

ミクログリアの活性化と形質を制御する IRF 転写因子ファミリー

増田 隆博¹, 津田 誠², 井上 和秀³

1. はじめに

ミクログリア細胞は、神経細胞や他のグリア細胞（アストロサイトやオリゴデンドロサイトなど）とともに中枢神経系組織（脳や脊髄）を構成する免疫細胞である¹⁾。普段は、周囲に張り巡らせた突起を常時伸縮させながら周囲環境を監視しており、異物や細胞片などの「ゴミ」を感知した際には、それらを貪食し細胞内で分解除去する。つまりは中枢神経系組織の恒常性維持において重要な役割を果たしている。また、神経変性やウイルス感染といった「異常」を感知した際には、形態変化や細胞増殖、種々の遺伝子発現変化を伴って活性化型へと表現型移行し、その異常に対して適応応答する。一方で、ミクログリアの活性化は時として組織内の恒常性を崩壊させ、アルツハイマー病や多発性硬化症、パーキンソン病や神経障害性疼痛といった種々の中枢神経疾患発症に関与することも知られている。ミクログリアの表現型は、組織環境などの細胞外要素に大きく影響を受けるが、細胞内ではさまざまな転写因子がその表現型移行を厳密に制御している。interferon regulatory factor (IRF) ファミリー転写因子は、9種類のサブタイプ (IRF1~9) が存在しており²⁾、その多くがミクログリアに発現し重要な機能を担っていることが明らかになってきた。本稿では、ミクログリア細胞の表現型および機能を制御する IRF ファミリー転写因子に関して、筆者らの研究成

果を交えて最近の知見を紹介する。

2. ミクログリア細胞における IRF8

IRF8は、マクロファージやB細胞といった末梢免疫系細胞において重要な役割を果たしていることが知られていたが²⁾、近年ミクログリアにおいてもさまざまな機能を担っていることが明らかになってきた³⁻⁶⁾。

末梢神経に損傷を加えることによって作製した神経障害性疼痛モデル動物の脊髄内では、ミクログリアの活性化が観察され⁷⁾、活性化したミクログリア内ではIRF8が顕著に発現増加する³⁾。レンチウイルスベクターを用いて培養ミクログリア細胞にIRF8を強制発現させると、ミクログリアのマーカー分子であるIba1や、疼痛発症に重要な役割を果たしているP2X4受容体などのさまざまな受容体に加え、炎症性サイトカインなどの生理活性因子の顕著な発現増加が誘導され、モデル動物の脊髄ミクログリアが示す表現型を模倣することができる³⁾。興味深いことに、IRF8を発現増加させたミクログリア細胞を正常動物の脊髄腔内に注入することにより疼痛行動が惹起される³⁾。また、神経損傷を施したIRF8欠損マウスにおいては、野生型マウスで観察されるような脊髄内におけるミクログリア関連遺伝子の発現増加が顕著に抑制されるとともに³⁾、神経損傷に起因して生じる疼痛行動も抑制される³⁾。以上の結果から、IRF8は神経障害性疼痛を誘発する活性化ミクログリアの形成において重要な役割を果たしていると考えられる(図1)。さらに最近、多発性硬化症モデル動物の病巣部においてもIRF8を発現した活性化ミクログリアが観察され、インターロイキン12 (interleukin 12: IL-12) の発現増加を介して病状の悪化に寄与していることが明らかになった⁵⁾。他の神経障害モデル（舌下神経切断モデルやカイニン酸モデル）においても、IRF8を高発現した活性化ミクログリアが観察されることを考慮すると³⁾、IRF8は神経障害に応答して起こるミクログリアの活性化を広範に制御している転写因子であると考えられる(図1)。

一方、ミクログリアはさまざまな化学誘引物質に対して走化性を示す。代表的なものとしてアデノシン5'-三リン酸 (adenosine 5'-triphosphate: ATP) や補体C5aが知られているが、ミクログリアはそれらの濃度勾配に従って高濃度方向に細胞遊走する⁶⁾。興味深いことに、IRF8を欠損した

¹ フライブルク大学神経病理学研究所 (ドイツ フライブルク ブライザッカー通り 64 神経センター)

