



ATPおよびニコチンによるミクログリアの機能調節と神経保護作用発現の分子機構

仲田 義啓、秀 和泉

(広島大学大学院・医歯薬学総合研究科・薬効解析科学)

ミクログリアは感染や傷害時に活性化され、異物や死細胞を貪食するとともに神経保護因子を放出し神経組織の修復に役割を果たす。しかし、ひとたび過剰な活性化を受けると大量の炎症性・神経傷害因子を放出し神経変性を引き起こす。これらの相反する作用は、ミクログリアに発現するさまざまな伝達物質受容体により制御されている。我々は、そのうちP2X₇受容体と $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体($\alpha 7$ 受容体)がミクログリアの神経保護作用の発現に重要な役割を果たすことを明らかにした。

(1) ミクログリアの神経保護作用発現におけるP2X₇受容体の役割

我々は、ミクログリアにおけるサイトカイン産生に注目し、神経傷害時に放出されるATPがP2X₇受容体を介してTNFを放出させることを見出した。さらに、ミクログリアと神経細胞の共培養系において、P2X₇受容体刺激薬BzATPにより活性化されたミクログリアは神経細胞をグルタミン酸毒性から保護すること、さらに、この効果はP2X₇受容体遮断薬、TNF変換酵素阻害薬、抗TNF中和抗体で抑制されたことから、P2X₇受容体活性化によりミクログリアから放出され

たTNFが神経保護作用を発揮することを明らかにした。一方、LPS刺激したミクログリアは大量のTNFを放出するが、このTNFには神経保護作用は認められなかった。TNFは高濃度ではI型TNF受容体を介して神経傷害的に、低濃度ではII型TNF受容体を介して神経保護的に働くことが報告され、LPSによるTLR4活性化が抑制の効かないTNF産生を誘導するのに対し、P2X₇受容体活性化は保護作用発現に限定する仕組みでTNF産生を行う可能性が考えられる。また、神経傷害因子として知られる一酸化窒素(NO)はLPS刺激により誘導されるが、ATP刺激では誘導されない。従って、P2X₇受容体活性化はミクログリアを神経保護にのみ向かわせる可能性が示された。

さらに、in vivoでの作用を検討する目的で、ラット中大脳動脈閉塞(MCAO)モデルへのミクログリアの脳室内投与を試みた。虚血再還流による神経細胞死および運動障害はミクログリアの脳室内投与により有意に抑制された。この効果はミクログリアのP2X₇受容体活性化により促進され、P2X₇受容体遮断薬により減弱が認められた。このことから、ミクログリアのP2X₇受容体活性化を介した神経保護作用はin vivoにおいても確認された。

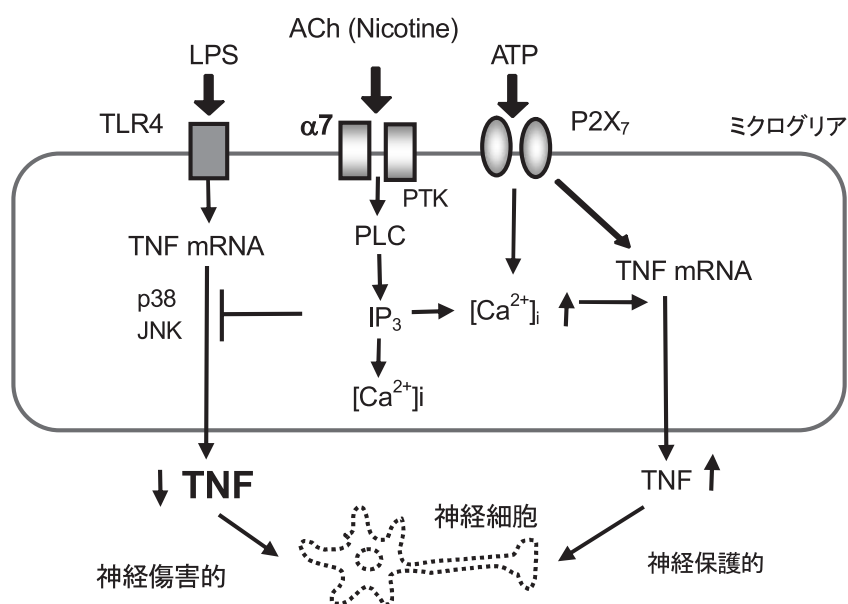


図. ミクログリアの $\alpha 7$ 受容体を介したミクログリアの神経保護機能発現の調節

$\alpha 7$ 受容体活性化は、LPS誘発TNF遊離を抑制しATP誘発TNF遊離を促進することによりミクログリアの神経保護作用の発現に役割を果たす。その機序にはイオンチャネルとは独立したPTK/PLC/IP₃経路が関与し、LPS誘発p38MAPK/JNK活性化の抑制とATP誘発Ca²⁺流入の促進を介してTNF転写後過程をそれぞれ正負に調節する。

