

研究成果報告

研究課題 脳免疫におけるニコチン受容体の機能解明と脳疾患細胞治療戦略への応用

研究期間 2018年7月1日～2021年3月31日

1)研究目的

脳のニコチン性アセチルコリン受容体（ニコチン受容体）は、神経細胞や脳免疫担当細胞ミクログリアに発現しており、その機能制御に働く。ニコチン受容体は細胞の分化にも関与することが示唆されているが、脳細胞の発生・分化に対する役割は不明である。本研究では、パーキンソン病（PD）に関連の深い黒質ドパミン神経細胞や、アルツハイマー病（AD）などの脳疾患への関与が注目されるミクログリアについて、その発生や分化に対するニコチン受容体の役割について検討を行った。また、幹細胞由来ミクログリア様細胞の移植による脳疾患細胞治療法の可能性についても解析した。

2)実施内容

マウス胚性幹細胞やヒト人工多能性幹細胞を用いてミクログリア前駆細胞やドパミン神経細胞を分化誘導し、その過程でニコチン受容体を刺激／遮断することで、ミクログリアやドパミン神経サブポピュレーションの発生・分化への影響を解析した。また、PD 病態形成機序の解析や薬物スクリーニングを可能とするための *in vitro* 黒質-線条体細胞モデルの構築を試みた。一方、骨髄細胞由来ミクログリア様（BMDML）細胞が産生する液性因子の作用について、マウス初代培養ミクログリアを用いて解析し、さらに BMDML 細胞を AD モデルマウス脳に移植して発症原因物質アミロイド β ($A\beta$) の脳内除去作用についてその治療効果を評価した。

3)研究成果

本研究では、ミクログリアやドパミン神経への分化誘導において、ニコチン受容体に関与する可能性を見出した。また、PD 病態を再現する *in vitro* 黒質-線条体細胞モデルの構築を目的とした線条体 GABA 神経細胞の分化誘導に成功し、一方、BMDML 細胞が TGF β 1 を分泌して脳内 $A\beta$ 除去を促進することを示した。また、AD 診断・治療におけるミクログリアやニコチン受容体イメージングの重要性をまとめた。本研究で得られた成果は、Molecules 誌、Biochem Pharmacol 誌、Stem Cell Res 誌、Neuroscience 誌等に掲載され、日本認知症学会、日本薬学会、日本薬理学会等で発表した。

4)研究組織

<本学>

研究代表者 高田 和幸 （京都薬科大学・薬学部・教授）

研究分担者 西村 周泰 （京都薬科大学・薬学部・助教）

<共同研究先>

研究代表者 下濱 俊 （札幌医科大学・医学部・教授）

成果発表

1)原著論文

Kazuyuki Takata, Hiroyuki Kimura, Daijiro Yanagisawa, Koki Harada, Kaneyasu Nishimura, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, Ikuo Tooyama. Nicotinic acetylcholine receptors and microglia as therapeutic and imaging targets in Alzheimer's disease. *Molecules*, 査読あり, 27, 2780, 2022.

Roles of microglia in Alzheimer's disease and impact of new findings on microglial heterogeneity as a target for therapeutic intervention. Kazuyuki Takata, Florent Ginhoux, Shun Shimohama. *Biochem. Pharmacol.*, 査読あり, 192, 114754, 2021.

Generation of striatal neurons from human induced pluripotent stem cells by controlling extrinsic signals with small molecules. Naoya Amimoto, Kaneyasu Nishimura, Shun Shimohama, Kazuyuki Takata. *Stem Cell Res.*, 査読あり, 55, 102486, 2021.

Mouse bone marrow-derived microglia-like cells secrete transforming growth factor- β 1 and promote microglial A β phagocytosis and reduction of brain A β . Eriko Kuroda, Kaneyasu Nishimura, Shohei Kawanishi, Mari Sueyoshi, Fumitaka Ueno, Yumiko Toji, Naoko Abo, Toko Konishi, Koki Harada, Shiho Satake, Chiaki Shima, Yuki Toda, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, Eishi Ashihara, Kazuyuki Takata. *Neuroscience*, 査読あり, 438, 217-228, 2020.

高田和幸, 西村周泰, 下濱俊. アルツハイマー病治療薬開発標的としての $\alpha 7$ ニコチン受容体サブタイプの機能. *日本神経薬学会誌*, 査読あり, 3, 12-17, 2019.

2)産業財産権 該当なし

3)招待講演

高田和幸, 幹細胞由来ミクログリア様細胞を用いた認知症細胞治療戦略, 第37回日本認知症学会学術集会(会長:下濱 俊), 札幌, 2018.10.