² 九州大学大学院薬学研究院ライフイノベーション分野 (福岡県福岡市東区馬出 3-1-1)

³ 九州大学大学院薬学研究院薬理学分野 (福岡県福岡市東区馬出 3-1-1)

Role of IRF transcription factor family in regulating reactive phenotype of microglia

Takahiro Masuda¹ Makoto Tsuda² and Kazuhide Inoue³ (¹University of Freiburg, Institute of Neuropathology, Neurozentrum, Breisacherstr. 64, D-79106 Freiburg, Germany, ²Department of Life Innovation, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan, ³Department of Molecular and System Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2016.880124

© 2016 公益社団法人日本生化学会

ミクログリア細胞は、野生型ミクログリア細胞に比べ、その遊走能が有意に抑制される⁶⁾。IRF8欠損ミクログリア細胞を用いた遺伝子発現解析の結果、遊走に関わるさまざまな遺伝子の発現が野生型に比べ顕著に抑制されていることが明らかになった⁶⁾。つまり、IRF8はミクログリアの遊走能を転写レベルで制御している。一方、IRF8を消失したミクログリア細胞は、貪食能も低下する⁴⁾。その詳細なメカニズムは不明であるが、IRF8が貪食に関与する遺伝子の発現も制御しているかもしれない。

ミクログリアの前駆細胞として知られる卵黄嚢の原始マクロファージは、発生初期にA1細胞へと分化し、そし

てA2細胞へと機能的に成熟して、最終的に中枢神経系組織内に移行しミクログリア細胞として定着する⁸⁾。その過程で、さまざまな転写因子がミクログリアの形成に関与することが明らかになっているが、なかでもIRF8が消失するとA1細胞からA2細胞への成熟が阻害され、正常なミクログリア細胞は形成されない⁸⁾。つまり、IRF8はミクログリアの発生過程においても非常に重要な役割を果たしている。

3. 活性化ミクログリア細胞の表現型を決定する IRF5

IRF5は、炎症を誘発するM1型マクロファージの形成において重要な役割を果たす転写因子である⁹⁾。筆者らは最近、神経障害性疼痛モデル動物の脊髄において、IRF5が活性化したミクログリア内で発現増加することを明らかにした¹⁰⁾。IRF5は、刺激依存的に活性化し核内移行したのち転写活性を示すが、ミクログリアにおけるIRF5の活性化メカニズムは不明であった。そこでIRF5の活性化誘導因子を探索したところ、細胞外マトリックス分子であるフィブロネクチン刺激によってIRF5が核内移行することがわかった¹⁰⁾。細胞運動や遺伝子発現を制御する因子として知られるフィブロネクチンは、疼痛モデル動物の脊髄内において顕著に発現増加し、ミクログリアのP2X4受容体（細胞外ATPで活性化する非選択的陽イオンチャネルの一つで、神経障害性疼痛に必須である⁷⁾）を発現誘導することが明らかになっていた⁷⁾。興味深いことに、フィブロネクチンによって核内移行したIRF5は、P2X4受容体のプロモーター領域に結合し、その発現を直接制御していることが明らかになった¹⁰⁾。この結果と一致して、IRF5欠損マウスにおいては神経損傷後の脊髄内でP2X4受容体の発現増加が観察されず、疼痛行動も顕著に抑制された¹⁰⁾。一方、IRF5の発現増加は、先行して発現増加したIRF8によって直接制御されていることも明らかになった¹⁰⁾。以上の結果から、疼痛発症に関与するP2X4受容体を高発現

