: Glial fibrillary acidic protein, HSP: Heat shock protein, IBA1: Ionized calcium-binding adapter molecule 1 (allograft inflammatory factor 1), ICAM: Intercellular adhesion molecule, IKK: IκB kinase (IKBK, inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase beta), IL: Interleukin, iNOS: Inducible nitric oxide synthase, IRAK: Serine-threonine kinase interleukin-1 receptor-associated kinase, IRF: IFN regulatory factor, ITGAX: IntegrinαX (antigen CD11C (p150), JNK: Jun N-terminal kinases, LAMP: Lysosome-associated membrane protein, LPL: Lipoprotein lipase, LYZ: lysozyme, Mac-1: Macrophage 1 antigen, M-CSF: Macrophage colony stimulating factor (CSF1), MAPK: p38 mitogen-activated protein kinase, MFG-E8: Milk fat globulin protein E8, MHC: Major histocompatibility complex, MERTK: MER proto-oncogene, tyrosine kinase, MKK: Mitogen-activated protein kinase kinase (MAP2K3), MMP-3: Matrix metalloproteinase 3, MPTP: 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MRC: Macrophage mannose receptor, mTORC1: mechanistic/mammalian target of rapamycin complex 1, MyD88: Myeloid differentiation factor 88, NF-κB: Nuclear factor κB, NLR: Nod-like receptor, Nurr1: Nuclear receptor-related 1 (nuclear receptor

subfamily 4, group A, member 2), P2ry12: Purinergic receptor P2Y12, PAMP: Pathogen-associated molecular pattern, PD: Parkinson's disease, PRR: Pattern recognition receptor,

RANTES: Regulated on activation normal T-expressed and secreted, PPAR: Peroxisome proliferator-activated receptor, PRR: Pattern recognition receptor, Sall1: Sal-like 1, S1P: sphingosine 1-phosphate, SHIP: SH2-containing inositol-5'-phosphatase, SR: Scavenger receptor, TBK1: TANK-binding kinase 1, TGF- β : Transforming growth factor β , TLR: Toll-like receptor, TAK1: Transforming growth factor β -activated kinase 1, TH: Tyrosine hydroxylase, TNFAIP3: Tumor necrosis factor α -induced protein 3, TOLLIP: Toll interacting protein, TRADD: TNFR-associated death domain, TRAF: TNF receptor-associated factor, TRIF: TIR (Toll/interleukin-1 receptor) domain-containing adaptor protein inducing interferon β , TSPO: Translocator protein 18kDa

はじめに

MPTP を投与したマウスモデルのマイクロアレイ実験の結果を発表した (Iwata et al 2007) が、データが膨大であったので詳細な分析を行わないで放置していた。今回、神経炎症の観点からまとめてみようと考え本論文を執筆した。1. から 7. までは、最近のパーキンソン病と炎症に関する総論から関係する分子を抜粋して、本マイクロアレイ実験 (以下、本実験) の結果と比べてみた。その結果は表 1 にまとめた。8. 以降は本実験からいくつかの分子の発現状態をチェックした。

1. 神経組織における炎症について

炎症とは、ケルズスの四徴候 (発赤, 浮腫, 疼痛, 発熱) で定義される侵襲刺激に対する生体の反応である。脳の場合はそれらの症候は観察されず、ミクログリアの活性化や末梢の免疫関連細胞の脳内浸潤をもって炎症があるとみなす (尾内 2009, 堀内と山中 2023)。ミクログリアが活性化するのは、壊死組織や異常細胞を除去するためであると考えられている。さらに、ミクログリアは反応性ではなく自律的に活性化し、ニューロンを障害する場合もある。逆に、ミクログリアはニューロン保護に働く場合もある。

ニューロン死の成因に、炎症は関係していないと考えられていた神経変性疾患でも、変性ニューロンの周囲に存在しているグリア細胞はただ単に、死んだニューロンを除去するだけではなく、ニューロンを変性させたり、逆にニューロンを保護したりすることが発見されている。神経変性疾患は多数あるが、炎症の特徴は疾患によって大きく異なっている (Weiss et al 2022)。

神経変性疾患の原因は不明である。炎症は生体への侵襲に対する反応であるので、原因ではない。しかし、自己免疫疾患では炎症は原因ではないが、炎症を抑制することで治療となる。ウイルス性肝炎では肝細胞にウイルスが感染しても肝炎は発症しない、ウイルス感染細胞を除去しようと免疫系が働くことにより炎症が惹起される。この場合、炎症を抑えれば根治にはなら

ないが、治療になる可能性がある。いったん炎症が起こると炎症のカスケードが活性化し続け、過剰に炎症が起こり、生体を傷害してしまう。この場合、炎症の悪循環を断てば治療となる。

ニューロンの代謝が変化すれば、細胞膜の抗原が変化すると考えられる。本来の抗原と異なるものを発現すると、自然免疫がそれを認識する。それが、炎症の開始となる。神経疾患では、程度の差はあるが、ミクログリアが活性化している。ミクログリアが最初に活性化してニューロンを破壊するというよりは、ニューロンに異常が生じて、ミクログリアが活性化して、ニューロンが破壊される。炎症がニューロン死を促進する場合は、その疾患の悪化は炎症が関係している可能性がある。

2. PD における炎症

NSAIDs を長期に服用していると PD になるリスクが減少するという後ろ向き研究がある (Chen et al 2003, 2005)。インフルエンザや自己免疫疾患の罹患はパーキンソン病のリスクを高めるという報告もある。ヘリコバクター・ピロリ感染、EB ウイルス感染、トキソプラズマ感染も PD のリスクとなる。その機序の一つとして、 α -シヌクレインとの共通抗原の存在が考えられている。日本脳炎は臨床症状としてパーキンソニズムを呈する。1918 年のスペイン風邪のときも多くのパーキンソニズム患者が発生した。感染等による共通抗原が産生されやすい HLA のタイプがあると考えると理解しやすい (Yu et al 2021)。

血液や脳脊髄液での炎症促進性サイトカインの増加、黒質緻密部での活性化ミクログリアの存在 (Kim et al 2000)、T 細胞の黒質緻密部への浸潤、T 細胞と B 細胞の活性変化が PD において報告されている (Nagatsu et al 2000, McGeer et al 1988)。細胞の障害の程度とミクログリアの活性化の程度は相関していないことから、ミクログリアの活性化は疾患発症早期に起こっていると考えられる。そして、その活性化は持続的である。つまり、発症してからでもミクログリアの活性化を抑制すれば PD の進行を緩徐にすることが

できるかもしれない。

PD の黒質で α -シヌクレインが存在している部位では M1 ミクログリアが増加している (Boka et al 1994, Imamura et al 2003)。 α -シヌクレインは、ミクログリアを M1 に変化させる。M1 ミクログリアは傷害性ミクログリアとも言われる。PD の中脳では、ミクログリアの数が増加し、amoeboid 型となっていた (Smajic et al 2022)。Amoeboid 型ミクログリアは ramified マイクログリアが変化して運動性を持つようになったもので、それは形態学的な名称で、機能的には活性化したミクログリアである。

ドパミンニューロンは TNFR1 陽性である。さらに、PD の黒質の TNFR1 は増加している。PD の黒質ドパミンニューロンは CASP3、CASP8 の陽性率が高い (Hartman et al 2002)。TNFR1 は TNF- α と結合すると、TRADD、FADD とともに三量体を形成し、CASP8 を活性化する。CASP8 は CASP3 を活性化し、アポトーシスを誘導する。つまり、PD におけるドパミンニューロン死はアポトーシスがその機序である可能性がある。以前はアポトーシスでは炎症を惹起しないと言われていたが、アポトーシスと炎症とでは共通の分子が関与しているので、現在では両者は近縁の現象であると考えられている。本実験では TNF- α は持続的に増加した、TNFR1 は大きな変化はなかった、TRADD と FADD は一過性に増加し、CASP8 は持続的に増加し、CASP3 は持続的に減少していた。

PD の死後脳で、MHC-II、TNF- α 、IL-1 (Kouli et al 2020)、IL-6 陽性ミクログリアが観察されることや、iNOS や COX2 の発現も亢進していることから、PD では炎症が起こっている解釈されている (Hunot et al 1996, Knott et al 2000, 錫村 2017)。iNOS の量を [18F]NOS を使用して PET で定量したパイロットスタディで、ヤール 2 度の PD では、全脳で NOS が増加していた (Doot et al 2022)。また、IL-1、IL-6、iNOS のポリモルフィズムと PD のリスクの関連が報告されている。本実験では、MHC-II、TNF- α は増加。IL-1、IL-6、iNOS、COX2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2) は無変化であった。

NADPH oxidase は酸素から活性酸素を生成する酵素で、ミクログリアに炎症促進シグナルを産生させる。NADPH oxidase は PD 脳で活性化しており、ノックアウトマウスでは、MPTP のドパミン毒性は大幅に減じる。本実験では NADPH アイソザイムは 1, 3, 4, 5 が発現していたが、無変化であった。

PD では、黒質でのグルココルチコイド受容体が減少している。グルココルチコイド受容体が減少しているとミクログリアの活性が増強する。グルココルチコイドは炎症促進サイトカインである NF- κ B の発現を

抑制する。本実験では一過性に初期に減少した。

エストロゲンはドパミン神経に保護的に作用するが、抗炎症的に作用する可能性がある。

Nurr1 は中脳ドパミンニューロンの分化と維持に必要な分子であるが、炎症促進性サイトカインの発現を抑制する。本実験では無変化であった。

G-CSF (CSF3) は、in vivo で、MPTP によるドパミンニューロン死を抑制する。本実験では無変化であった。

PD の線条体や黒質で IL-6、MHC-II、ICAM-1、TNF- α が増加していた (Mogi et al 1994, Sawada et al 2006)。ICAM-1 はミクログリアでも発現している細胞間接着因子であるが、IL-1 と TNF によって誘導され、炎症に関与している。本実験では ICAM は 1 から 5 まで発現していたが、すべて無変化であった。MHC-II は正常の脳では発現が見られないので、MHC-II の発現はミクログリアの活性化を示している。活性化ミクログリアは、軽症 PD では線条体に存在するが、進行期の PD では黒質に存在する (Sawada et al 2006)。私は予てより、PD におけるドパミンニューロンの変性のメカニズムとして、神経終末が最初に傷害を受けて、細胞体は神経終末の減少により二次的に変性していると考えているので、上記のことはこの仮説を支持する。

3. ミクログリア

ミクログリアは、中胚葉由来の細胞で、胎生初期に中枢神経に侵入して定住する。脳神経細胞の 10% ~ 15% を占める (Dos Santos et al 2020)。ミクログリアは神経系の発達に必要で、過剰な神経突起を刈り込んだり、余分なニューロンを貪食したりする。神経系のデブリの貪食をして、ホメオスタシスを保つ働きをしたり、感染微生物を攻撃したり、末梢組織におけるマクロファージと同じような働きをする。ミクログリアは脳の不要物を処理し (Gehrmann et al 1995)、抗原提示細胞として働いている。

3.1. ミクログリアの細胞表面抗原

ミクログリアは Mac-1、MHC-II、CD68、F4/80、Fc 受容体、LDL 受容体といった細胞表面抗原を発現している (佐藤 2015)。特に大切なのは CSF1R (CD115) で、ミクログリアの維持に必須であり、CSF1R のシグナルを阻害すると、ミクログリアが脳内から消失する。本実験では初期に軽度上昇した。しかし、そのリガンドである G-CSF (CSF1) の発現は無変化であった。

Mac-1 は、補体受容体で CD11b と CD18 からなるインテグリンファミリーである。Mac-1 は貪食と関係している。Mac-1 は、ミクログリア以外に B 細胞、T

細胞, NK 細胞, 好中球にも発現している。本実験では CD11b, CD18 はともに無変化であった。

MHC にはクラス I とクラス II が存在する。クラス I はすべての細胞に存在するが, クラス II はミクログリア, B 細胞, 樹状細胞, マクロファージにのみ存在している。クラス I は細胞内の内因性抗原を提示するが, クラス II はエンドサイトーシスで細胞内に取り込まれて処理された外来性抗原を結合して提示する。クラス II 分子の抗原と反応するのはヘルパー T 細胞である。クラス II には, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR の 3 種類がある。本実験では HLA-DP は HLA-DP α 1 と HLA-DP β 1 が発現していたが, 無変化だった。HLA-DQ は HLA-DQ α 1, HLA-DQ α 2, HLA-DQ β 1, HLA-DQ β 2 が発現していた。HLA-DQ α 1, HLA-DQ β 1 は初期に増加, HLA-DQ α 2 は無変化だった。HLA-DR は, HLA-DR α , HLA-DR β 1, HLA-DR β 3, HLA-DR β 4, HLA-DR β 5 とすべての HLA-DR が発現していた。HLA-DR β 3 は初期に増加, HLA-DR β 5 は持続的に増加, その他の HLA-DR は無変化であった。以上より, ミクログリアは何かを貪食して抗原提示していた可能性がある。

CD68 はミクログリアが活性化すると発現する (Dijkstra et al 1985)。本研究では無変化であった。

EMR1 は, 接着因子 GPCR ファミリーに属している。静止型ミクログリアのマーカーでもある。本実験は, 無変化であった。詳細なマーカーについての記述は Jurga 等の総説に詳しい (Jurga et al 2020)。

3.2. ミクログリアの活性化

ミクログリアを活性化する物質として, フィブリノーゲン, サブスタンス P, MMP-3, ニューロメラニン, CD40, アミロイド β タンパク, α -シヌクレイン, ガングリオシド, トロンビンなどが知られている (Tang and Le 2014, 尾内 2009)。活性化されたミクログリアは T 細胞の増殖を促したり, T 細胞での IL-2 や IFN- γ の産生を助長したりする。MMP-3 は, ミクログリアからの炎症性サイトカイン産生に関与している。本実験では無変化であった。

sTREM はミクログリア活性化マーカーである。TREM2 はミクログリアを保護的にするシグナルを伝達する受容体であり (錫村 2017), 生理的な脳内環境で日々行われている炎症を惹起しない死細胞の除去に働いている (高橋 2014)。ニューロンのかげら, ホスファチジルエタノールアミン, ホスファチジルセリン, DNA, HSP60 などが TREM2 に結合する。本実験では, HSP60 は持続的に著減し, TREM2 は初期のみ軽度増加し, 漸減した。

