

＜シンポジウム 19—3＞グリア細胞と神経疾患

脱髄とオリゴデンドロサイト

伊藤 高行 堀内 真 若山 幸示 伊藤 あき David Pleasure

(臨床神経 2011;51:1036-1039)

Key words : 多発性硬化症, オリゴデンドロサイト, インターフェロン, 髄鞘再生不全, Interferon regulatory factor

1. はじめに

中枢神経は内因性の再生能に乏しく、そのために疾患ないしは外傷による組織破壊はほとんど機能修復されることなく後遺症を残す。しかし中枢神経の細胞系列中で、オリゴデンドロサイト系は比較的高い再生能を示し、それは多発性硬化症の病理像においても shadow plaque としてみとめられる。近年の研究から、脱髄後の髄鞘再生は生き残ったオリゴデンドロサイトが新たに髄鞘形成するのではなく、中枢神経で第4のグリアとも考えられる、NG2 chondroitin sulfate proteoglycan の表面マーカーで認識され、増殖能と一定の分化能を保持する細胞群が担うことがわかってきた。このNG2グリアと略称されるグリアは、成人脳の総細胞のおよそ5~8%を占め、神経発生におけるオリゴデンドロサイトの前駆細胞(OPC)にみられる細胞マーカーを発現し、成人中枢神経におけるOPCとみなすこともできる¹⁾。しかし、多発性硬化症では再発寛解をくりかえす過程でNG2グリアの髄鞘再生能にかかわらず髄鞘再生不全が進行する。その原因の一つは軸索側に、もう一つはNG2グリア側に求められる。多発性硬化症のような後天免疫の異常をともなう疾患において、主にTヘルパー1型細胞によって分泌されるガンマインターフェロンはその病態制御にきわめて重要な役割を持つ一方で、OPCに対しては細胞死、増殖抑制、分化抑制をひきおこすことが明らかになってきている。われわれはOPCをラットないしマウスの新生児脳より高い純度で分離し、その生存、増殖、分化を調節する機序について検討してきており、今回はガンマインターフェロンが直接OPCを障害する機序についてわれわれの最近の知見を紹介する。

2. ガンマインターフェロンのOPCに対する細胞障害の機序

ラットの新生児脳から、ある種のガングリオシドを認識するA2B5モノクローナル抗体をもちいて95%以上の純度でOPCを分離することができる。詳細は既報にゆずるが、このOPCをPDGF (platelet derived growth factor) と basic fibro-

blast growth factor (FGF2) の存在下で純粋培養すると、OPCはOPCの分化段階のまま活発に分裂し移動する²⁾。この培養にガンマインターフェロンを加えると、増殖抑制と細胞死が観察される。この細胞死はミトコンドリアの脱分極やカスパーゼの活性化などからアポトーシスと考えられる³⁾。一方で、多発性硬化症の再発寛解型に治療有効性がみとめられているベータインターフェロンについて同じ手法で検討すると、OPCの細胞死はみとめられなかった⁴⁾ (Fig. 1)。

そこで、ガンマインターフェロンとベータインターフェロンによって誘導される遺伝子群を比較することでOPCがガンマインターフェロンによって細胞死にいたる細胞内経路が明らかになると考えられた。インターフェロンによるOPC内での遺伝子発現は段階的に進行する⁵⁾。とくにインターフェロン暴露から30分以内に生じる第1相の遺伝子誘導は、転写活性と信号伝達を同時に担う分子であるSTATに主に依存する。ガンマインターフェロンとベータインターフェロンはこの第1相とくにSTAT1を共有するため、誘導される遺伝子群には実際かなりの重複がみられるが、Affymetrix Rat genome 230 2.0 array を使いこの第1相で誘導される遺伝子を網羅的に定量比較すると、比較的少数の遺伝子に有為な差がみとめられた。ガンマインターフェロンによって有為に高い発現が誘導される上位2つがInterferon regulatory factor 1 (IRF1) と IRF8であった。両者は特徴的なDNA結合ドメインをもつ転写因子群であるIRFファミリーに分類され、このメンバーの発現の違いがこれらの転写活性に依存する第2相以降の遺伝子転写の差となり、OPCを細胞死に導くことが強く示唆された。実際にOPCにおけるガンマインターフェロンとベータインターフェロンによるすべてのIRFファミリーメンバーのmRNA誘導の違いを比較定量したものがFig. 2であるが、IRF1とIRF8はガンマインターフェロンによりより強く誘導され、反対にIRF7はベータインターフェロンで強く誘導される。次に、ガンマインターフェロンによるIRF1の発現増加が実際にOPCに細胞死をもたらすかをIRF1の強制発現系をもちいて検討したところ、IRF1単独の強制発現のみでOPCのアポトーシスがみられた。一方でIRF1のドミナントネガティブ蛋白を強制発現させるとガンマインターフェロンによる細胞死が有為に抑制され、これらより