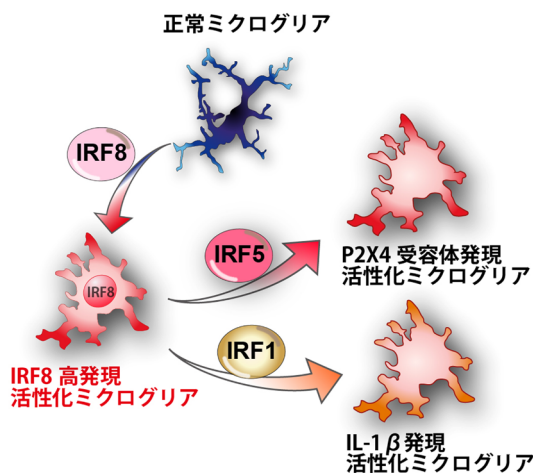


図1 IRF転写因子ファミリーによるミクログリアの表現型制御

神経損傷後の脊髄ミクログリア内では、IRF8が発現増加する。IRF8は、IRF1やIRF5を含めさまざまな因子の発現誘導を介してミクログリアを活性化状態へと移行させる。発現増加したIRF1はインターロイキン1 β (IL-1 β) を、IRF5はP2X4受容体の発現誘導を担う。この結果、IRF1を発現増加したミクログリアはIL-1 β を高発現したミクログリアとなり、またIRF5を発現増加したミクログリアはフィブロネクチン刺激によりP2X4受容体を高発現したミクログリア細胞として疼痛発症に関与する(図2参照)。

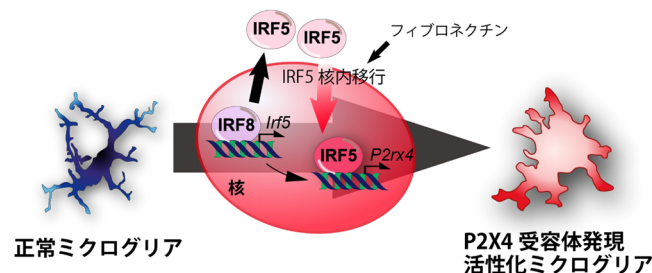


図2 IRF8-IRF5転写因子軸によるP2X4受容体高発現活性化ミクログリアの形成

神経損傷後の脊髄ミクログリアにおいて、IRF8依存的にIRF5が発現増加する。フィブロネクチン刺激により活性化したIRF5は、核内移行しP2X4受容体のプロモーター領域に結合して直接転写活性化を行う。つまり、転写因子IRF8-IRF5軸はP2X4受容体高発現ミクログリアの形成に重要な役割を果たしている。

した活性化ミクログリアの形成過程において、IRF8-IRF5転写因子ネットワークが重要な役割を果たしていると考えられる（図1および2）。

4. 炎症性ミクログリアを形成する IRF1

IRF1は生体内のさまざまな細胞においてユビキタスに発現する転写因子で、ミクログリアにも発現している¹¹⁾。筆者らは、神経損傷モデル動物の脊髄内で活性化したミクログリアにおいて、IRF8やIRF5と同様に、IRF1が発現増加することを見いだした¹¹⁾。その発現増加は、IRF8欠損マウスにおいてはほぼ完全に消失し、また培養ミクログリア細胞に対してIRF8を遺伝子導入することによりIRF1が発現増加することから¹¹⁾、IRF8がIRF1の上流遺伝子として発現を制御しているものと考えられる。前述のとおり、IRF8が発現増加したミクログリア細胞は、IRF1以外にもさまざまな機能分子を発現増加するが、同時にIRF1をノックダウンすると炎症性サイトカインIL-1 β の発現が顕著に抑制される¹¹⁾。一方で、P2X4受容体等の他の因子に関しては、ほとんど影響を受けない¹¹⁾。また、ミクログリア細胞に対してIRF1を遺伝子導入することでもIL-1 β の発現増加が観察されることから¹¹⁾、IRF1は活性化したミクログリア内でIL-1 β の発現制御を担っているものと考えられる（図1）。一方、IFN- γ の刺激により活性化したミクログリア細胞は一酸化窒素（nitric oxide：NO）等の炎症性因子を産生放出するが、それらはIRF1欠損ミクログリア細胞において顕著に抑制される¹²⁾。以上の結果は、IRF1がミクログリアの炎症性応答を誘発するために重要な役割を果たしていることを示唆している。