ミクログリアの傷害作用を抑制させる物質として, ニューロン膜上の CD200 (Neumann 2001) や, ア

ストロサイト, ニューロン, オリゴデンドロサイト前駆細胞, 血管系細胞, そしてミクログリア自身が分泌する TGF- β がある (Vincent et al 1997)。CD200 はニューロンの細胞膜に存在しているイムノグロブリンスーパーファミリーに属する分子で, ミクログリアの CD200 受容体に作用して, ミクログリアを静止状態に保つ働きをしている。この働きをブロックするとニューロンとミクログリアのプライマリー共培養におけるドパミンニューロン死が増強する。本実験では CD200 は無変化であった。中枢神経の TGF- β をノックアウトすると Sall1 の発現減少を伴って, 炎症促進性サイトカインの増加が起きる。本実験では, TGF- β は TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 が発現していた。TGF- β 2 のみが, 変化 (減少) していた。Sall1 は初期に一過性に発現が減少した。さらに, TNF- α が減少, IL-1 は無変化であった。これらから, TGF- β の抑制 \rightarrow Sall1 抑制, TNF- α 増加のカスケードが活性化されていたと考えられる。

最近の研究でミクログリアが状態変化すると, ミクログリアの恒常性維持に関する遺伝子群 (P2RY12, CX3CR1, TMEM119 など) の発現低下, 貪食作用 (AXL, ITGAX) とリソソーム機能 (LYZ2, CTSB, CTSD), 脂質代謝 (APOE, LPL) に関連する遺伝子群が発現増加している (松平 2022)。本研究では, P2ry12, CX3CR1, ITGAX, CTSB, CTSD, LPL は無変化, TMEM119 は未検出, AXL, APOE は初期に一過性に増加, LYZ は持続的に減少であった。

3.3. ミクログリアの形態変化

ミクログリアは普段は枝状に突起を伸ばし, その胞体は小さい (ramified ミクログリア)。その枝は絶えず動いていて, 周辺脳部位をサーベイしている (Aloisi 2001, Davis et al 1994)。それは, 一定の間隔を保って脳内に分布していて, 重なり合うことはない (Kettenmann et al 2011)。また, BDNF, GDNF などの神経栄養因子を分泌して, ニューロンに保護的に作用している。Ramified ミクログリアは, 貪食もしないし, 免疫物質も分泌しないので静止型ミクログリア (resting ミクログリア) とも呼ばれる。

脳が侵害刺激に晒されると, 最初に反応するのはミクログリアである (Baufeld et al 2018)。ミクログリアは反応して, 活性化ミクログリアへと変化する。ミクログリアは傷害されたニューロンから漏出するナトリウムイオン (Gehrmann 1995) や ATP を認識する (Kim et al 2006, Franke et al 2012)。貪食のターゲット細胞だけでなく, 周辺を根こそぎ貪食することもある。ミクログリアをそのように変化させるものを eat-me signal という。具体的には UDP などが相当する。UDP はミクログリアの P2Y6 受容体により認識され

る (Koizumi et al 2007)。その時、ミクログリアに IBA1 が増加し (Lan et al 2017)、活性化ミクログリアへと変化する。IBA1 は中枢神経系ではミクログリア特異的に発現しているため、ミクログリアマーカーとして利用されてる。IBA1 は脳傷害、脳虚血で上昇する。本実験では一過性に発現が増加した。前述のように活性化ミクログリアの形態は amoeboid 型であり、amoeboid 型になると移動できるようになる。発生において、amoeboid 型は脳の余分なシナプスや神経突起を刈り込んで、神経系の配線を形作る。

3.4. 傷害ミクログリアと保護ミクログリア

活性化ミクログリアは M1 と M2 という亜型に分類される。Ramified ミクログリアは M0 と分類される。

ミクログリアはミスフォールドしたタンパク質や環境毒で細胞傷害性の M1 型となる (Orihuela et al 2016)。M1 型ミクログリアは炎症促進性サイトカインである IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, TNF- α や、ケモカインである CCL5, CXCL10 を分泌する。一方で、IL-2 は神経保護作用があると言われている (錫村 2017)。本実験では、IL-1, IL-6, TNF- α , CCL5, CXCL10 が発現し、TNF- α (増加) 以外は無変化であった。

活性化ミクログリアは MHC-II と CD86 を細胞表面に発現し、iNOS を誘導する。CD86 は T 細胞を活性化する働きがあり、iNOS は活性化ミクログリア内で発現し一酸化窒素を産生する。両者とも本実験では無変化であった。

一方、M2 型のミクログリアは、神経保護に働く。さらに、M2 型のミクログリアは IL-4 や IL-13 で誘導される M2a, そして、TLR 刺激で誘導される M2b, IL-10 や TGF- β で誘導される M2c に分類される (錫村 2017)。本実験では IL-4 が発現増加、IL-10 は無変化、TGF- β は TGF- β 1, TGF- β 3 が無変化、TGF- β 2 は減少していた。

また、M2 型のミクログリアは、炎症抑制的に働き、IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , アルギナーゼ 1 を誘導し、神経を補修する (Wang et al 2015)。本実験ではアルギナーゼ 1 は無変化であった。TGF- β が、PD の線条体で増加していた (Mogi et al 1995) ことは、保護的なミクログリアも線条体で活性化していると解釈できる。IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β は代表的な炎症抑制性サイトカインである。IL-4 は、ミクログリアの IL-4 受容体に結合し、スーパーオキシドの産生を抑制したり、NO の放出を抑制したりする。また、IL-6, IL-8, TNF- α などの炎症促進性サイトカインの産生も抑制する。以上は、培養マイクログリアにおける研究で報告されたもので、実際の神経変性疾患での in vivo のミクログリアは disease associated

microglia (DAM) と分類されており、それは M1 と M2 の 2 つのマーカーを発現している (Deczkowska et al 2018)。

前述のように、ミクログリアには種類があり、神経傷害に働くサブグループと保護に働くものがある (Wendimu and Hooks)。ニューロンが傷害を受けるとケモカインの一種であるフラクタルカイン (CX3CL1) を放出し、ミクログリアのフラクタルカイン受容体 (CX3CR1) に作用する。ミクログリアは抗酸化酵素の産生を誘導しニューロンに対して保護的に作用する (Noda et al 2011)。CX3CR1 を欠損させると MPTP による黒質ドパミンニューロン死が増加したという。CX3CL1 も CX3CR1 も本実験では発現に大きな変化はなかった。

3.5. ミクログリアによるニューロンの貪食

PD において、生存に関わる遺伝子の発現低下、貪食に関与する遺伝子の発現が増加していた (Keren-Shaul et al 2017)。変性したニューロンは find-me signal と呼ばれる液性因子を放出して、ミクログリアに貪食してもらう。Find-me signal としては、ATP 等の細胞外ヌクレオチド、ケモカイン、S1P などが知られている (Ravichandran 2010, 小泉 2015)。S1P とは生体膜を構成するスフィンゴ脂質の代謝産物である。酵素により膜から切り出されて遊離した後に細胞膜上に発現している S1P 受容体に結合する。それにより炎症抑制、免疫抑制をおこす。フィンゴリモドは S1P 受容体アゴニストである。ミクログリアが find-me signal を放出している細胞を発見した後は、その細胞が eat-me signal を出していれば、それを貪食する。Eat-me signal として、補体 (Stevens et al 2007), MFG-E8 (Fuller et al 2008) などがあり、それを認識する受容体が、BAI1, MERTK, 補体受容体, Fc 受容体, SR, MRC である (Ravichandran 2010, Brown and Neher 2014, 小泉 2015)。SR はどのサブタイプがミクログリアに発現しているかは不明であるが、SR-A1, SR-A2, SR-B3 がマクロファージに発現している。本実験では BAI1 は初期に増加、MERTK は初期に減少、Fc 受容体は後期に増加、SR-A1, SR-A2, SR-B3 の発現は無変化であった。MRC には MRC1 と MRC2 のタイプがある。本実験では両者とも無変化であった。

時としてミクログリアは生存可能な細胞まで貪食してしまう。これをファゴトシスと呼び、ネクロシス、アポトシスに次ぐ、第三の細胞死と言われている (Koizumi et al 2007)。その時の eat-me signal は UDP である (Neher et al 2014)。一方、ミクログリア由来の最も強力な神経傷害因子は、グルタミン酸という説もある。ミクログリアが分泌するサイトカイン

等の神経傷害性はあまり強くなく、特殊な経路で産生されるグルタミン酸が神経傷害を起こすという（錫村 2017）。ミクログリアは細胞外のグルタミン酸を吸収して神経保護的に働いていると考えられている。本実験では MFG-E8 は初期に軽度増加していた。

3.6. ミクログリアと加齢

加齢に伴いニューロンのマイナーダメージが起こると持続的にミクログリアは活性化され、それが脳内に炎症を起こし、神経変性疾患が起きる（Mrak et al 2005）。さらに、dystrophic ミクログリアという形態のミクログリアが加齢に伴って増加し、それは精神神経疾患と関係しているという（Streit 2006）。

3.7. ミクログリアと PD

PD の死後脳で、黒質のドパミンニューロン周囲に活性化ミクログリアが観察されたという報告が、PD とミクログリアの関係を指摘した最初の報告である（McGeer et al 1988）。

LRRK2 遺伝子ポリモルフィズムとクローン病に関係があるので、LRRK2 は炎症と関連がある。LRRK2 遺伝子変異（R1441G）はミクログリアを活性化する（Gillardon et al 2012）。LRRK2 遺伝子は常染色体顕性遺伝 PD の原因遺伝子であり、腸管の炎症が起きやすいと PD の危険因子となる可能性がある。

PET による PD におけるミクログリアの研究がある。PD 脳内ではミクログリアが活性化していることが報告されている（Ouchi et al 2005, Gerhard et al 2006, Hirsch and Hunot 2009）。活性化したミクログリアのミトコンドリアに、末梢ベンゾジアゼピン結合部位が発現している。その PET リガンドは、感度は低いが、広く用いられている [11C] (R) -PK11195 である。PD では運動障害と同側の被殻の [11C] (R) -PK11195 結合部位が増加していた（＝ミクログリアの活性が増加していた）。ミクログリアの活性化の大きさは、ドパミン神経終末が残存している PD で大きく、臨床症状の重症度とは相関していなかった（Liu et al 2022）。PD では基底核、橋、側頭葉、前頭葉で [11C] (R) -PK11195 結合が増加していた（Gerhard et al 2006）。未治療の初期 PD で中脳の [11C] (R) -PK11195 結合が増加し、[11C] (R) -PK11195 結合の増加とドパミン神経終末量とは逆相関していた（Ouchi et al 2005, 2007）。しかし、第 2 世代の PET トレーサーである [18F]PBR28, [11C]DPA713（Terada et al 2016）、[18F]FEPPA（Koshimori et al 2015）を使用した研究では、コントロールと差がなかったり、全脳で結合が増加したりしていた。

ミクログリアの PET 用リガンドとして、新たに [11C]CPPC が開発された（Hort et al 2019）。これは、M-CSF に特異的に結合する。M-CSF はミクログリア

の生存因子である。本実験では無変化であった。

PD でミクログリア由来の補体が活性化している（Loeffler et al 2006）。PD では、補体が結合した黒質のメラニン含有細胞が増加している（Yamada et al 1992）。補体活性化経路の最初の段階に必要な C1q は、脳内ではミクログリアにのみ存在するが、死んだ黒質ドパミンニューロンをミクログリアが貪食して処理している（Depboylu et al 2011）。本実験では C1q の発現は無変化であった。

活性化ミクログリアから放出された炎症惹起物質は、血液脳関門を形成する血管内皮細胞やアストロサイトに作用して、末梢の免疫細胞が脳内に入るよう作用している（Whitton 2007）。血液中の物質が脳内に入らないようにしている P 糖タンパクの機能を [11C] verapamil を使用した PET を用いた研究で、PD ではコントロールに比べて 11% 中脳の内に入りやすくなっていた（Kortekaas et al 2005）。これは、PD で血液脳関門が異常であることを示した、初めての論文である。

PD において、ミクログリアの反応増加は長期に渡って持続しているし、MPTP によるヒト PD でもミクログリアの活性化は年余に渡っている（Nagamoto-Combs and Combs 2014）。

結論として、PD の黒質で活性化ミクログリアは、変性したドパミン神経を貪食、除去し生体にとって有益な働きをしているのか、それとも、正常なドパミンニューロンを傷害しているのか判然としない（Weiss et al 2022）。

4. アストロサイト

炎症促進性ミクログリアはアストロサイトを刺激して炎症を増強させる。アストロサイトも炎症に反応して、活性化アストログリアとなる。活性化アストロサイトのマーカーとして、GFAP、ビメンチン、S100b がある。本実験では GFAP、ビメンチンは一貫して減少し、S100B は初期に減少していた。PD の死後脳で、これら 3 つのタンパクは黒質で増加し、GFAP の量とドパミンニューロン減少度は相関していたという報告と、アストロサイトは無変化であったという報告がある（Weiss et al 2022）。MPTP は、まず、アストロサイトに取り込まれて、毒性のある MPP⁺ に変換される。MPP⁺ により、アストロサイトが障害を受け、GFAP、ビメンチン、S100b の遺伝子発現が抑制されたと考えられる。MPTP の毒性を述べる時、ドパミンニューロンのことばかり関心が向いたが、アストロサイトも長期にわたって障害を受けていることを心に止めておくべきである。

α -シヌクレインを過剰発現したマウスにおいて、ニューロンで過剰発現した α -シヌクレインは初期に

はアストロサイトに吸収され処理される、しばらくするとアストロサイトは処理しきれなくなり、アストロサイトの突起が変性し始める。末期になってニューロン内に α -シヌクレインが沈着しですが、そのときにはアストロサイトは反応できなくなっている (Stevens and Halliday 2014)。

5. 細胞内小器官

5.1. インフラマソーム

インフラマソームはNLR、タンパク質切断酵素の前駆体、その2つをつなぐアダプターから構成されている。インフラマソームが活性化されると、CASP1が活性化される。CASP1は炎症促進性サイトカインであるIL-1やIL-18を活性化する (Schroder et al 2010)。つまり、アポトーシスを開始する分子は同時に炎症も惹起する。

酸化ストレスなどがNLRを刺激する (Schroder et al 2010, Codolo et al 2013, Zhou et al 2016)。それらの内因性物質は危険シグナルと呼ばれ、ダメージ関連分子パターン (DAMP) 受容体で認識される。ミクログリアはDAMPを持つ分子により活性化される (Fiebich 2018)。PDの場合、 α -シヌクレイン (Kouli et al 2019) や障害されたニューロンに存在するHSP60 (Asea 2008), HSP70 (Mansilla et al 2014) がDAMP受容体で認識される。HSPは複数の分子種があるが、本実験ではHSP60 (HSPD1), HSP70, HSP70-2, HSP70-5, HSP70-6, HSP70-8, HSP70-12b等が発現していた。その中で、HSP60, HSPA1A (HSP70), HSPA8 (HSP70-8) Hsc70は持続的に減少していた。HSPは神経保護に働き、特にHSP60は α -シヌクレインの凝集抑制作用があり、その持続的な発現現象はドパミン神経変性に促進的に作用していると考えられた。