4)学会発表

原田考輝, 西村周泰, 下濱 俊, 高田和幸, マウス胚性幹細胞由来原始マクロファージの分化過程におけるニコチン性アセチルコリン受容体の機能解析, 次世代を担う若手のための創薬・医療薬理シンポジウム2021, 北海道(ハイブリッド), 2021.8.

加藤丈使, 原田考輝, 西村周泰, 平尾真大, 下濱 俊, 高田和幸, iPS細胞由来ドパミン神経細胞およびマクロファージの分化過程におけるニコチン性アセチルコリン受容体の発現解析, 日本薬学会第141年会, 広島(オンライン), 2021.3.

原田考輝, 加藤丈使, 西村周泰, 平尾真大, 下濱 俊, 高田和幸, iPS 細胞由来マクロファージおよびドパミン神経の分化におけるアセチルコリン受容体の役割, 第 94 回日本薬理学会年会, 札幌 (ハイブリッド), 2021.3.

末吉真梨, 西村周泰, 芦原英司, 下濱 俊, 高田和幸, 認知症の細胞治療戦略開発に向けた幹細胞由来ミクログリア様細胞の機能解析とその制御, 第 39 回日本認知症学会, 名古屋 (ハイブリッド), 2020.11.

末吉真梨, 西村周泰, 芦原英司, 下濱 俊, 高田和幸, 骨髄幹細胞由来ミクログリア様細胞の機能解析と $\alpha 7$ ニコチン受容体刺激による機能制御, 第 138 回日本薬理学会近畿部会, 大阪 (オンライン), 2020.11.

末吉真梨, 西村周泰, 北村佳久, 芦原英司, 下濱 俊, 高田和幸, 骨髄細胞由来ミクログリア様細胞のミクログリアとの相互作用ならびにニコチン受容体刺激による機能制御の解析, 第 70 回日本薬学会関西支部大会, 草津 (オンライン), 2020.10.

高田和幸, 黒田絵莉子, 河西翔平, 末吉真梨, 植野文貴, 西村周泰, 戸田侑紀, 北村佳久, 下濱 俊, 芦原英司, 骨髄造血幹細胞由来ミクログリア様細胞から分泌される TGF- $\beta 1$ による内在性ミクログリアの A β 貪食の促進, 生体機能と創薬シンポジウム 2019, 東京, 2019.8.

植野文貴, 高田和幸, 黒田絵莉子, 河西翔平, 末吉真梨, 西村周泰, 戸田侑紀, 北村佳久, 下濱 俊, 芦原英司, アルツハイマー病細胞治療戦略の開発を目指した骨髄由来細胞が分泌する液性因子のミクログリアへの作用解析, 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019, 東京, 2019.8.

高田和幸, 黒田絵莉子, 河西翔平, 植野文貴, 西村周泰, 戸田侑紀, 北村佳久, 下濱 俊, 芦原英司, マウス骨髄由来細胞からの TGF- $\beta 1$ の分泌によるミクログリアの A β 貪食の促進, NEURO2019, 新潟, 2019.7.

高田和幸, 黒田絵莉子, 北村佳久, 下濱 俊, 芦原英司, 神経細胞, ミクログリアならびに骨髄由来ミクログリア様細胞に対するアルツハイマー病の治療標的としてのニコチン受容体の作用, 第 92 回日本薬理学会年会, 大阪, 2019.3.

高田和幸, 戸田侑紀, 西村周泰, 下濱 俊, 芦原英司, 認知症の克服に向けた脳ニコチン受容体刺激の機能解析, 第 8 回 4 大学連携研究フォーラム, 京都, 2018.11.

末吉真梨, 高田和幸, 河西翔平, 黒田絵莉子, 武上茂彦, 北出達也, 戸田侑紀, 北村佳久, 下濱 俊, 芦原英司, $\alpha 7$ ニコチン受容体特異的刺激による γ -セクレターゼ活性の抑制とミクログリアの貪食

機能促進およびアルツハイマー病モデルマウスにおける認知機能改善, 第 12 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 札幌, 2018.9.

Kazuyuki Takata, Shohei Kawanishi, Eriko Kuroda, Shigehiko Takegami, Tatsuya Kitade, Yuki Toda, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, and Eishi Ashihara, Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-specific stimulation ameliorates cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease via suppression of neuronal γ -secretase activity and promotion of microglial amyloid- β phagocytosis. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Kyoto, 2018.7.