5. ミクログリアにおける IRF7の役割

正常状態のミクログリアは、中枢神経系組織内で恒常的にtransforming growth factor- β （TGF- β ）シグナルを受容し、その機能を維持している¹³⁾。また、詳細なメカニズムは不明であるがその持続的なシグナルによってミクログリア内のIRF7発現は恒常的に抑制されており¹³⁾、IRF7発現が抑制されたミクログリアは、抗炎症型として知られるM2型の表現型を獲得できない¹³⁾。一方、I型インターフェロンであるIFN- β は、その受容体であるIFNAR1を介してJAK（Janus kinase）-STAT（signal transducer and activator of transcription）シグナルカスケードを活性化し、IRF7を発現誘導することが知られている。興味深いことに、IFN- β を処置することによりミクログリア内のIRF7発現を補完すると、ミクログリアはM2型の表現型を獲得する¹³⁾。つまり、IRF7はミクログリア内でM2型の表現型獲得を制御していると考えられる。M2型細胞が症状を抑制して

いると考えられている多発性硬化症モデル動物において、IRF7を欠損すると症状が顕著に悪化する¹⁴⁾という結果からもこれらの考えが支持される。しかし一方で、M2型からM1型ミクログリアへのスイッチングにおいて、発現増加したIRF7が重要な役割を果たしているというまったく逆の結果も最近報告された¹⁵⁾。そのため、ミクログリアにおけるIRF7の役割に関しては今後さらなる解析が必要である。また、マクロファージでのM1/M2という分類がミクログリア細胞の分類として可能かどうか依然として議論される点であり、今後の重要な課題である。

6. まとめ

本稿では、ミクログリアの活性化と形質を制御するIRFファミリー転写因子の役割について、主に最近の知見を概説した。ミクログリアは、さまざまな中枢神経系疾患の病態形成のみならず、記憶形成等のさまざまな生理機能にも関与することが明らかになってきており、中枢神経系組織の機能を正確に理解する上で無視することのできない存在となった¹⁾。最近では、IRFファミリー転写因子以外にもミクログリアの形質および表現型を制御するさまざまな細胞内メカニズムが明らかになってきており、その複雑かつ華麗な制御機構には驚かされるばかりである。今後さらなる研究が進み、ミクログリアの新たな機能が明らかになるとともに、ミクログリアをターゲットにした創薬・疾患治療法が創出されることを心から望みたい。

謝辞

本稿で紹介した研究内容は、九州大学大学院薬学研究院薬理学分野およびライファイノペーション分野で行われました。また、研究を遂行するにあたり、横浜市立大学大学院医学研究科の田村智彦教授をはじめ多くの先生方のご支援を賜りました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Salter, M.W. & Beggs, S. (2014) *Cell*, **158**, 15–24.
- 2) Tamura, T., Yanai, H., Savitsky, D., & Taniguchi, T. (2008) *Annu. Rev. Immunol.*, **26**, 535–584.
- 3) Masuda, T., Tsuda, M., Yoshinaga, R., Tozaki-Saitoh, H., Ozato, K., Tamura, T., & Inoue, K. (2012) *Cell Reports*, **1**, 334–340.
- 4) Horiuchi, M., Wakayama, K., Itoh, A., Kawai, K., Pleasure, D., Ozato, K., & Itoh, T. (2012) *J. Neuroinflammation*, **9**, 227.
- 5) Yoshida, Y., Yoshimi, R., Yoshii, H., Kim, D., Dey, A., Xiong, H., Munasinghe, J., Yazawa, I., O'Donovan, M.J., Maximova, O.A., Sharma, S., Zhu, J., Wang, H., Morse, H.C. 3rd, & Ozato, K. (2014) *Immunity*, **40**, 187–198.
- 6) Masuda, T., Nishimoto, N., Tomiyama, D., Matsuda, T., Tozaki-Saitoh, H., Tamura, T., Kohsaka, S., Tsuda, M., & Inoue, K.