インフラマソームはミクログリアにも存在している (Walsh et al 2014)。ミクログリアのインフラマソームのNLRはNLRP3である (Gordon et al 2018)。NLRP3は α -シヌクレインで活性化される (Gordon et al 2018, Trudler et al 2021)。活性化ミクログリアは、TNF- α やIL-1などのサイトカインを介して α -シヌクレインを線維化する (Hoffmann et al 2016)。活性化したNLRP3は、強いIL-1とASCの放出を起こす。活性化したCASP1とインフラマソームのアダプタータンパクであるASCが、PDの黒質で増加していた (Gordon et al 2018)。そして、NLRP3阻害薬は、線維状 α -シヌクレインによる活性化を抑制し、PD動物モデルのドパミンニューロンの死と α -シヌクレイン蓄積を抑制した (Gordon et al 2018)。ドパミンがD1受容体を介して、NLRP3のユビキチン化を促進

し、しいてはインフラマソームを抑制する (Yan et al 2018)。PDにおいて発症初期はドパミンニューロンの変性は急速である理由として、ドパミンが減少するとインフラマソームを介したドパミンニューロンの変性が促進することが考えられる (Weiss et al 2022)。

5.2. エンドソーム, リソソーム

エンドソームとはエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれた物質を制御するトランスゴルジネットワーク由来の細胞内小器官である。取り込まれた物質はリソソームに成熟したエンドソームにて、分解または再利用される。そのため、エンドソームとリソソームを分けることなく、エンドリソソームと扱っている場合もある (小林と反町 2022)。神経系においては、神経成長因子のシグナル伝達、神経細胞の移動・形態形成、シナプス小胞の形成・シナプス可塑性に関与している。リソソームの障害は神経疾患の危険因子となる。

5.3. エクソソーム

エクソソームはエンドソームが細胞膜と融合して、小胞として放出されたものである。PDにおいて、エクソソームは毒性をもつ α -シヌクレインオリゴマーをニューロンや細胞外に運び、ニューロン内の α -シヌクレインを重合させる (Li et al 2022)。線維状 α -シヌクレインが、ミクログリアに貪食され、エクソソームを介して別の細胞に拡散する (Guo et al 2020)。これはPDの病因の可能性とも考えられている (Tofaris 2017, Ouerdane et al 2022)。遺伝性PDの一種であるKufor-Rakeb症候群の責任遺伝子はATP13A2で、この機能障害により腔内膜小胞の産生が障害されてエクソソームが減少する (常深と服部 2022)。動物実験で、線維状 α -シヌクレインを線条体に投与すると、ミクログリアがそれを貪食し、エクソソームを介してニューロンに感染させ、黒質のドパミンニューロンを変性させた (Guo et al 2020)。

6. α -シヌクレイン

α -シヌクレインは、アルツハイマー病のアミロイド以外の成分として発見された (Ueda et al 1993)。ニューロンのタンパク質の1%も占めている (Iwai et al 1995)。グリアにも存在している (Mori et al 2002)。細胞内局在は、微量ではあるが核周囲 (Yu et al 2007)、大部分はミトコンドリア内 (Zhang et al 2008) と神経終末 (Maroteaux et al 1988) である。黒質ではミトコンドリア内に多量に存在するが、大脳皮質ではミトコンドリア内は少ない。神経終末ではSNAREタンパク質の会合に関与している (Huang et al 2019)。

PARK1でA53Tポイントミューテーションがあ

る α -シヌクレインは凝集能が高く (Li et al 2001), NF- κ B / AP-1 / Nrf2 経路を活性化して, 炎症促進性サイトカインと活性酸素を産生する。Lewy 小体やオリゴデンドロサイトのグリア細胞内封入体の主成分は高度にリン酸化し異常凝集した α -シヌクレインである。その α -シヌクレインはセリン 129 がリン酸化されている。セリン 129 をリン酸化する酵素はカゼインキナーゼ II, G タンパク共役型キナーゼ (Arawaka et al 2006), ポロ様キナーゼなどが知られている。正常脳では, α -シヌクレインはリン酸化されていない。

α -シヌクレインは, ミクログリアを活性化する (Zhang et al 2017)。活性化ミクログリアはレビー小体の周囲に存在する (Croisier et al 2005)。 α -シヌクレインは, ミクログリア細胞膜上の Fc 受容体を介して, ミクログリアを活性化する (Cao et al 2012)。活性酸素種を産生するリン酸化酵素 (Zhang et al 2007) や炎症を調整するガレクチン 3 (Hoffmann et al 2016) も活性化する。TLR4 は α -シヌクレインを認識して, 食食を惹起する (Stefanova et al 2011)。

α -シヌクレインに反応するメモリー T 細胞が PD の末梢血に存在する (Sulzer et al 2017)。

α -シヌクレインが少量の場合は, それに対して免疫系が働けば, 除去に働き, 生体には有益に働く。ミクログリアは α -シヌクレインを貪食して, オートファゴゾームで, 分解する (Choi et al 2020)。それは LAAK2 により調整される (Ma et al 2016)。

生理的な α -シヌクレインは可溶性であるが, 病的状態となるとオリゴマーを経て, β -pleated sheets からなるアミロイド様凝集体を形成する。異常凝集体はニューロン死を惹起する (Goedert et al 2017)。 α -シヌクレインは様々な機能が推測されているがノックアウトマウスでは目立った表現型を示さない (Abeliovich et al 2000A) ので必須のものではない。しかし, ノックアウトマウスでは線条体におけるドパミン放出量が増加する (Gretchen-Harrison et al 2010)。逆に, ミクログリアが活性化すると α -シヌクレインのミスフォールドが起きたり, 別のニューロンへの伝播が起きたりする (Gao et al 2011)。本実験では α -シヌクレインの発現は変化していなかった。CD36 はミクログリアに発現しているが, オリゴマー, または, 線維状 α -シヌクレインの取り込みに関係している (Kim et al 2021)。本実験では CD36 の発現は後期に軽度増加した。

7. 分 子

7.1. 炎症促進分子

PD における炎症性サイトカインで重要なのは, TNF- α と IL-1 であるので (Nagamoto and Combs

2014)。この 2 つについてまず言及する。

7.1.1. IL-1

IL-1 は α と β が存在する。両者は同じ前駆体から生じるが, IL-1 α はカルパインにより切断され, IL- β は CASP1 により産生される。M1 型ミクログリアは炎症促進性サイトカインである IL-1 を分泌する。PD の死後脳で, IL-1 陽性ミクログリアが見られる。IL-1 のポリモルフィズムと PD のリスクの関連がある。

7.1.2. TNF- α

TNF- α は, 脳ではミクログリアから分泌される。その受容体は脳全てに分布している。TNF- α の受容体は TNFR1 と TNFR2 であり, 前者は遍在するが, 後者は免疫細胞に局在する。TNF- α が両受容体と結合して三量体を形成することによりシグナルが伝達される。TNFR1 はニューロンにもグリアにも存在する。TNFR1 (遺伝子は tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1A) の細胞内ドメインには DD があり, アダプタータンパクである TRADD と結合する。その後, IKK や NF- κ B を活性化する。TNFR2 (遺伝子は tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B) は DD を欠いているが, アダプタータンパク TRAF2 と結合し, NF- κ B を活性化する。本実験では TNFR1 は無変化, IKK (IKK β) は, 軽度増加していた。

PD の血漿中の TNF- α の増加が報告されてる。特に, うつ状態などを示す PD に増加が認められる。PD の死後脳で, TNF- α 陽性ミクログリアが見られる。

7.1.3. MHC-II

MHC-II は, ミクログリアが活性化すると細胞表面に発現が増加し, 抗原提示を行う。MHC-DRA の最初のイントロンの SNPrs3129882 がホモの場合は, PD のリスクが 1.7 倍になるという (Hamza et al 2010, Guo et al 2011)。MHC-II は T 細胞を活性化し, 細胞障害性サイトカインを産生させる。T 細胞は炎症があるときに脳内に浸潤する。自己免疫疾患とくに炎症性腸疾患と PD との関連が想定されている。消化管神経叢に α -シヌクレインが認められるので, PD は消化管から始まると考えられている。PGE2, IL-10, TGF- β は MHC-II 活性を抑制する (尾内 2009)。本実験では TGF- β 2 が減少し, MHC-II は増加していたので, 炎症と抗原認識が起こっていたと考えられる。

MHC-I は CD8 陽性 T 細胞を活性化し, その T 細胞はグランザイムやパーフォリンを分泌して, 直接ニューロンを破壊することができる。その場合, ニューロン抗原は MHC-I 上に抗原提示されなければならない。

7.2. 炎症抑制分子

7.2.1. PPAR

PPAR はステロイドホルモン受容体スーパーファ

ミリーの一員で、脳の炎症を抑制している。PPAR は NO, TNF- α , COX-2, ミクログリアの炎症誘発性ケモカインの合成を抑制している。PPAR- α は脂肪酸の生理的なリガンドである。PPAR- γ は、IL-4 の発現を介して炎症を抑制している。PPAR- γ 3 はミクログリアに発現している。

7.3. 炎症促進と抑制、両方の作用をする分子

7.3.1. TLR

TLR が PD に何らかの影響を与えているという (Heidari et al 2022)。TLR は自然免疫に関与するパターン認識受容体 (PRR) の代表である。PRR は病原体がもつ特有の構成成分 (PAMP) を認識する受容体と、DAMP を認識する受容体に分類される。その他の PRR として、RLRs (RIG-I, MDA5, LGP2), NLRs (NOD1, NOD2, NALP3) がある。TLR はミクログリアに豊富に存在する (Fiebich et al 2018)。 α -シヌクレインは多くの PRR と結合できる。例えば、TLR, SR, Mac-1 受容体などである。

ヒトは 10 種類の TLR を持っているが、特に TLR2, TLR4, TLR9 の役割が重要である (Heidari et al 2022)。TLR2 は、PD の死後脳線条体で発現が増加していた (Drouin-Ouellet et al 2014)。また、同じく死後脳で、前部帯状回と線条体で TLR2 の発現が増加しており、それは α -シヌクレインの量と相関していた (Dzamko et al 2017)。PD において、TLR2 を発現したミクログリアが神経変性をしている箇所が存在していた (Doorn et al 2014)。本実験では無変化であった。

TLR4 の発現は、PD 死後脳で、増加しており、特に黒質と被殻で著しかった (Shin et al 2015, Hughes et al 2019, Kouli et al 2019)。さらに、PD の末梢組織でも、TLR4 の発現は増加していた (Shin et al 2015, Dzamko et al 2017)。TLR は、外来の異物以外に、ヒトの内因性分子でも活性化される。TLR4 は HSP, 飽和脂肪酸, 種々の炎症誘導因子 (血清アミロイド A3 など), 酸化コレステロールなどにより活性化される (改正 2021)。

TLR9 は CpG-DNA を認識する。ヒトの CpG-DNA 配列のシトシン残基はメチル化されており、また、CpG-DNA 配列の割合も少ないので、TLR9 はヒトの DNA は認識しない。しかし、ヒトの一本鎖核酸、例えば、mRNA は認識する (改正 2021)。TLR9 が核酸を認識するようになる機序として、エンドソームを介したものがあ (改正 2021)。何らかの原因で免疫寛容が破綻し、抗核酸抗体が産生されると核酸は分解されないで (核酸の安定化) エンドソームに到達する。すると、自己核酸はエンドソームの TLR を刺激して炎症反応を増強する。核酸の安定化は自己抗体だ

けでなく、異常に増加した内因性物質によっても生じる (改正 2021)。PD の線条体で TLR9 が増加している (Ros-Bernal et al 2011)。TLR9 のリガンドでミクログリアを刺激すると、傷害因子は産生せず、保護因子のみ産生するので、TLR9 は神経保護に働いている (Doi et al 2009)。TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 はエンドソーム膜に存在し、残りの TLR は細胞膜に存在している (Aluri et al 2021)。本実験では TLR1, TLR2, TLR3, TLR6, TLR9 は無変化であった。

7.3.1.1. TLR のシグナル伝達経路

TLR は神経細胞 (ニューロン, アストロサイト, オリゴデンドロサイト) にも存在している (Aluri et al 2021)。

TLR は、MyD88, TRIF をアダプターとし、IRAK などのリン酸化カスケードを介して、転写因子 NF- κ B を活性化し、IL-6 や TNF- α といった炎症促進性サイトカインの発現を誘導する (改正 2021, 小林と反町 2022)。しかし、TLR3 (エンドソームに存在する) は、MyD88 とは結合せず、TRIF とのみ結合する。本実験では MyD88, TRIF は無変化であった。IRAK1, IRAK2, IRAK4 は myddosome と言われる TLR シグナルを伝達する複合体を形成する。Myddosome は、TRAF6 を活性化する。TRAF6 は、TAK1 と IKK β を活性化する。TAK1 は MKK3/6, MKK4/7, IKK β の 3 つを活性化する。MKK3/6 は MAPK を、MKK4/7 は JNK を、IKK β は p65NF- κ B を、それぞれ活性化する。それぞれは転写因子を活性化して、炎症促進性サイトカインである IL-1, IL-6, TNF- α を産生する。本実験では IKK β 増加し、MKK3/6, MKK4/7 は無変化であった。MAPK は、MAPK2 以外は MAPK1 から MAPK14 まで発現していた。MAPK6 は高発現しており、かつ持続低下していた。IRAK1, IRAK2, IRAK4 は無変化であった。TRAF は、TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF4, TRAF5, TRAF6 が存在したが、すべて無変化であった。

TLR3 や TLR4 は、TRIF と結合し、次に TRAF3 と結合する。活性化した TRAF3 は TBK1 を活性化する。TBK1 は IRF3 を活性化して、インターフェロンを産生する。本実験では TBK1 は無変化であった。

TRIF は MyD88 を必要としない経路でも TRAF6 を活性化し、サイトカインを合成する。

TLR4 は、MyD88 を利用する経路で TRAF6 を活性化し CIAP1 を変化させる。変化した CIAP1 は TRAF3 のプロテアソームでの分解を促進する。本実験では CIAP1 は無変化であった。

エンドソームに存在する TLR である TLR7, TLR8, TLR9 は、MyD88 経由でサイトカイン産生を起こす。同時に、IRF3 を介してインターフェロン産生を起こ

す。本実験では IRF3 は無変化であった。

TLR シグナル抑制系として、FADD, TOLLIP, IRAK- M は myddosome を抑制する。IRAK-M は IRAK1 を抑制する。TOLLIP は IRK1 を抑制する。本実験では TOLLIP は無変化であった。

SHIP1 と SHIP2 は IRK1 と TBK1 を脱リン酸化して、それらの活性化を抑制する。TNFAIP3 は TRAF6 と IKK の活性化を抑制する。本実験では TNFAIP3 は無変化であった。