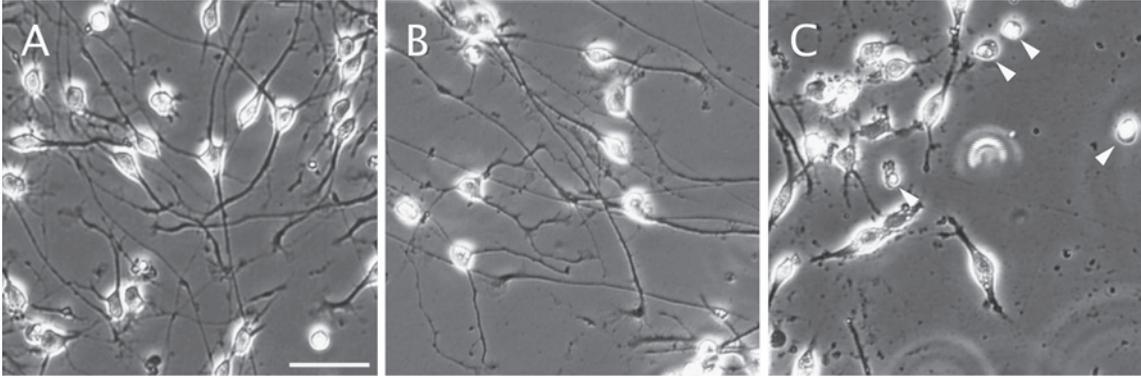


Fig. 1 ガンマイインターフェロンはオリゴデンドロサイトの前駆細胞の細胞死をひき起こすが、一方ベータインターフェロンでは細胞死は生じない。
 ガンマイインターフェロン (100 ng/ml, IFNG, C), ベータインターフェロン (1,000 U/ml, IFNB, B) あるいは培養液のみ (Control, A) を前駆細胞の培養に加えて48時間経過後の写真。白矢印は死細胞を示す。白線は50 μ m。