- (2014) *Purinergic Signal.*, **10**, 515–521.
- 7) Tsuda, M., Masuda, T., Tozaki-Saitoh, H., & Inoue, K. (2013) *Front. Cell. Neurosci.*, **7**, 191.
 - 8) Kierdorf, K., Erny, D., Goldmann, T., Sander, V., Schulz, C., Perdiguer, E.G., Wieghofer, P., Heinrich, A., Riemke, P., Hölscher, C., Müller, D.N., Luckow, B., Bockler, T., Debowski, K., Fritz, G., Opdenakker, G., Diefenbach, A., Biber, K., Heikenwalder, M., Geissmann, F., Rosenbauer, F., & Prinz, M. (2013) *Nat. Neurosci.*, **16**, 273–280.
 - 9) Krausgruber, T., Blazek, K., Smallie, T., Alzabin, S., Lockstone, H., Sahgal, N., Hussell, T., Feldmann, M., & Udalova, I.A. (2011) *Nat. Immunol.*, **12**, 231–238.
 - 10) Masuda, T., Iwamoto, S., Yoshinaga, R., Tozaki-Saitoh, H., Nishiyama, A., Mak, T.W., Tamura, T., Tsuda, M., & Inoue, K. (2014) *Nat. Commun.*, **5**, 3771.
 - 11) Masuda, T., Iwamoto, S., Mikuriya, S., Tozaki-Saitoh, H., Tamura, T., Tsuda, M., & Inoue, K. (2015) *J. Pharmacol. Sci.*, **128**, 216–220.
 - 12) Lee, J., Hur, J., Lee, P., Kim, J.Y., Cho, N., Kim, S.Y., Kim, H., Lee, M.S., & Suk, K. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 32956–32965.
 - 13) Cohen, M., Matcovitch, O., David, E., Barnett-Itzhaki, Z., Keren-Shaul, H., Blecher-Gonen, R., Jaitin, D.A., Sica, A., Amit, I., & Schwartz, M. (2014) *EMBO J.*, **33**, 2906–2921.
 - 14) Salem, M., Mony, J.T., Lobner, M., Khorosh, R., & Owens, T. (2011) *J. Neuroinflammation*, **8**, 181.
 - 15) Tanaka, T., Murakami, K., Bando, Y., & Yoshida, S. (2015) *Glia*, **63**, 595–610.

著者寸描

●増田 隆博 (ますだ たかひろ)



フライブルク大学神経病理学研究所客員研究員 (日本学術振興会海外特別研究員)。博士 (薬学)。

■略歴 2006年九州大学薬学部卒業。11年同大学院薬学府博士課程修了・学位取得。11～12年同大学薬学研究院薬理学分野研究員 (CREST)。12～14年同分野特任助教。15年1～5月同研究院ライフサイエンス分野助教を経て、現職。

■研究テーマと抱負 脳や脊髄といった中枢神経系組織内で免疫機能を担っているミクログリア細胞の特性・機能解明を介して、中枢神経系疾患の新たな治療戦略確立に貢献したい。

■ウェブサイト <http://www.uniklinik-freiburg.de/neuropathologie>

■趣味 サッカー、釣り、麻雀、マラソン。

●津田 誠 (つだ まこと)

九州大学大学院薬学研究院ライフサイエンス分野教授。博士 (薬学)。

■略歴 1998年星薬科大学薬学研究科博士課程修了。99年JST特別研究員。2002年トロント小児病院博士研究員。04年厚生労働省入省 (国立医薬品食品衛生研究所)。05年九州大学薬学研究院助手。06年助教授。14年より現職。

■研究テーマと抱負 グリア細胞を切り口にした痛みや痒みなどの感覚機能の制御と破綻に関する研究および脳神経疾患に関する研究。生体のホメオスタシスとその破綻による疾患の仕組みの理解に向けた分子～細胞～個体レベルの包括的な研究を目指す。

■ウェブサイト <http://life-innov.phar.kyushu-u.ac.jp/>

■趣味 ドライブ、書道、カラオケ、スキー。

●井上 和秀 (いのうえ かずひで)

九州大学大学院薬学研究院薬理学分野教授。薬学博士。

■略歴 1975年九州大学大学院薬学研究科修了。78年厚生省入省 (国立衛生試験所)。85～87年米国国立衛生研究所客員研究員。91～92年英国ロンドン単科大学名誉客員研究員。2002年国立医薬品食品衛生研究所・代謝生化学部長。05年より現職 (14年10月より九州大学理事・副学長)。

■研究テーマと抱負 ATP受容体の生理機能、グリアと疼痛に関する基礎研究。研究成果を元に優れた医薬品を創製すること。

■ウェブサイト <http://yakkou.phar.kyushu-u.ac.jp/>

■趣味 読書、音楽鑑賞。