7.3.2. PD における TLR の役割

PD の黒質で、活性化ミクログリアとリンパ球の浸潤が初めて観察された (McGeer et al 1988)。炎症促進性サイトカインが PD の末梢血, 脳脊髄液, 脳内で増加していた (Nagatsu 2000)。炎症促進性サイトカインである IL-2, IL-6, TNF- α の血中での増加が PD で報告されている (Collins et al 2012)。また, PD では末梢血における調節 T 細胞 (Treg) と効果 T 細胞との比が変化しており, PD では炎症促進性サイトカインが増加している可能性の傍証となっている。Treg は CD4 陽性 T 細胞の一種であり, 炎症抑制性サイトカインである IL-10 を産生することで免疫応答を負に制御する。それにより自己免疫やアレルギー,

過剰な炎症反応などの有害な免疫反応を抑制し, 免疫寛容や免疫恒常性の維持に重要な細胞である。胸腺細胞の分化過程や末梢のナイーブ T 細胞 (抗原と一度も出会ったことのない T 細胞) に Treg のマスター転写因子 Foxp3 が発現すると Treg へと分化する (Foxp3 は Treg の特異的マーカーともなる)。胸腺由来の Treg は thymus-derived Treg (tTreg), 末梢誘導性の Treg は peripherally derived Treg (pTreg) と区別される。pTreg は特に腸管で多く, 腸内細菌抗原を認識することで pTreg へと分化すると考えられている。エフェクター T 細胞とは, 樹状細胞やマクロファージ, B 細胞などの抗原提示細胞によって提示された非自己物質を, T 細胞受容体を介して認識した T 細胞が分化活性化された T 細胞である。それは, エフェクター細胞障害性 T 細胞とエフェクターヘルパー T 細胞に分けられる。

また, PD 末梢血で IL-1, IL-2, IL-6, IL-10 TNF- α , CRP, RANTES が, 増加していること (Qin et al 2016, Mogi et al 1996), さらに, 炎症促進性サイトカインが高い PD は進行が速いこと, 脳脊髄液でも, それらの濃度が高いことが報告されている (Blum-De-
gen et al 1995)。

表 1 炎症等関連分子

遺伝子 (タンパク)	機能	本実験 の結果	本文で言及したこと
APOE	ミクログリアの脂質代謝に関係	増加	ミクログリアの活性化で増加
AXL	ミクログリアの貪食に関係	増加	ミクログリアの活性化で増加
BAI1	ミクログリアの貪食に関係	増加	Eat-me signal (補体, MFG-E8) を認識する
C1q	補体活性化経路の最初の段階に必要	無変化	脳内ではミクログリアにのみ存在
CASP3	カスパーゼ 8 により活性化される	減少	PD の黒質ドパミンニューロンに発現している
CASP8	TNFR1 により活性化される	増加	PD の黒質ドパミンニューロンに発現している
CCL5	炎症促進	無変化	M 1 ミクログリアが分泌
CD11b	ミクログリアの補体受容体の一部	無変化	Mac1 を CD18 とともに構成する
CD18	ミクログリアの補体受容体の一部	無変化	Mac1 を CD18 とともに構成する
CD200	ミクログリアを静止状態に保つ	無変化	ニューロンに発現
CD36	スカベンジャーレセプター	増加	α -シヌクレインの取り込みに関係
CD68	ミクログリアのマーカー	無変化	ミクログリアが活性化すると発現
CD86	T 細胞を活性化	無変化	活性化ミクログリアが発現
CIAP1(BIRC2)	プロテアソームでの分解を促進	無変化	TRAF6 で活性化され, TRAF3 のプロテアソームでの分解を促進
COX2	炎症で誘導	無変化	PD で発現
CSF1R (CD115)	ミクログリアの生存必須因子	増加	CSF1R のシグナルを阻害すると, ミクログリアが脳内から消失
CTSB	タンパク質の細胞内分解とターンオーバーに関与	無変化	ミクログリアのリソソーム機能と関係

遺伝子 (タンパク)	機能	本実験 の結果	本文で言及したこと
CTSD	タンパク質の細胞内分解とターンオーバーに関与	無変化	ミクログリアのリソソーム機能と関係
CX3CL1	ニューロンが傷害を受けると分泌	無変化	ニューロン保護
CX3CR1	ミクログリアの CX3CL1 の受容体	無変化	CX3CR1 を欠損させると MPTP による黒質ドパミンニューロン死が増加
EMR1	ミクログリアのマーカー	無変化	ミクログリアが静止していると発現
FADD	TNFR1 により活性化される	増加	炎症やアポトーシスを促進
FC 受容体	抗体が結合した分子を貪食する	増加	α -シヌクレインは、ミクログリア細胞膜上の Fc 受容体を介して、ミクログリアを活性化
G-CSF	ミクログリアの生存維持因子	無変化	G-CSF は、in vivo で、MPTP によるドパミンニューロン死を抑制
GFAP	アストロサイトのマーカー	減少	PDでドパミンニューロン減少度と GFAP の減少度とが相関
HLA-DQ α 1	貪食した外来抗原の提示	増加	ミクログリアに発現
HLA-DQ α 2	貪食した外来抗原の提示	無変化	ミクログリアに発現
HLA-DQ β 1	貪食した外来抗原の提示	増加	ミクログリアに発現
HLA-DQ β 2	貪食した外来抗原の提示	無変化	ミクログリアに発現
HLA-DR α	貪食した外来抗原の提示	無変化	ミクログリアに発現
HLA-DR α	貪食した外来抗原の提示	無変化	ミクログリアに発現
HLA-DR β 1	貪食した外来抗原の提示	無変化	ミクログリアに発現
HLA-DR β 3	貪食した外来抗原の提示	増加	ミクログリアに発現
HLA-DR β 4	貪食した外来抗原の提示	無変化	ミクログリアに発現
HLA-DR β 5	貪食した外来抗原の提示	増加	ミクログリアに発現
HSPA12B (HSP70-12b)	タンパク質のフォールディングに関与	無変化	抗炎症作用, 神経保護作用
HSPA1A (HSP70)	タンパク質のフォールディングに関与	減少	抗炎症作用, 神経保護作用
HSPA1L (HSP70)	タンパク質のフォールディングに関与	無変化	抗炎症作用, 神経保護作用
HSPA2 (HSP70-2)	タンパク質のフォールディングに関与	無変化	抗炎症作用, 神経保護作用
HSPA5 (HSP70-5)	タンパク質のフォールディングに関与	無変化	抗炎症作用, 神経保護作用
HSPA6 (HSP70-6)	タンパク質のフォールディングに関与	無変化	抗炎症作用, 神経保護作用
HSPA8 (HSP70-8)	タンパク質のフォールディングに関与	無変化	抗炎症作用, 神経保護作用
HSPA8 (HSP70-8)Hsc70)	タンパク質のフォールディングに関与	減少	抗炎症作用, 神経保護作用
HSPD1(HSP60)	タンパク質のフォールディングに関与	減少	HSP60 は α シヌクレインの凝集抑制作用あり
ICAM-1(CD54)	ミクログリアで発現, 細胞間接着因子	無変化	PDの線条体や黒質で増加, IL-1とTNFによって誘導される
IKK β	炎症反応の伝搬に関与する酵素	増加	IL-1 や TNF- α で活性化される。そして, NF- κ B を活性化。
IL-1	炎症促進サイトカイン	無変化	IL-1 のポリモルフィズムと PD のリスクが関連
IL-10	IL-10 により M2c マクロファージになる	無変化	炎症抑制, PD の末梢血で増加?
IL-13	IL-13 により M2a マクロファージとなる	増加	炎症抑制, PD の末梢血で増加?

遺伝子 (タンパク)	機能	本実験 の結果	本文で言及したこと
IL-4	IL-4 により M2a マクロファージとなる	増加	炎症抑制, 神経保護
IL-6	炎症促進性サイトカイン,	無変化	PD 脳で IL-6 陽性ミクログリアが存在, PD の末梢血で増加?
iNOS	活性化ミクログリア内で発現する	無変化	PD 脳で iNOS の発現亢進。iNOS のポリモフィズムと PD のリスクが関連。
IRAK	myddosome の構成分子	無変化	炎症促進分子
IRF3	TLR で活性化され, インターフェロンを産生させる	無変化	
ITGAX	ミクログリアの貪食作用に関係	無変化	
LPL	ミクログリアの脂質代謝に関係	無変化	
LYZ	ミクログリアのリソソームに関係	減少	
MAPK1(ERK2)	細胞増殖	無変化	
MAPK10 (JNK3)	ニューロンのストレス反応に関係	無変化	
MAPK11(p38 β)	炎症性サイトカインで活性化	無変化	
MAPK12 (ERK6, p38 γ)	炎症性サイトカインで活性化	無変化	
MAPK13(p38 δ)	炎症性サイトカインで活性化	無変化	
MAPK14(p38 α)	炎症性サイトカインで活性化	無変化	
MAPK3(ERK1)	細胞増殖	無変化	
MAPK4(ERK4)	MAPK-activated protein kinase MK5 を活性化	無変化	
MAPK5	腫瘍増殖抑制	無変化	
MAPK6(ERK3)	ニューロン保護	減少	
MAPK7(ERK5)	血清飢餓刺激で活性化	無変化	
MAPK8 (JUN1)	肥満症で増加	無変化	
MAPK9 (JUN2)	脳発生のアポトーシスに関与	無変化	
M-CSF	ミクログリアの生存因子	無変化	ミクログリアの PET 用リガンドである [11C]CPPC が結合する分子
MERTK	ミクログリアが貪食する	減少	Eat-me signal (補体, MFG-E8) を認識する
MFG-E8	Eat-me signal	増加	
MHC- II	抗原提示する際に利用	増加	PD 脳に MHC- II 陽性ミクログリアが存在
MKK3	TAK1 により活性化される。MAPK を活性化する。	無変化	
MKK4	TAK1 により活性化される。JNK を活性化する。	無変化	
MKK6	TAK1 により活性化される。MAPK を活性化する。	無変化	
MKK7	TAK1 により活性化される。JNK を活性化する。	無変化	
MMP-3	ミクログリアを活性化	無変化	炎症促進分子
MRC	ミクログリアのパターン認識受容体	無変化	Eat-me signal (補体, MFG-E8) を認識する
MyD88	TLR のアダプター	無変化	
NADPH oxidase	活性酸素を生成する酵素	無変化	PD 脳で活性化

遺伝子 (タンパク)	機能	本実験 の結果	本文で言及したこと
NF- κ B	免疫反応において中心的役割を果たす転写因子	減少	遺伝性 PD で, α -シヌクレインにより活性化される
Nurr1	中脳ドパミンニューロンの分化と維持	無変化	炎症の抑制
P2RY12	ミクログリアで高発現し, 細胞の移動等に関与	減少	
PPAR γ	ミクログリアに発現	無変化	炎症抑制
S100b	活性化したアストロサイトのマーカー	減少	
SNCA (α -シヌクレイン)	傷害ミクログリアを活性化	無変化	炎症惹起
Scavenger re- ceptor (SR)	ミクログリアの貪食に関係	無変化	Eat-me signal (補体, MFG-E8) を認識する
TBK1	インターフェロンを産生	無変化	
TGF- β 1	炎症抑制サイトカイン	無変化	
TGF- β 2	傷害ミクログリアを抑制	減少	
TGF- β 3	炎症抑制サイトカイン	無変化	
TLR2	α -シヌクレインを認識	無変化	PD 線条体で発現増加
TLR9	ニューロン保護	無変化	PD 線条体で発現増加
TNFR1	TNF- α の受容体 (遍在)	無変化	ドパミンニューロンは TNFR1 陽性。PD 黒質の TNFR1 は増加。
TNFR2	TNF- α の受容体 (免疫細胞に局在)	無変化	
TNF- α	炎症促進サイトカイン	増加	PD で TNF- α 陽性ミクログリアが存在。 α -シヌクレインを線維化。
TOLLIP	IRAK1 を抑制し, 炎症を抑制する	無変化	
TRADD	TNFR1 により活性化される	増加	
TRAF6	midosome により活性化	無変化	IKK β を活性化
TREM2	ミクログリア活性化マーカー	増加	ミクログリアを保護的に変化させる。
TRIF	TLR のアダプター	無変化	
vimentin	アストロサイトのマーカー	減少	
グルココルチコ イド受容体	炎症を抑制	減少	PD の黒質で, グルココルチコイド受容体が減少

8. マイクロアレイ実験

マーモセットに MPTP を単回投与して, 2 時間後, 6 時間後, 1 日後, 14 日後に脳を取り出し, 中脳をクリオスタットで 8 μ m の厚さに薄切し, 黒質緻密層 (ドパミンニューロン約 50 個を含有) をレーザーキャプチャーマイクロディセクションにて摘出した。そこから RNA を抽出し, cDNA 合成, 増幅し, Agilent のヒューマンアレイにアプライして, 遺伝子発現量を調べた (Iwata et al 2007)。

MPTP は単回投与なので, マーモセットにパーキンソンニズムを生じさせることはできない。我々はパーキンソン病モデルを作成する場合, 1 回量 2.5mg/kg を 2~4 回投与している (Nomoto et al 1997)。2.5mg/kg の単回投与の場合, 投与 1 日目のみ非特異的な急

性中毒作用で終日無動となるが, 2 日目以降は回復し, パーキンソンニズムは呈さない。1 回にパーキンソンニズムを生じさせる MPTP の量を投与すると動物は死んでしまう。線条体の TH タンパク量は, 2 時間後は対照の 77%, 6 時間後は 57%, 1 日後は 71%, 14 日後は 40% 未満であった。黒質のドパミンニューロン数 (TH 陽性細胞) は, 14 日後, 対照の約 30% に減少した。しかし, 黒質の THmRNA 量は 2 時間後, 6 時間後, 1 日後, 14 日後, それぞれ対照の 2.5 倍, 2.1 倍, 1.8 倍, 1.9 倍と増加していた。つまり, MPTP の使用量は少なかったため, ドパミンニューロンを完全には変性できなかった。転写は障害されず, 減少したタンパク質を補うために, mRNA の量は増加したと考えられた。この MPTP の量で実際のドパミンニューロンが死ん

だのかは不明である。残存ドーパミンニューロンは TH タンパク陰性となっている可能性もある。我々は以前、その可能性について報告した (Iwata et al 2001)。mRNA が増加した場合、TH のように単純に代償で増加を示した分子も多いと思われる。

MPTP は同じドーパミンニューロンでも VTA に対しては、黒質ほどは障害しない。実際のところはっきりとした理由はわかっていない。遺伝子の反応の仕方が異なることも提案はされている (Phani et al 2010)。本実験では VTA のドーパミンニューロン数 (TH 陽性細胞) は半分に減少していた。

8.1. インテグリン

MPTP 投与初期で、インテグリン α_v とインテグリン β_1 の発現が一過性に減少し、インテグリン $\alpha_v\beta_1$ に結合する Vitronectin の発現が初期に一過性に増加した。