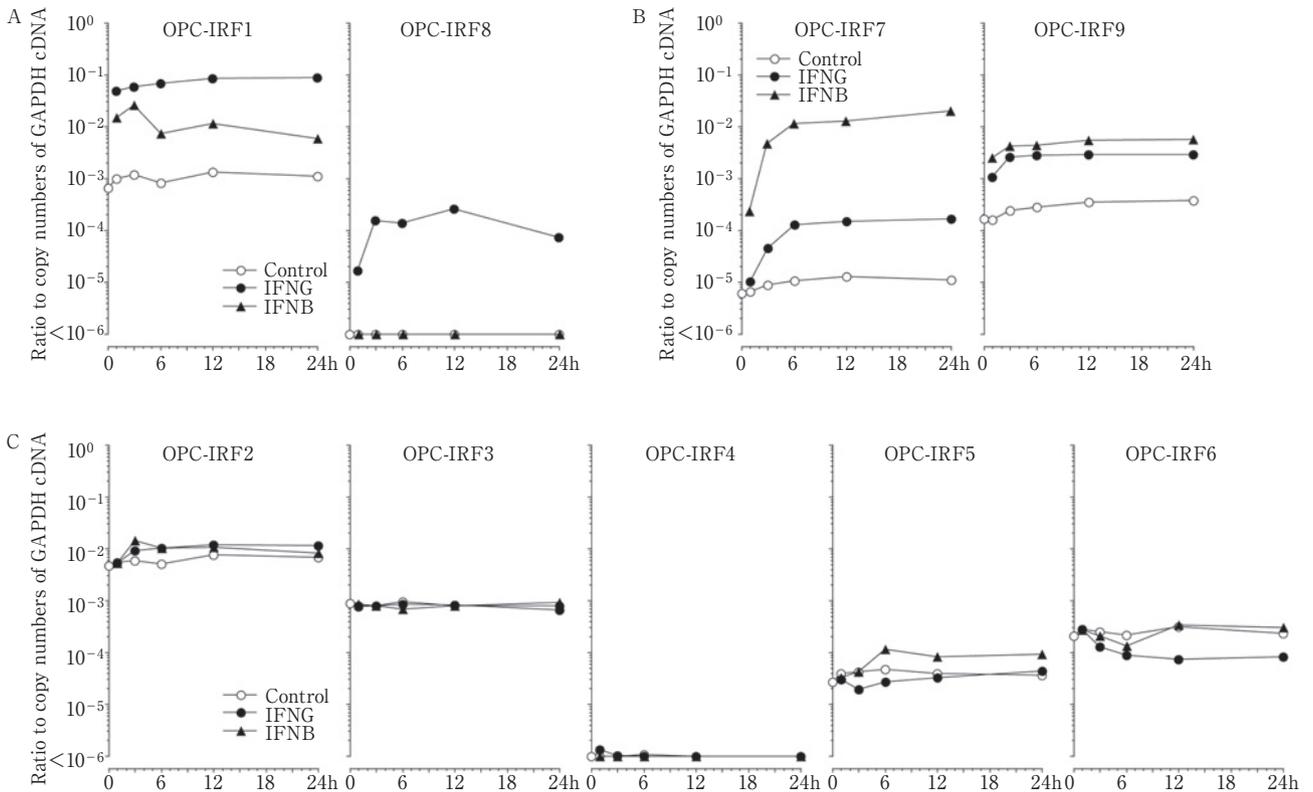


Fig. 2 オリゴデンドロサイトの前駆細胞におけるガンマイインターフェロンあるいはベータインターフェロン刺激によるIRF転写因子ファミリーのすべてのメンバーのmRNA誘導の経時変化。ガンマイインターフェロン (100 ng/ml, IFNG), ベータインターフェロン (1,000 U/ml, IFNB) あるいは培養液のみ (Control) を前駆細胞の培養に加え、時間毎のmRNA量を定量的PCRで測定し、さらにglyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) のmRNA量との比を計算し標準化した。Y軸は対数プロットで、また0時間はコントロールのデータのみを示した。ガンマイインターフェロンにより強く誘導されるグループ (A), ベータインターフェロンにより強く誘導されるグループ (B), インターフェロンによる変化が少ないグループ (C) に分けられる。

少なくともIRF1による転写誘導がOPCの細胞死に関与していると結論された⁴⁾。さらに興味深いことは、このガンマイ

インターフェロンによる細胞死はミエリンを産生している成熟したオリゴデンドロサイトにはみられない。にもかかわらず、

成熟後のオリゴデンドロサイトはガンマインターフェロンに反応して OPC と同程度に IRF1 を発現することから, IRF1 による転写誘導に加えて細胞周期や分化に関連する機構が OPC の細胞死と密接にリンクしていると考えられる。