(2) ミクログリアの神経保護作用発現における $\alpha 7$ 受容体の役割

$\alpha 7$ 受容体は神経細胞特異的に発現し、典型的なイオンチャネルとして働くと考えられてきた。しかし近年、 $\alpha 7$ 受容体はさまざまな非神経細胞にも発現することが明らかとなった。我々は、ラット脳ミクログリア初代培養細胞に $\alpha 7$ 受容体が発現すること、さらにニコチンによる $\alpha 7$ 受容体の活性化はLPS刺激によるTNF遊離を抑制する一方、ATP刺激によるTNF遊離を促進することを見出した。従って、 $\alpha 7$ 受容体はミクログリアの神経傷害的性質を抑え、保護機能を強化させる重要な役割を果たす可能性が示された。

さらに、ミクログリアにおいてニコチンは $\alpha 7$ 受容体を介して一過性の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を引き起こした。神経細胞において $\alpha 7$ 受容体は Ca^{2+} に対する透過性の高いイオンチャネルであることが知られているが、興味深いことに、ホールセルパッチを施したミクログリアではニコチン誘発カレントは検出されなかった。また、ニコチン誘発 Ca^{2+} 反応は細胞外 Ca^{2+} 非存在下でも影響を受けず、phospholipase C阻害薬U73122および IP_3 受容体遮断薬xestospongine Cにより抑制された。したがって、ミクログリアにおける $\alpha 7$ 受容体はイオンチャネルとして機能せず、むしろPLC活性化と共役する代謝型に似たシグナルを発生させる可能性が示された。ミクログリアに発現する $\alpha 7$ 受容体のcDNA配列を決定した結果、神経に発現する $\alpha 7$ 受容体と同一の構造をもつことがわかった。一方、ニコチン誘発 Ca^{2+} 反応は、Src-familyチロシンキナーゼ阻害薬PP-2により抑制された。この結果から、 $\alpha 7$ 受容体はSrc-familyチロシンキナーゼの活性化と共役し、おそらくPLC γ のリン酸化を介した活性化を引き起こし、 IP_3 産生による Ca^{2+} ストアから Ca^{2+} 遊離を引き起こす可能性が示唆された。一方、 $\alpha 7$ 受容体を介したTNF遊離調節はTNF遺伝子転写以降の過程で行われており、その機序にはこのPLC/ IP_3 / Ca^{2+} シグナルが関与していること、さらにTLR4を介したp38MAPKおよびJNK活性化を抑制し、 P2X_7 受容体を介した Ca^{2+} 流入を促進することにより、TNF産生をそれぞれ抑制・亢進の方向へ制御することが示された。

神経変性疾患や脳虚血などの病態の基盤にはミクログリアの過剰な活性化と炎症が関与することが示唆されている。本研究結果より、 P2X_7 および $\alpha 7$ 受容体を介したミクログリアの活性制御がそれらの脳疾患の治療につながる可能性が期待される。

【文献】

- 1) Suzuki T, Hide I, Ido K, Kohsaka S, Inoue K, Nakata Y. Production and release of neuroprotective TNF by P2X_7 receptor-activated microglia. J. Neurosci. 24, 1-7, (2004)
- 2) Suzuki T, Hide I, Matsubara A, Hama C, Harada K, Miyano K, Andra M, Matsubayashi H, Sakai N, Kohsaka S, Inoue K, Nakata Y. Microglial $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors drive a phospholipase C/ IP_3 Pathway and modulate the cell activation toward a neuroprotective role. J. Neurosci. Res. 83, 1461-1470 (2006)
- 3) Hisaoka K, Takebayashi M*, Tsuchioka M, Maeda N., Nakata Y, Yamawaki S. Antidepressants increase glial cell line-derived neurotrophic factor production through monoamine-independent activation of protein tyrosine kinase and extracellular signal-regulated kinase in glial cells. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 321, 148-157 (2007)
- 4) Morioka N, Abdin MJ, Kitayama T, Morita K, Nakata Y, Dohi T. P2X_7 receptor stimulation in primary cultures of rat spinal microglia induces downregulation of the activity for glutamate transport. GLIA 56, 528-538 (2008)