インテグリンは細胞表面に存在し、細胞接着分子である。 α 鎖と β 鎖の2つのサブユニットからなるヘテロダイマーである。 $\alpha_v\beta_1$ は神経系に存在し、vitronectin と結合する。Vitronectin は、細胞外マトリックスで、神経系では神経突起の伸長などに働く (Furutani et al 2012)。Vitronectin 受容体アンタゴニストはミクログリアによるニューロンの貪食処理を抑制した (Neher et al 2011)。つまり、神経炎症が生じて、ミクログリアが活性化し、変性ニューロンを貪食する反応は vitronectin を介している。その際、炎症は変化させなかった。炎症によるニューロンの死を抑制できるが、変性ニューロンが残存してしまうので、臨床的に良いことなのか、悪いことであるのか判断できないが、神経変性疾患の治療に使える可能性がある (Ruzha et al 2022)。

8.2. 軸索局在タンパク

シナプシン I は神経終末にのみ存在し、シナプス小胞を細胞骨格であるアクチンに係留する働きをしている。MPTP 投与後、一過性に著増した。シナプシン II と神経終末への局在性のないシナプシン III は無変化であった。

GAP-43 は、神経終末にあるが、中心体の構成タンパクでもある。軽度、増加していた。

Synaptoporin は、シナプス小胞にあるタンパクで、脳の様々な部位に発現しているが、黒質緻密層にも高発現している (Marqu  ze-Pouey et al 1991)。本実験でもシグナルは2万ととても高かった。MPTP 投与で一貫して減少した。

Synaptotagmin は、シナプス小胞に存在する分子である。17 以上のアイソフォームがある。本実験では synaptotagmin9 は検出できなかったが、1 から 15 までは検出できた。その中で、発現が変化していたのは

synaptotagmin4 と 8 で、前者は減少、後者は増加していた。Synaptotagmin4 はカルシウム結合タンパクで、ニューロンやグリア細胞 (Zheng et al 2004) など神経組織全般に存在している。細胞内局在は、シナプス小胞ではなく、ゴルジ体やペプチド含有する有芯小胞に存在する (Mori and Fukuda 2011)。Synaptotagmin8 は、カルシウム非結合タンパクで、細胞体に存在しているという (Monterrat et al 2006)。

コンプレキシンはコンプレキシン 1 とコンプレキシン 2 が発現しており、その量は増加していた。コンプレキシンは神経伝達物質の放出を修飾している。多系統萎縮症と進行性核上性麻痺の CSF でその量が減少していたが、PD では無変化であった (Nilsson et al 2023)。マウスに農薬である maneb とパラコートを投与したところ、線条体でのコンプレキシン 1 の発現が変化した (Patel et al 2007)。

ペントラキシンはシナプスの大きな分子を取り込んだり、神経可塑性に関与したりしている (Reid and Blobel 1994, Omeis et al 1996)。また、PD の脳脊髄液でその量が減少しているという (Nilsson et al 2023)。ペントラキシン I は神経系にのみ存在している (Omeis et al 1996)。本実験では pentraxin I と pentraxin II が発現していたが、その量は無変化であった。

Rab3 は、カルシウム依存性の神経伝達物質放出に関与している。本実験では Rab3a と Rab3b の発現量は無変化であった。

シンタキシンは、SNARE タンパクの一つであり、シナプトブレビンと SNAP-25 と結合する。本実験ではシンタキシンは、1A, 1B, 3A, 4A, 5A, 8, 11, 12, 17, 18 の発現が確認された。シンタキシン 4A, 11 は持続的に軽度増加、シンタキシン 5A は初期に増加、シンタキシン 3A は持続的に減少した。シンタキシン 5 はゴルジ装置に存在するタンパクでゴルジ装置へのストレスで、その発現が増加する (Suga et al 2015)。

SNAP-25 は、t-SNARE 複合体を構成するタンパクであるが、本実験では検出されず、サブファミリーである SNAP-23 が検出された。SNAP-25 は脳に局在するが、SNAP-23 は偏在する (Ravichandran et al 1996)。しかし、脳内では、SNAP-23 は、脳幹や小脳に多く発現する (Yamamori et al 2011)。

8.3. ドーパミンニューロンならびにドーパミン代謝関連

TH mRNA は終始増加していた。黒質のドーパミンは減少していたので、フィードバック抑制が解除されたので、反応性に TH mRNA の発現は増加したと考えられた。ドーパミンニューロンのマーカーである TH タンパクは減少していた。6-OHDA 線条体投与による黒質ドーパミンニューロン逆行性変性パーキンソン病モデル

ラットの実験では、黒質の TH タンパクは徐々に減少したが、THmRNA は一過性に増加した (Iwata et al 2004)。MPTP を使用した本実験では MPTP の量は少量であったので、ドパミンニューロンの変性は不完全である。そのため、6-OHDA モデルで観察された投与 14 日目における THmRNA の減少は観察されなかったと考えられた。転写レベルでの代償反応は簡単に起こるが、増加した mRNA からタンパク合成にはつながらないということが 2 つの異なったモデルにより明らかになった。

ドーパ脱炭酸酵素は無変化であった。MAO は MAOA および MAOB も全く無変化であった。ドパミントランスポーター (SLC6A3) の発現はほとんど検出されなかった。VMAT2 (SLC18A2) は無変化であった。SLC10A4 は、モノアミンシナプス小胞に局在して小胞内の酸性化に働いている (Larhammar et al 2015)。その発現は無変化であった。GTP cyclohydrolase 1 は、テトラヒドロピオプテリン合成の律速酵素である。ドパミンニューロンではドパミン合成に関係している。その発現は無変化であった。Copine 7 は、膜トラフィッキングに関与しているタンパクで、ドパミンニューロンと線条体のアセチルコリン介在細胞に存在している (Paget-Blanc et al 2022)。初期に増加した。

8.4. IL

IL はヘルパー T 細胞から分泌されるサイトカインで、30 種類以上存在している。本実験では IL-1, IL-4, IL-3, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-21, IL-23, IL-24, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29 が存在した。その中で発現が変化したのは、IL-4 が増加、IL-13 が後期に増加、IL-26 が一貫して著減であった。IL-4 と IL-13 はニューロン保護的に働き、IL-26 は炎症促進に働く。以上より、本実験では IL 系は神経保護的に反応していると解釈できた。PD の死後脳、MPTP mouse, MPTP macaque で増加していたという IL-1 β は全く変化していなかった (Mandel et al 2000, 2002)。

8.5. ケモカイン

ケモカインは、G タンパク共役受容体に結合するサイトカインの一種で、白血球の遊走を引き起こして、炎症の形成に関与する。構造から CC ケモカイン、CXC ケモカイン、C ケモカイン、CX3C ケモカインの 4 つに分類される。本実験では 27 種類ある CC ケモカインのうち、CCL6, CCL9/10, CCL14, CCL22 の 4 つを除いた 23 種類の CC ケモカインが発現していた。CXC ケモカインは、全部で 17 種類あるが、CXCL8, CXCL10, CXCL15, CXCL17 の 4 種

類を以外の 13 種類が発現していた。CXCL8 は homo sapiens でのみ発現している、CXCL7 はげっ歯類に存在し、homo sapiens の CXCL8 に相当する。マーマセツトは CXCL8 ではなく、CXCL7 を発現していたのは興味深い。C ケモカインは 2 種類全部、CX3C ケモカインは、CX3CL1 一つのみであるが、それも発現していた。CX3CL1 は細胞間の情報伝達物質として働いている。

有意な変化をしていたのは、CC ケモカインでは、CCL2, CCL8, CCL24, CC ケモカインでは CXCL3, CXCL6, CXCL12, CXCL13 であった。CC ケモカイン 3 種類すべてと CXCL3 の発現が初期に一過性に増加していた。CXCL6, CXCL12, CXCL13 は、一過性に発現が減少した。

CCL2 は、神経系にも発現していて、ニューロンとグリアの両者に存在している。黒質のドパミンニューロンにも多く発現している (Banisadr et al 2005)。CCL2 は、そのポリモルフィズムとパーキンソン病が関与している (Shen et al 2019)。PD の末梢血並びに CSF で CCL2 が増加していた (Qu et al 2023)。

CCL8 濃度の減少が PD の CSF で報告されている (Qu et al 2023)。CCL8 は、様々な免疫細胞の走化性と活性化をする。受容体は CCR1, CCR2B, CCR3, CCR5 である。

CCL24 は、様々な免疫細胞の走化性に関与している。PD の血清で CCL24 を測定したが、コントロールと差がなかった (Scalzo et al 2011, Rocha et al 2014, Moghadam-Ahmadi et al 2020)。

CXCL3 は、中枢では小脳の形成に関与している (Farioli-Vecchioli et al 2012)。つまり、免疫細胞ではなく神経細胞の走化性に関与している。

CXCL6 は、中枢神経ではドパミン神経の分化に関与している (Edman et al 2008)。

CXCL12 は、中枢神経では神経発生と神経炎症に関与しており、黒質にも存在している (Guyon 2014)。アルツハイマー病の治療に役立つ可能性も指摘されている (Raman et al 2011)。

CXCL13 は正常脳で細胞間の情報伝達物質として働いている。

8.6. エンドソーム, リソソーム

エンドソームとリソソームのマーカータンパクである LAMP-1 は、増加し続けていた。LAMP-1 は、多くの細胞のリソソーム膜に存在する糖タンパクで (Carlsson and Fukuda 1989), LAMP-1 と LAMP-2 を合わせるとリソソームタンパクの半分を占める (Eskelinen 2006)。普段はリソソームに存在するが、細胞膜表面にリソソームの融合に伴って移動すると細胞接着に働く (Acevedo-Schermerhorn et al 1997)。細胞

表面に LAMP-1 が発現する細胞としてマクロファージがある (Agarwal et al 2015)。

TLR のうち、TLR3, 7, 8, 9 はリソソームに存在しているが、本実験では TLR2, TLR3, TLR9 が発現していた。TLR は NF- κ B と IRF を活性化するが、NF- κ B は無変化であった。しかし、IRF2, 6, 7 が一過性に増加しており、その変化の様式は IFN の発現変化と同じであった。以上から、IRF の一過性の発現増加は TLR とは別の経路を介したものであると考えられた。しかし、IRF2 は IRF1 の活性を競合的に抑制し、IFN α と β の産生を抑制する。IRF6 は結合組織形成に働いていると言われている (Blanton et al 2005)。IRF7 は、IFN- α の発現を誘導する (Marié et al 1998)。

エンドソームの栄養シグナル伝達分子である mTORC1 は、mTOR, Raptor, MLST3, PRAS40, DEPTOR から構成されるが (Lawrence and Zoncu 2019, Bal-labio and Bonifacino 2020), それらはすべて検出されなかった。黒質においては、この系は存在していないと考えられた。

SLC15A3 と SLC15A4 は、免疫細胞に優先して発現するリソソーム局在アミノ酸 / オリゴペプチドトランスポートラーである (Toyama-Sorimachi and Kobayashi 2021)。両者とも発現はあったが、無変化であった。

以上より、エンドソーム、リソソームの活性化は生じていると思われるが、詳細な機序は不明である。

8.7. プリン受容体

前述のように神経炎症のとき、ミクログリアに存在する P2X7 受容体や P2Y6 受容体を介して、炎症や貪食が誘発される。本実験において、P2X 受容体では、P2X1, P2X2, P2X3, P2X5, P2X7 受容体の発現が認められ、その中で P2X1 受容体のみが一貫してその発現が増加していた。P2X1 受容体は、中枢神経ではアストロサイトに発現している (Lalo et al 2008)。P2Y 受容体は、P2Y2, P2Y4, P2Y5, P2Y6, P2Y8,

P2Y10, P2Y11, P2Y12 の発現が認められたが、変化していたものはなかった。MPTP によりアストロサイトの変化が起こったと考えられる。

8.8. ATP 合成酵素

PD の黒質で ATP 合成酵素が減少していることが報告されている (Ferrer et al 2007)。本実験では ATP5A1, ATP5B, ATP5C1, ATP5dD, ATP5E, ATP5F1, ATP5G1, ATP5G2, ATP5G3, ATP5H, ATP5I, ATP5J, ATP5J2, ATP5O, ATP5L, ATP5S が検出された。一過性に増加したのは ATP5B, ATP5D, ATP5F1, ATP5I, 持続的に増加したのは ATP5J2 で、残りは無変化であった。検出された ATP 合成酵素 16 個の内 5 個も発現が変化していた。ATP 合成酵素はミトコンドリアに存在する。MPTP はミトコンドリアの呼吸鎖をターゲットとするので、ATP 合成酵素の発現が変化したと考えられる。

8.9. NADH 脱水酵素

NADH 脱水酵素は呼吸鎖の複合体 1 を構成する酵素で、MPTP が変換した MPP⁺ が障害する標的酵素である。大きな複合体であり、本実験では NDUFA1, NDUFA2, NDUFA3, NDUFA4, NDUFA5, NDUFA6, NDUFA7, NDUFA8, NDUFA9, NDUFA10, NDUFA11, NDUFB1, NDUFB2, NDUFB3, NDUFB4, NDUFB5, NDUFB6, NDUFB7, NDUFB8, NDUFB9, NDUFB10, NDUF C1, NDUF S1, NDUF S2, NDUF S3, NDUF S4, NDUF S5, NDUF S6, NDUF S7, NDUF S8, NDUFV1, NDUFV2, NDUFV3, NDUF AF1 が発現していた。検出された 54 個の遺伝子のうち、20 個も発現量が変化していた。NDUF S7 が 14 日後も 2 倍に発現が増加した以外、他の複合体 1 を構成するタンパクは一過性の変化、または無変化であった。複合体 1 は MPTP の標的であるので、一過性に多くの NADH 脱水酵素関連遺伝子の発現が変化したが、MPTP が少量であったので、複合体 1 が完全に変性するということはなかった。

表 2 14 日後に発現が 3 倍以上増加した遺伝子

Accession 番号	遺伝子名	機能など
NM_000852	glutathione S-transferase pi	解毒
NM_030773	tubulin, beta 1	単球に高発現
NM_014706	squamous cell carcinoma antigen recognised by T cells 3	抗癌作用
NM_002112	histidine decarboxylase	ヒスタミン合成酵素
NM_021574	breakpoint cluster region	フィラデルフィア染色体
NM_001875	carbamoyl-phosphate synthetase 1, mitochondrial	尿酸合成酵素 ミトコンドリア
NM_004244	CD163 antigen (CD163), transcript variant 1	スカベンジャー受容体

Accession番号	遺伝子名	機能など
NM_052870	sorting nexin associated golgi protein 1	エンドソームからゴルジへの輸送に関係
NM_000180	guanylate cyclase 2D, membrane (retina-specific)	Leber 病に関係
NM_025212	CXXC finger 4	再生を促進
NM_018652	golgi autoantigen, golgin subfamily a, member 6	シェーグレン症候群に関係
NM_015136	stabilin 1	ミクログリアに存在 スカベンジャー受容体
NM_005478	insulin-like 5	消化管ホルモン
NM_020147	THAP domain containing 10	転写因子 脳と免疫性細胞に存在
NM_004574	peanut-like 2 (Drosophila) (PNUTL2), transcript variant 1	アポトーシス関連
NM_024333	fibronectin type 3 and SPRY (spla, ryanodine) domain containing (with coiled-coil motif) 1	細胞分裂に関係
NM_022375	oculomedin	開放隅角緑内障に関係
NM_005225	E2F transcription factor 1	細胞周期に関与
NM_014571	hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif-like	骨のリモデリングに関係