3. 今後の課題

われわれはガンマインターフェロンが OPC に直接的な細胞死をひきおこし, それに IRF1 がかわることを *in vitro* で示したが, 実際の神経炎症でこの機序がどこまで髄鞘再生不全に関与するかは, 神経炎症の動物モデルでさらに検証されなければならない。しかし, ガンマインターフェロンは神経炎症の惹起や進展に直接かわる免疫系を制御する重要な因子であるため, ガンマインターフェロンの免疫系に対する作用と OPC に対する作用を分離して検討できる巧妙な動物モデルの開発が必要となると考えられる。今回の発表直後に IRF1 のドミナントネガティブ蛋白をオリゴデンドロサイトにのみ強制発現させたトランスジェニックマウスでは, マウスの多発性硬化症モデルとみなされる実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の臨床症状が著明に軽減するという報告がなされた⁶⁾。われわれの結果を一面で支持するものではあるが, オリゴデンドロサイト自身のガンマインターフェロンに対する反応が神経炎症そのものの惹起や進展に直接関与することを示唆するものでもあり, この結果の解釈については別のモデルをもちいた慎重な再検討が必要となると考えられる。また, これらの研究の一つのゴールは髄鞘再生不全の治療法開発にあり, OPC でこの機序を遮断できる臨床応用の可能な手段に

ついでの検討も将来的に重要な課題である。

文 献

- 1) Nishiyama A, Komitova M, Suzuki R, et al. Polydendrocytes (NG2 cells): multifunctional cells with lineage plasticity. *Nat Rev Neurosci* 2009;10:9-22.
- 2) Horiuchi M, Lindsten T, Pleasure D, et al. Differing *in vitro* survival dependency of mouse and rat NG2⁺ oligodendroglial progenitor cells. *J Neurosci Res* 2010;88:957-970.
- 3) Horiuchi M, Itoh A, Pleasure D, et al. MEK-ERK signaling is involved in interferon-gamma-induced death of oligodendroglial progenitor cells. *J Biol Chem* 2006;281:20095-20106.
- 4) Horiuchi M, Itoh A, Pleasure D, et al. Cooperative contributions of interferon regulatory factor 1 (IRF1) and IRF8 to interferon- γ -mediated cytotoxic effects on oligodendroglial progenitor cells. *J Neuroinflammation* 2011;8:8.
- 5) Itoh T, Horiuchi M, Itoh A. Interferon-triggered transcriptional cascades in the oligodendroglial lineage: a comparison of induction of MHC class II antigen between oligodendroglial progenitor cells and mature oligodendrocytes. *J Neuroimmunol* 2009;212:53-64.
- 6) Ren Z, Wang Y, Tao D, et al. Overexpression of the dominant-negative form of interferon regulatory factor 1 in oligodendrocytes protects against experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci* 2011;8329-8341.

Abstract**Demyelination and oligodendrocytes**

Takayuki Itoh, M.D., Ph.D., Makoto Horiuchi, Ph.D., Kouji Wakayama, M.D., Ph.D.,

Aki Itoh, Ph.D. and David Pleasure, M.D.

Department of Neurology/Shriners Hospitals for Children Northern California,

University of California Davis, School of Medicine

Although neurological sequelae are attributable to poor regeneration of the central nervous system, oligodendrocytes demonstrate robust regenerative response even in adults. Accumulating evidence indicates that the glial cells identified by surface expression of the proteoglycan NG2 are the cellular source of newly-developed oligodendrocytes following demyelination, and thereby considered adult oligodendroglial progenitor cells (OPCs). Despite their robust regenerative capability, remyelination often ends up in failure or is incomplete, particularly after recurrent neuroinflammation, which is referred to as “remyelination failure”. While axonal degeneration may contribute to remyelination failure, OPCs are also affected by neuroinflammation. Indeed, various studies have indicated that gamma-interferon, a proinflammatory cytokine associated with autoimmunity, is cytotoxic to OPCs by inducing cell death, and inhibiting their proliferation and differentiation. In contrast to gamma-interferon, we confirmed that beta-interferon which is used for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis does not induce OPC death. Through a comprehensive analysis of gamma-interferon-inducible and beta-interferon-inducible genes in OPCs, we have identified interferon regulatory factor-1 and -8 (IRF1 and IRF8) as candidate transcription factors responsible for gamma-interferon-mediated cytotoxicity in OPCs. Validating and elaborating on these findings particularly in *in vivo* models may prove of importance in understanding remyelination failure and suggest therapeutic approaches to enhance remyelination.

(Clin Neurol 2011;51:1036-1039)

Key words: multiple sclerosis, oligodendrocyte, interferon, remyelination failure, interferon regulatory factor