8.10. 14 日目に大きな変化をしている遺伝子

マイクロアレイは mRNA の発現量の変化を見ているので、mRNA の発現が一過性に増加しても、タンパク質まで翻訳され、実際に機能しているか不明である。発現変化した遺伝子数は時間が経てば立つほど減少するので、一貫性して発現が増加しているものは機能している可能性が相対的に高いと考えられる。減少しているものは転写の段階で抑制がかかっているため機能低下かどうかははっきりしない。そこで、MPTP 投与 14 日目で発現が 3 倍以上増加しているものを抜粋してみた（表 2）。ニューロン保護に働いている可能性のある分子が多かった。

8.11. 本実験のまとめ

神経保護的に働く分子は MPTP の毒性からニューロンを守るためにその mRNA 発現が増加する。同時に、ニューロン死に関係する分子の mRNA も発現が増加する。時間経過では発現が変化した分子がどちらの働きをしているのか判然としない。それがマイクロアレイ実験の限界である。MPTP のターゲットとなる物質の遺伝子発現は変化したが、ドパミン神経は完全な変性過程には入らなかったため、ドパミン神経構成タンパクの一部のみ変化を示した。炎症関係のタンパクは大きな変化を示さず、この量の MPTP では神経変性を起こさせるような持続的な炎症の活性化は起こっていないと推察された。

HIV 関連認知症患者から培養したミクログリアのマイクロアレイ実験 (Albright and González-Scarano 2004) で、増加していた IL-1 β は本実験では全く変化していなかった。HIV 関連認知症は典型的な感染に伴う炎症がその発症の原因であるため、MPTP に

よるパーキンソンニズム発症には炎症は関わっていないと考えられる。MPTP モデルは、ドパミン神経細胞障害毒であるため、自律的なミクログリアの活性は生じない。炎症に関連する分子の発現の変化はすべてドパミン神経変性による二次的なものである。

Macaque に MPTP を十分量投与して、6, 12, 24 日後の黒質の Affymetrix マイクロアレイを行った研究があるが、本実験の結果とは異なっていた (Bassilana et al 2005)。

MPTP パーキンソン病モデルは、やはり外因毒素による反応を in vivo では示した、順当な結果であった。

用語集

アルギナーゼ (荻野 2018)

アルギナーゼは、アンモニアの解毒に関わるオルニチン回路を構成する酵素の一つであり、I, II の 2 つの分子種が存在する。普段はマクロファージには発現していないが、IL-4 又は IL-13 により刺激され、M2 マクロファージに発現が誘導される。アルギナーゼは、NOS1, NOS2, NOS3 と共通基質であるアルギニンを巡って競合する。そのことにより、アルギナーゼは一酸化窒素合成を抑制する。つまり、抗炎症作用を持つ。

マクロファージマンノース受容体

M2 マクロファージは、マンノース受容体を強く発現している。ほ乳動物の細胞表面にはマンノースは露出しておらず、糖鎖の端にはシアル酸が付いているが、細菌ではマンノースが露出しており、これを認識するマンノース受容体によって細菌は認識される。マクロ

ファージのサブタイプである M2a マクロファージは、IL-4 刺激によりマンノース受容体の発現を引き起こす。それにより、M2a マクロファージは、組織修復を促進することが示されている。また、M2a マクロファージは、炎症に関連する FIZZ1 と Ym1 を発現する。

末梢性ベンゾジアゼピン受容体

Translocator protein 18kDa (TSPO) と呼ばれる事が多い。ジアゼパムが結合する末梢部位と認識されている。ミトコンドリアの外膜に存在し、コレステロールをミトコンドリアに輸送する働きをしている。様々な働きがあるが、免疫系にはマクロファージによるサイトカイン放出の抑制、リンパ球の増殖抑制作用がある。ある種の神経変性疾患の炎症に関与している。また、脳にも存在している (Marangos et al 1982)。神経ステロイドの産生を促進し、抗不安作用を有している (Farb and Ratner 2014)。

文 献

- Abeliovich A, Schmitz Y, Fariñas I, Choi-Lundberg D, Ho WH, Castillo PE, Shinsky N, Verdugo JM, Armanini M, Ryan A, Hynes M, Phillips H, Sulzer D, Rosenthal A (2000) Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron* 25:239-52.
- Acevedo-Schermerhorn C, Gray-Bablin J, Gama R, McCormick PJ (1997) t-complex-associated embryonic surface antigen homologous to mLAMP-1. II. Expression and distribution analyses. *Exp Cell Res* 236:510-8.
- Agarwal AK, Srinivasan N, Godbole R, More SK, Budnar S, Gude RP, Kalraiya RD (2015) Role of tumor cell surface lysosome-associated membrane protein-1 (LAMP1) and its associated carbohydrates in lung metastasis. *J Cancer Res Clin Oncol* 141:1563-74.
- Albright AV, González-Scarano F (2004) Microarray analysis of activated mixed glial (microglia) and monocyte-derived macrophage gene expression. *J Neuroimmunol* 157:27-38.
- Arawaka S, Wada M, Goto S, Karube H, Sakamoto M, Ren CH, Koyama S, Nagasawa H, Kimura H, Kawanami T, Kurita K, Tajima K, Daimon M, Baba M, Kido T, Saino S, Goto K, Asao H, Kitanaka C, Takashita E, Hongo S, Nakamura T, Kayama T, Suzuki Y, Kobayashi K, Katagiri T, Kurokawa K, Kurimura M, Toyoshima I, Niizato K, Tsuchiya K, Iwatsubo T, Muramatsu M, Matsumine H, Kato T (2006) The role of G-protein-coupled receptor kinase 5 in pathogenesis of sporadic Parkinson's disease. *J Neurosci* 26:9227-38.
- Asea A (2008) Heat shock proteins and toll-like receptors. *Handb Exp Pharmacol* 183:111-27.
- Ballabio A, Bonifacino JS (2020) Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 21:101-118.
- Banisadr G, Gosselin RD, Mechighel P, Kitabgi P, Rostène W, Parsadaniantz SM (2005) Highly regionalized neuronal expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) in rat brain: evidence for its colocalization with neurotransmitters and neuropeptides. *J Comp Neurol* 489:275-92.
- Baufeld C, O'Loughlin E, Calcagno N, Madore C, Butovsky O (2018) Differential contribution of microglia and monocytes in neurodegenerative diseases. *J Neural Transm (Vienna)* 125:809-26.
- Blanton SH, Cortez A, Stal S, Mulliken JB, Finnell RH, Hecht JT (2005) Variation in IRF6 contributes to nonsyndromic cleft lip and palate. *Am J Med Genet A* 137A:259-62.
- Boka G, Anglade P, Wallach D, Javoy-Agid F, Agid Y, Hirsch EC (1994) Immunocytochemical analysis of tumor necrosis factor and its receptors in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 172:151-4.
- Blum-Degen D, Müller T, Kuhn W, Gerlach M, Przuntek H, Riederer P (1995) Interleukin-1 beta and interleukin-6 are elevated in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's and de novo Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett* 202:17-20.
- Brown GC, Neher JJ (2014) Microglial phagocytosis of live neurons. *Nat Rev Neurosci* 15:209-16.
- Cao S, Standaert DG, Harms AS (2012) The gamma chain subunit of Fc receptors is required for alpha-synuclein-induced pro-inflammatory signaling in microglia. *J Neuroinflammation* 9:259.
- Carlsson SR, Fukuda M (1989) Structure of human lysosomal membrane glycoprotein 1. Assignment of disulfide bonds and visualization of its domain arrangement. *J Biol Chem* 264:20526-31.
- Chen H, Zhang SM, Hernán MA, Schwarzschild MA, Willett WC, Colditz GA, Speizer FE, Ascherio A (2003) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of Parkinson disease. *Arch Neurol* 60:1059-64.
- Chen H, Jacobs E, Schwarzschild MA, McCullough

- ML, Calle EE, Thun MJ, Ascherio A (2005) Non-steroidal antiinflammatory drug use and the risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 58:963-7.
- Choi I, Zhang Y, Seegobin SP, Pruvost M, Wang Q, Purtell K, Zhang B, Yue Z. Microglia clear neuron-released α -synuclein via selective autophagy and prevent neurodegeneration. *Nat Commun*. 2020 Mar 13;11(1):1386.
- Codolo G, Plotegher N, Pozzobon T, Brucale M, Tessari I, Bubacco L, de Bernard M (2013) Triggering of inflammasome by aggregated α -synuclein, an inflammatory response in synucleinopathies. *PLoS One* 8:e55375.
- Collins LM, Toulouse A, Connor TJ, Nolan YM (2012) Contributions of central and systemic inflammation to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Neuropharmacology* 62:2154-68.
- Croisier E, Moran LB, Dexter DT, Pearce RK, Graeber MB (2005) Microglial inflammation in the parkinsonian substantia nigra: relationship to alpha-synuclein deposition. *J Neuroinflammation* 2:14.
- Davis EJ, Foster TD, Thomas WE (1994) Cellular forms and functions of brain microglia. *Brain Res Bull* 34:73-8.
- Deczkowska A, Keren-Shaul H, Weiner A, Colonna M, Schwartz M, Amit I (2018) Disease-Associated Microglia: A Universal Immune Sensor of Neurodegeneration. *Cell* 173:1073-81.
- Dijkstra CD, Döpp EA, Joling P, Kraal G (1985) The heterogeneity of mononuclear phagocytes in lymphoid organs: distinct macrophage subpopulations in the rat recognized by monoclonal antibodies ED1, ED2 and ED3. *Immunology* 54:589-99.
- Doorn KJ, Moors T, Drukarch B, van de Berg WDJ, Lucassen PJ, van Dam AM (2014) Microglial phenotypes and toll-like receptor 2 in the substantia nigra and hippocampus of incidental Lewy body disease cases and Parkinson's disease patients. *Acta Neuropathol Commun* 2:90.
- Doot RK, Young AJ, Nasrallah IM, Wetherill RR, Siderowf A, Mach RH, Dubroff JG (2022) [18F] NOS PET Brain Imaging Suggests Elevated Neuroinflammation in Idiopathic Parkinson's Disease. *Cells* 11:3081.
- Doi Y, Mizuno T, Maki Y, Jin S, Mizoguchi H, Ikeyama M, Doi M, Michikawa M, Takeuchi H, Suzumura A (2009) Microglia activated with the toll-like receptor 9 ligand CpG attenuate oligomeric amyloid β neurotoxicity in in vitro and in vivo models of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 175:2121-32.
- Dos Santos SE, Medeiros M, Porfirio J, Tavares W, Pessôa L, Grinberg L, Leite REP, Ferretti-Rebustini REL, Suemoto CK, Filho WJ, Noctor SC, Sherwood CC, Kaas JH, Manger PR, Herculan-Houzel S (2020) Similar Microglial Cell Densities across Brain Structures and Mammalian Species: Implications for Brain Tissue Function. *J Neurosci* 40:4622-43.
- Drouin-Ouellet J, St-Amour I, Saint-Pierre M, Lamontagne-Proulx J, Kriz J, Barker RA, Cicchetti F (2014) Toll-like receptor expression in the blood and brain of patients and a mouse model of Parkinson's disease. *Int J Neuropsychopharmacol* 18:pyu103.
- Dzamko N, Gysbers A, Perera G, Bahar A, Shankar A, Gao J, Fu Y, Halliday GM (2017) Toll-like receptor 2 is increased in neurons in Parkinson's disease brain and may contribute to alpha-synuclein pathology. *Acta Neuropathol* 133:303-19.
- Edman LC, Mira H, Erices A, Malmersjö S, Andersson E, Uhlén P, Arenas E (2008) Alpha-chemokines regulate proliferation, neurogenesis, and dopaminergic differentiation of ventral midbrain precursors and neurospheres. *Stem Cells* 26:1891-900.
- Eskelinen EL (2006) Roles of LAMP-1 and LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. *Mol Aspects Med* 27:495-502.
- Farioli-Vecchioli S, Cinà I, Ceccarelli M, Micheli L, Leonardi L, Ciotti MT, De Bardi M, Di Rocco C, Pallini R, Cavallaro S, Tirone F (2012) Tis21 knock-out enhances the frequency of medulloblastoma in Patched1 heterozygous mice by inhibiting the Cxcl3-dependent migration of cerebellar neurons. *J Neurosci* 32:15547-64.
- Ferrer I, Perez E, Dalfó E, Barrachina M (2007) Abnormal levels of prohibitin and ATP synthase in the substantia nigra and frontal cortex in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 415:205-9.
- Fiebich BL, Batista CRA, Saliba SW, Yousif NM, de Oliveira ACP (2018) Role of Microglia TLRs in Neurodegeneration. *Front Cell Neurosci* 12:329.
- Franke H, Verkhratsky A, Burnstock G, Illes P (2012) Pathophysiology of astroglial purinergic

- signalling. *Purinergic Signal* 8:629-57.
- Furutani Y, Kawasaki M, Matsuno H, Mitsui S, Mori K, Yoshihara Y (2012) Vitronectin induces phosphorylation of ezrin/radixin/moesin actin-binding proteins through binding to its novel neuronal receptor telencephalin. *J Biol Chem* 287:39041-9.
 - Gao HM, Zhang F, Zhou H, Kam W, Wilson B, Hong JS (2011) Neuroinflammation and α -synuclein dysfunction potentiate each other, driving chronic progression of neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *Environ Health Perspect* 119:807-14.
 - Gehrman J, Matsumoto Y, Kreutzberg GW (1995) Microglia: intrinsic immune effector cell of the brain. *Brain Res Brain Res Rev* 20:269-87.
 - Gerhard A, Pavese N, Hottel G, Turkheimer F, Es M, Hammers A, Eggert K, Oertel W, Banati RB, Brooks DJ (2006) In vivo imaging of microglial activation with [¹¹C](R)-PK11195 PET in idiopathic Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 21:404-12.
 - Gillardon F, Schmid R, Draheim H (2012) Parkinson's disease-linked leucine-rich repeat kinase 2(R1441G) mutation increases proinflammatory cytokine release from activated primary microglial cells and resultant neurotoxicity. *Neuroscience* 208:41-8.
 - Goedert M, Jakes R, Spillantini MG (2017) The Synucleinopathies: Twenty Years On. *J Parkinsons Dis* 7:S51-S69.
 - Gordon R, Albornoz EA, Christie DC, Langley MR, Kumar V, Mantovani S, Robertson AAB, Butler MS, Rowe DB, O'Neill LA, Kanthasamy AG, Schroder K, Cooper MA, Woodruff TM (2018) Inflammasome inhibition prevents α -synuclein pathology and dopaminergic neurodegeneration in mice. *Sci Transl Med* 10:eaah4066.
 - Greten-Harrison B, Polydoro M, Morimoto-Tomita M, Diao L, Williams AM, Nie EH, Makani S, Tian N, Castillo PE, Buchman VL, Chandra SS (2010) $\alpha\beta\gamma$ -Synuclein triple knockout mice reveal age-dependent neuronal dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:19573-8.
 - Guo M, Wang J, Zhao Y, Feng Y, Han S, Dong Q, Cui M, Tieu K (2020) Microglial exosomes facilitate α -synuclein transmission in Parkinson's disease. *Brain* 143:1476-97.
 - Guo Y, Deng X, Zheng W, Xu H, Song Z, Liang H, Lei J, Jiang X, Luo Z, Deng H (2011) HLA rs3129882 variant in Chinese Han patients with late-onset sporadic Parkinson disease. *Neurosci Lett* 501:185-7.
 - Guttenplan KA, Weigel MK, Adler DI, Couthouis J, Liddel SA, Gitler AD, Barres BA (2020) Knock-out of reactive astrocyte activating factors slows disease progression in an ALS mouse model. *Nat Commun* 11:3753.
 - Guyon A (2014) CXCL12 chemokine and its receptors as major players in the interactions between immune and nervous systems. *Front Cell Neurosci* 8:65.
 - Hamza TH, Zabetian CP, Tenesa A, Laederach A, Montimurro J, Yearout D, Kay DM, Doherty KF, Paschall J, Pugh E, Kusel VI, Collura R, Roberts J, Griffith A, Samii A, Scott WK, Nutt J, Factor SA, Payami H (2010) Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease. *Nat Genet* 42:781-5.
 - Heidari A, Yazdanpanah N, Rezaei N (2022) The role of Toll-like receptors and neuroinflammation in Parkinson's disease. *J Neuroinflammation* 19:135.
 - Hickman SE, El Khoury J (2010) Mechanisms of mononuclear phagocyte recruitment in Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 9:168-73.
 - Hirsch EC, Hunot S (2009) Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? *Lancet Neurol* 8:382-97.
 - Hoenen C, Gustin A, Birck C, Kirchmeyer M, Beaume N, Felten P, Grandbarbe L, Heuschling P, Heurtaux T (2016) Alpha-Synuclein Proteins Promote Pro-Inflammatory Cascades in Microglia: Stronger Effects of the A53T Mutant. *PLoS One* 11:e0162717.
 - Hoffmann A, Ertle B, Bruno A, Kulinich A, Hoffmann AC, von Wittgenstein J, Winkler J, Xiang W, Schlachetzki JCM (2016) Alpha-synuclein activates BV2 microglia dependent on its aggregation state. *Biochem Biophys Res Commun* 479:881-6.
 - 堀内麻衣, 山中宏二 (2023) グリア細胞の関与. *CLINICAL NEUROSCIENCE* 41:357-60.
 - Huang M, Wang B, Li X, Fu C, Wang C, Kang X (2019) α -Synuclein: A Multifunctional Player in Exocytosis, Endocytosis, and Vesicle Recycling. *Front Neurosci* 13:28.

- Hughes CD, Choi ML, Ryten M, Hopkins L, Drews A, Botía JA, Iljina M, Rodrigues M, Gagliano SA, Gandhi S, Bryant C, Klennerman D (2019) Picomolar concentrations of oligomeric alpha-synuclein sensitizes TLR4 to play an initiating role in Parkinson's disease pathogenesis. *Acta Neuropathol* 137:103-20.
- Hunot S, Boissière F, Faucheux B, Brugg B, Mouatt-Prigent A, Agid Y, Hirsch EC (1996) Nitric oxide synthase and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Neuroscience* 72:355-63.
- Imamura K, Hishikawa N, Sawada M, Nagatsu T, Yoshida M, Hashizume Y (2003) Distribution of major histocompatibility complex class II-positive microglia and cytokine profile of Parkinson's disease brains. *Acta Neuropathol* 106:518-26.
- Iwai A, Masliah E, Yoshimoto M, Ge N, Flanagan L, de Silva HA, Kittel A, Saitoh T (1995) The precursor protein of non-A beta component of Alzheimer's disease amyloid is a presynaptic protein of the central nervous system. *Neuron* 14:467-75.
- Iwata SI, Nomoto M, Fukuda T (2001) Regulation of GAP-43 protein and mRNA in nigrostriatal dopaminergic neurons after the partial destruction of dopaminergic terminals with intrastriatal 6-hydroxydopamine. *Synapse* 39:16-22.
- Iwata S, Nomoto M, Morioka H, Miyata A (2004) Gene expression profiling in the midbrain of striatal 6-hydroxydopamine-injected mice. *Synapse* 51:279-86.
- Iwata S, Nomoto M, Miyata A (2007) Microarray analysis of laser capture microdissected substantia nigra pars compacta after a single administration of MPTP in common marmosets. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 27:161-6.
- Jurga AM, Paleczna M, Kuter KZ (2020) Overview of General and Discriminating Markers of Differential Microglia Phenotypes. *Front Cell Neurosci* 14:198.
- Kannarkat GT, Tansey MG (2014) Role of the innate and adaptive immune system in the pathogenesis of PD. In: *Inflammation in Parkinson's disease* (ed. Thomas M). p.75-103. Springer.
- Keren-Shaul H, Spinrad A, Weiner A, Matcovitch-Natan O, Dvir-Szternfeld R, Ulland TK, David E, Baruch K, Lara-Astaiso D, Toth B, Itzkovitz S, Colonna M, Schwartz M, Amit I (2017) A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell* 169:1276-90. e17.
- Kettenmann H, Hanisch UK, Noda M, Verkhratsky A (2011) Physiology of microglia. *Physiol Rev* 91:461-553.
- Kim WG, Mohnney RP, Wilson B, Jeohn GH, Liu B, Hong JS (2000) Regional difference in susceptibility to lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in the rat brain: role of microglia. *J Neurosci* 20:6309-16.
- Kim YS, Joh TH (2006) Microglia, major player in the brain inflammation: their roles in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Exp Mol Med* 38:333-47.
- Kim C, Kwon S, Iba M, Spencer B, Rockenstein E, Mante M, Adame A, Shin SJ, Fields JA, Rissman RA, Lee SJ, Masliah E (2021) Effects of innate immune receptor stimulation on extracellular alpha-synuclein uptake and degradation by brain resident cells. *Exp Mol Med* 53:281-90.
- Knott C, Stern G, Wilkin GP (2000) Inflammatory regulators in Parkinson's disease: iNOS, lipocortin-1, and cyclooxygenases-1 and -2. *Mol Cell Neurosci* 16:724-39.
- Koizumi S, Shigemoto-Mogami Y, Nasu-Tada K, Shinozaki Y, Ohsawa K, Tsuda M, Joshi BV, Jacobson KA, Kohsaka S, Inoue K (2007) UDP acting at P2Y6 receptors is a mediator of microglial phagocytosis. *Nature* 446:1091-5.
- 小泉 修一 (2015) ミクログリアの貪食性神経細胞死 *Clinical Neuroscience* 33:1363-5.
- Koshimori Y, Ko JH, Mizrahi R, Rusjan P, Mabrouk R, Jacobs MF, Christopher L, Hamani C, Lang AE, Wilson AA, Houle S, Strafella AP (2015) Imaging Striatal Microglial Activation in Patients with Parkinson's Disease. *PLoS One* 10:e0138721.
- Kouli A, Horne CB, Williams-Gray CH (2019) Toll-like receptors and their therapeutic potential in Parkinson's disease and alpha-synucleinopathies. *Brain Behav Immun* 81:41-51.
- Kouli A, Camacho M, Allinson K, Williams-Gray CH (2020) Neuroinflammation and protein pathology in Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathol Commun* 8:211.
- Larhammar M, Patra K, Blunder M, Emilsson L, Peuckert C, Arvidsson E, Rönnlund D, Preobraschenski J, Birgner C, Limbach C, Widengren J, Blom H, Jahn R, Wallén-Mackenzie Å, Kullander

- K (2015) SLC10A4 is a vesicular amine-associated transporter modulating dopamine homeostasis. *Biol Psychiatry* 77:526-36.
- Lalo U, Pankratov Y, Wichert SP, Rossner MJ, North RA, Kirchhoff F, Verkhratsky A (2008) P2X1 and P2X5 subunits form the functional P2X receptor in mouse cortical astrocytes. *J Neurosci* 28:5473-80.
 - Lan X, Han X, Li Q, Yang QW, Wang J (2017) Modulators of microglial activation and polarization after intracerebral haemorrhage. *Nat Rev Neurol* 13:420-33.
 - Lawrence RE, Zoncu R (2019) The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control. *Nat Cell Biol* 21:133-42.
 - Li J, Uversky VN, Fink AL (2001) Effect of familial Parkinson's disease point mutations A30P and A53T on the structural properties, aggregation, and fibrillation of human alpha-synuclein. *Biochemistry* 40:11604-13.
 - Li KL, Huang HY, Ren H, Yang XL (2022) Role of exosomes in the pathogenesis of inflammation in Parkinson's disease. *Neural Regen Res* 17:1898-906.
 - Liu SY, Qiao HW, Song TB, Liu XL, Yao YX, Zhao CS, Barret O, Xu SL, Cai YN, Tamagnan GD, Sossi V, Lu J, Chan P (2022) Brain microglia activation and peripheral adaptive immunity in Parkinson's disease: a multimodal PET study. *J Neuroinflammation* 19:209.
 - Loeffler DA, Camp DM, Conant SB (2006) Complement activation in the Parkinson's disease substantia nigra: an immunocytochemical study. *J Neuroinflammation* 3:29.
 - Ma B, Xu L, Pan X, Sun L, Ding J, Xie C, Koliatsos VE, Cai H (2019) LRRK2 modulates microglial activity through regulation of chemokine (C-X3-C) receptor 1-mediated signalling pathways. *Hum Mol Genet* 25:3515-23.
 - Mandel S, Grünblatt E, Youdim M (2000) cDNA microarray to study gene expression of dopaminergic neurodegeneration and neuroprotection in MPTP and 6-hydroxydopamine models: implications for idiopathic Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 60:117-24.
 - Mandel S, Grünblatt E, Maor G, Youdim MB (2002) Early and late gene changes in MPTP mice model of Parkinson's disease employing cDNA microarray. *Neurochem Res* 27:1231-43.
 - Mansilla MJ, Costa C, Eixarch H, Tepavcevic V, Castillo M, Martin R, Lubetzki C, Aigrot MS, Montalban X, Espejo C (2014) Hsp70 regulates immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *PLoS One* 9:e105737.
 - Marangos PJ, Patel J, Boulenger JP, Clark-Rosenberg R (1982) Characterization of peripheral-type benzodiazepine binding sites in brain using [³H] Ro 5-4864. *Mol Pharmacol* 22:26-32.
 - Marié I, Durbin JE, Levy DE (1998) Differential viral induction of distinct interferon-alpha genes by positive feedback through interferon regulatory factor-7. *EMBO J* 17:6660-9.
 - Marquèze-Pouey B, Wisden W, Malosio ML, Betz H (1991) Differential expression of synaptophysin and synaptoporin mRNAs in the postnatal rat central nervous system. *J Neurosci* 11:3388-97.
 - 増田隆博 (2022) 多様なミクログリアの機能と細胞特性 *実験医学* 40:2926-31.
 - 松平竜介 (2022) ミクログリアの細胞老化と若返り *実験医学* 40:2938-43.
 - McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG (1988) Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology* 38:1285-91.
 - Moghadam-Ahmadi A, Khorramdelazad H, Hassanshahi G, Shahsavari S, Moadab A, Vakilian A (2020) Eotaxins and C-C chemokine receptor type 3 in Parkinson's disease. *Acta Neurol Belg* 120:589-94.
 - Mogi M, Harada M, Riederer P, Narabayashi H, Fujita K, Nagatsu T (1994) Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) increases both in the brain and in the cerebrospinal fluid from parkinsonian patients. *Neurosci Lett* 165:208-10.
 - Mogi M, Harada M, Kondo T, Narabayashi H, Riederer P, Nagatsu T (1995) Transforming growth factor-beta 1 levels are elevated in the striatum and in ventricular cerebrospinal fluid in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 193:129-32.
 - Mogi M, Harada M, Narabayashi H, Inagaki H, Minami M, Nagatsu T (1996) Interleukin (IL)-1 beta, IL-2, IL-4, IL-6 and transforming growth factor-alpha levels are elevated in ventricular cerebrospinal fluid in juvenile parkinsonism and Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 211:13-6.
 - Mori Y, Fukuda M (2011) Synaptotagmin IV acts

- as a multi-functional regulator of Ca^{2+} -dependent exocytosis. *Neurochem Res* 36:1222-7.
- Mrak RE, Griffin WS (2005) Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiol Aging* 26:349-54.
 - Nagamoto-Combs K, Combs CK (2014) Proinflammatory chemical signaling: Cytokines. In: M. Thomas (ed.) *Inflammation in Parkinson's disease: Scientific and Clinical Aspects*. 145-73. Springer.
 - Nagatsu T, Mogi M, Ichinose H, Togari A (2000) Changes in cytokines and neurotrophins in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 60:277-90.
 - Neher JJ, Neniskyte U, Zhao JW, Bal-Price A, Tolkovsky AM, Brown GC (2011) Inhibition of microglial phagocytosis is sufficient to prevent inflammatory neuronal death. *J Immunol* 186:4973-83.
 - Neher JJ, Neniskyte U, Hornik T, Brown GC (2014) Inhibition of UDP/P2Y6 purinergic signaling prevents phagocytosis of viable neurons by activated microglia in vitro and in vivo. *Glia* 62:1463-75.
 - Neumann H (2001) Control of glial immune function by neurons. *Glia* 36:191-9.
 - Nilsson J, Constantinescu J, Nellgård B, Jakobsson P, Brum WS, Gobom J, Forsgren L, Dalla K, Constantinescu R, Zetterberg H, Hansson O, Blennow K, Bäckström D, Brinkmalm A (2023) Cerebrospinal Fluid Biomarkers of Synaptic Dysfunction are Altered in Parkinson's Disease and Related Disorders. *Mov Disord* 38:267-77.
 - Noda M, Doi Y, Liang J, Kawanokuchi J, Sonobe Y, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A (2011) Fractalkine attenuates excitotoxicity via microglial clearance of damaged neurons and antioxidant enzyme heme oxygenase-1 expression. *J Biol Chem* 286:2308-19.
 - Nomoto M, Iwata SI, Kaseda S, Fukuda T, Nakagawa S (1997) Increased dopamine turnover in the putamen after MPTP treatment in common marmosets. *Brain Res* 767:235-8.
 - 荻野 景規 (2018) Arginase は面白い 岡山医学会雑誌 (130) 141-5.
 - Omeis IA, Hsu YC, Perin MS (1996) Mouse and human neuronal pentraxin 1 (NPTX1): conservation, genomic structure, and chromosomal localization. *Genomics* 36:543-5.
 - Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ (2016) Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *Br J Pharmacol* 173:649-65.
 - Ouchi Y, Yoshikawa E, Sekine Y, Futatsubashi M, Kanno T, Ogusu T, Torizuka T (2005) Microglial activation and dopamine terminal loss in early Parkinson's disease. *Ann Neurol* 57:168-75.
 - Ouchi Y, Yagi S, Yokokura M, Sakamoto M (2009) Neuroinflammation in the living brain of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord Suppl* 3: S200-4.
 - Ouerdane Y, Hassaballah MY, Nagah A, Ibrahim TM, Mohamed HAH, El-Baz A, Attia MS (2022) Exosomes in Parkinson: Revisiting Their Pathologic Role and Potential Applications. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022 15:76.
 - 尾内康臣 (2009) PET をもちいた脳ミクログリアの画像化 臨床神経学 49:925-8.
 - 尾内康臣 (2015) 活性化ミクログリアのイメージング *Clinical Neuroscience* 33:1416-9.
 - Paget-Blanc V, Pfeffer ME, Pronot M, Lapios P, Angelo MF, Walle R, Cordelières FP, Levet F, Claverol S, Lacomme S, Petrel M, Martin C, Pitarid V, De Smedt Peyrusse V, Biederer T, Perrais D, Trifileff P, Herzog E (2022) A synaptomic analysis reveals dopamine hub synapses in the mouse striatum. *Nat Commun* 13:3102.
 - Patel S, Sinha A, Singh MP (2007) Identification of differentially expressed proteins in striatum of maneb- and paraquat-induced Parkinson's disease phenotype in mouse. *Neurotoxicol Teratol* 29:578-85.
 - Phani S, Gonye G, Iacovitti L (2010) VTA neurons show a potentially protective transcriptional response to MPTP. *Brain Res* 1343:1-13.
 - Qu Y, Li J, Qin Q, Wang D, Zhao J, An K, Mao Z, Min Z, Xiong Y, Li J, Xue Z (2023) A systematic review and meta-analysis of inflammatory biomarkers in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 9:18.
 - Qin XY, Zhang SP, Cao C, Loh YP, Cheng Y (2016) Aberrations in Peripheral Inflammatory Cytokine Levels in Parkinson Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Neurol* 73:1316-1324.
 - Qu Y, Li J, Qin Q, Wang D, Zhao J, An K, Mao Z, Min Z, Xiong Y, Li J, Xue Z (2023) A systematic review and meta-analysis of inflammatory biomarkers in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 9:18.

- Ravichandran V, Chawla A, Roche PA (1996) Identification of a novel syntaxin- and synaptobrevin/VAMP-binding protein, SNAP-23, expressed in non-neuronal tissues. *J Biol Chem* 271:13300-3.
- Ravichandran KS (2010) Find-me and eat-me signals in apoptotic cell clearance: progress and conundrums. *J Exp Med* 207:1807-17.
- Raman D, Milatovic SZ, Milatovic D, Splittgerber R, Fan GH, Richmond A (2011) Chemokines, macrophage inflammatory protein-2 and stromal cell-derived factor-1 α , suppress amyloid β -induced neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 256:300-13.
- Reid MS, Blobel CP (1994) Apexin, an acrosomal pentaxin. *J Biol Chem* 269:32615-20.
- Rocha NP, Scalzo PL, Barbosa IG, Souza MS, Morato IB, Vieira EL, Christo PP, Teixeira AL, Reis HJ (2014) Cognitive Status Correlates with CXCL10/IP-10 Levels in Parkinson's Disease. *Parkinsons Dis* 2014:903796.
- Ros-Bernal F, Hunot S, Herrero MT, Parnadeau S, Corvol JC, Lu L, Alvarez-Fischer D, Carrillo-de Sauvage MA, Saurini F, Coussieu C, Kinugawa K, Prigent A, Höglinger G, Hamon M, Tronche F, Hirsch EC, Vyas S (2011) Microglial glucocorticoid receptors play a pivotal role in regulating dopaminergic neurodegeneration in parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:6632-7.
- Ruzha Y, Ni J, Quan Z, Li H, Qing H (2022) Role of Vitronectin and Its Receptors in Neuronal Function and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci* 23:12387.
- 佐藤 薫 (2015) ミクログリアの発生と分化 *Clinical Neuroscience* 33:1338-41.
- Shin WH, Jeon MT, Leem E, Won SY, Jeong KH, Park SJ, McLean C, Lee SJ, Jin BK, Jung UJ, Kim SR (2015) Induction of microglial toll-like receptor 4 by prothrombin kringle-2: a potential pathogenic mechanism in Parkinson's disease. *Sci Rep* 5:14764.
- Sawada M, Imamura K, Nagatsu T (2006) Role of cytokines in inflammatory process in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 70:373-81.
- Scalzo P, de Miranda AS, Guerra Amaral DC, de Carvalho Vilela M, Cardoso F, Teixeira AL (2011) Serum levels of chemokines in Parkinson's disease. *Neuroimmunomodulation*. 18:240-4.
- Schroder K, Zhou R, Tschopp J (2010) The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger? *Science* 327:296-300.
- Shastri A, Bonifati DM, Kishore U (2013) Innate immunity and neuroinflammation. *Mediators Inflamm* 2013:342931.
- Shen R, Lin S, He L, Zhu X, Zhou Z, Chen S, Wang Y, Ding J (2019) Association of Two Polymorphisms in CCL2 With Parkinson's Disease: A Case-Control Study. *Front Neurol* 10:35.
- Smajić S, Prada-Medina CA, Landoulsi Z, Ghelfi J, Delcambre S, Dietrich C, Jarazo J, Henck J, Balachandran S, Pachcek S, Morris CM, Antony P, Timmermann B, Sauer S, Pereira SL, Schwamborn JC, May P, Grünwald A, Spielmann M (2022) Single-cell sequencing of human midbrain reveals glial activation and a Parkinson-specific neuronal state. *Brain* 145:964-78.
- Stefanova N, Fellner L, Reindl M, Masliah E, Poewe W, Wenning GK (2011) Toll-like receptor 4 promotes α -synuclein clearance and survival of nigral dopaminergic neurons. *Am J Pathol* 179:954-63.
- Stevens C, Halliday G (2014) The role of astrocyte in Parkinson's disease. In: M. Thomas (ed.) *Inflammation in Parkinson's disease: Scientific and Clinical Aspects*. 127-44. Springer.
- Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, Howell GR, Christopherson KS, Nouri N, Micheva KD, Mehallow AK, Huberman AD, Stafford B, Sher A, Litke AM, Lambris JD, Smith SJ, John SW, Barres BA (2007) The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. *Cell* 131:1164-78.
- Streit WJ (2006) Microglial senescence: does the brain's immune system have an expiration date? *Trends Neurosci* 29:506-10.
- Stewart CR, Stuart LM, Wilkinson K, van Gils JM, Deng J, Halle A, Rayner KJ, Boyer L, Zhong R, Frazier WA, Lacy-Hulbert A, El Khoury J, Golenbock DT, Moore KJ (2009) CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nat Immunol* 11:155-61.
- Suga K, Saito A, Mishima T, Akagawa K (2015) ER and Golgi stresses increase ER-Golgi SNARE Syntaxin5: Implications for organelle stress and β APP processing. *Neurosci Lett* 604:30-5.
- Sulzer D, Alcalay RN, Garrett F, Cote L, Kanter E, Agin-Liebes J, Liong C, McMurtrey C, Hildebrand WH, Mao X, Dawson VL, Dawson TM, Oseroff C,

- Pham J, Sidney J, Dillon MB, Carpenter C, Weiskopf D, Phillips E, Mallal S, Peters B, Frazier A, Lindestam Arlehamn CS, Sette A (2017) T cells from patients with Parkinson's disease recognize α -synuclein peptides. *Nature* 546:656-61.
- ・ 錫村 明生 (2017) 神経炎症におけるミクログリアの役割 *Brain and Nerve* 69:975-84.
 - ・ 高橋 和也 (2014) *臨床神経* 54:1122-4.
 - ・ Tang Y, Le W (2014) "Good" and "bad" microglia in Parkinson's disease: An understanding of homeostatic mechanism immunomodulation. In: M. Thomas (ed.) *Inflammation in Parkinson's disease: Scientific and Clinical Aspects*. 105-26. Springer.
 - ・ Terada T, Yokokura M, Yoshikawa E, Futatsubashi M, Kono S, Konishi T, Miyajima H, Hashizume T, Ouchi Y (2016) Extrastriatal spreading of microglial activation in Parkinson's disease: a positron emission tomography study. *Ann Nucl Med* 30:579-87.
 - ・ Tofaris GK (2017) A Critical Assessment of Exosomes in the Pathogenesis and Stratification of Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis* 7:569-76.
 - ・ Toyama-Sorimachi N, Kobayashi T (2021) Lysosomal amino acid transporters as key players in inflammatory diseases. *Int Immunol* 33:853-8.
 - ・ Trudler D, Nazor KL, Eisele YS, Grabauskas T, Dolatabadi N, Parker J, Sultan A, Zhong Z, Goodwin MS, Levites Y, Golde TE, Kelly JW, Sierks MR, Schork NJ, Karin M, Ambasudhan R, Lipton SA (2021) Soluble α -synuclein-antibody complexes activate the NLRP3 inflammasome in hiPSC-derived microglia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118: e2025847118.
 - ・ 常深泰司 服部信孝 (2022) パーキンソン病 *CLINICAL NEUROSCIENCE* 40:865-7.
 - ・ Uéda K, Fukushima H, Masliah E, Xia Y, Iwai A, Yoshimoto M, Otero DA, Kondo J, Ihara Y, Saitoh T (1993) Molecular cloning of cDNA encoding an unrecognized component of amyloid in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:11282-6.
 - ・ Vincent VA, Tilders FJ, Van Dam AM (1997) Inhibition of endotoxin-induced nitric oxide synthase production in microglial cells by the presence of astroglial cells: a role for transforming growth factor beta. *Glia* 19:190-8.
 - ・ Yamamori S, Itakura M, Sugaya D, Katsumata O, Sakagami H, Takahashi M (2011) Differential expression of SNAP-25 family proteins in the mouse brain. *J Comp Neurol* 519:916-32.
 - ・ 山中 宏二 (2017) ミクログリアと神経変性疾患 *Brain and Nerve* 69:999-1005.
 - ・ Yu S, Li X, Liu G, Han J, Zhang C, Li Y, Xu S, Liu C, Gao Y, Yang H, Uéda K, Chan P (2007) Extensive nuclear localization of alpha-synuclein in normal rat brain neurons revealed by a novel monoclonal antibody. *Neuroscience* 145:539-55.
 - ・ Yu E, Ambati A, Andersen MS, Krohn L, Estiar MA, Saini P, Senkevich K, Sosero YL, Sreelatha AAK, Ruskey JA, Asayesh F, Spiegelman D, Toft M, Viken MK, Sharma M, Blauwendraat C, Pihlstrøm L, Mignot E, Gan-Or Z (2021) Fine mapping of the HLA locus in Parkinson's disease in Europeans. *NPJ Parkinsons Dis* 7:84.
 - ・ Zhang Q, Fukuda M, Van Bockstaele E, Pascual O, Haydon PG (2004) Synaptotagmin IV regulates glial glutamate release. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:9441-6.
 - ・ Zhang W, Dallas S, Zhang D, Guo JP, Pang H, Wilson B, Miller DS, Chen B, Zhang W, McGeer PL, Hong JS, Zhang J (2007) Microglial PHOX and Mac-1 are essential to the enhanced dopaminergic neurodegeneration elicited by A30P and A53T mutant alpha-synuclein. *Glia* 55:1178-88.
 - ・ Zhang L, Zhang C, Zhu Y, Cai Q, Chan P, Uéda K, Yu S, Yang H (2008) Semi-quantitative analysis of alpha-synuclein in subcellular pools of rat brain neurons: an immunogold electron microscopic study using a C-terminal specific monoclonal antibody. *Brain Res* 1244:40-52.
 - ・ Zhang QS, Heng Y, Yuan YH, Chen NH (2016) Pathological α -synuclein exacerbates the progression of Parkinson's disease through microglial activation. *Toxicol Lett* 265:30-7.
 - ・ Zhou Y, Lu M, Du RH, Qiao C, Jiang CY, Zhang KZ, Ding JH, Hu G (2016) MicroRNA-7 targets Nod-like receptor protein 3 inflammasome to modulate neuroinflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Mol Neurodegener* 11:28.
 - ・ Wikipedia; ATP13A2, ATP synthase, CCL2, CCL8, CCL24, CD68, complexin, CPNE7, CXCL3, CXCL6, CXCL12, CXCL13, EMR1, endosome, GAP-43, GTP cyclohydrolase I, LAMP-1, Macrophage 1 antigen, microglia, MPTP, pentraxins, Rab3, respiratory complex I, solute carrier family 10 member 4, syntaxin,
 - ・ ウィキペディア; α -シヌクレイン, エクソソーム, エ

ンドソーム, ケモカイン, シナプシン, シナプトタグ
ミン, 主要組織適合遺伝子複合体, ミクログリア,
・脳科学辞典; α シヌクレイン (長谷川隆文 2020), エ
ンドソーム (小林穂高と福田光則 2013), ミクログリ

ア (津田 誠, 齋藤 秀俊 2016), P2X 受容体 (津田 誠
2015), SNAP-25 (高橋正身 2016), 有芯小胞 (定方
哲史 2012)

Inflammation in Parkinson's disease

— A microarray study in MPTP-treated marmosets —

Shin-ichi Iwata

Department of Nursing and Nutrition, Kagoshima Junshin University

Abstract

The cause of PD seems to be triggered by the production of substances associated with aging. The substance is associated with normal aging. However, since there are individual differences in reactions to the substance, there are cases in which PD develops at a young age, and parkinsonism becomes apparent at a very old age. One such response is inflammation. Microglia try to remove substances that accumulate with age. Since inflammation in the central nervous system refers to activation of microglia, the age-related depletion response is inflammation. Early in the inflammatory response, microglia remove the material and act protectively on neurons. However, when microglia are continuously activated, they come to act destructively on neurons. In order to prevent the onset of PD, it is important not to change the cell membrane of neurons so that they become targets for microglia. Also, the use of anti-inflammatory drugs to calm persistent inflammation may slow the progression of the disease.

MPTP-administered gene expression in the substantia nigra pars compacta of marmosets was observed over time using microarrays. In contrast to previous reports, inflammation-associated molecules were less activated and the expression of neuroprotective molecules increased.
