

Connexin 30 Deficiency Ameliorates Disease Progression at the Early Phase in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis by Suppressing Glial Inflammation

橋本, 侑

<https://hdl.handle.net/2324/6787488>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (医学) , 課程博士
バージョン :

権利関係 : © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license.



氏 名： 橋本 侑

論文名： Connexin 30 Deficiency Ameliorates Disease Progression at the Early Phase in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis by Suppressing Glial Inflammation

(Cx30 欠損はグリア炎症を抑制することで ALS モデルマウスの発症早期の疾患進行を緩和する)

区 分： 甲

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】筋萎縮性側索硬化症（以下 ALS）は、運動神経を選択的に障害する神経変性疾患である。ALS の関連遺伝子のひとつである *SOD1* 遺伝子は家族性 ALS の 12-15%、孤発性 ALS の 1-2% に認める。*SOD1* 遺伝子変異関連 ALS における神経変性プロセスの一つとして、神経細胞のみならず、その周囲のグリア細胞を含む環境が発症に関与する非細胞自律性の細胞死が提唱されている。またコネクシン（Cx）30 はアストロサイトに発現しているギャップジャンクション（以下 GJ）を構成するタンパク質であり、グルタミン酸輸送や細胞接着、細胞内シグナル伝達に関与している。過去の研究で Cx30 は中枢神経系炎症で発現が増加しており、Cx30 の欠損が炎症を軽減することが示されている。アストロサイト Cx30 を欠損させることにより、ALS モデルマウスの神経保護につながるという仮説を立て、Cx30 ノックアウトマウス（以下 *Cx30*KO マウス）と ALS モデルマウス（変異 *SOD1* 遺伝子改変マウス、以下 m*SOD1* マウス）を使用し、ALS 病態における Cx30 の役割を調べた。

【方法】m*SOD1* マウスと *Cx30*KO マウスを交配させて得た *Cx30*ヘテロ欠損マウスをさらに交配させ、目的とする *Cx30*KO-m*SOD1* マウスを作製した。対照として同胞の m*SOD1* マウスを使用した。6 週齢から 26 週齢あるいは死亡と判断するまで、行動解析（体重測定、ALS-Therapy Development Institute スコアの評価、握力測定、ローターロッド試験）を行った。また 4, 8, 14, 20 週齢の腰髄サンプルを使用し、免疫組織化学実験、ウェスタンブロット、8 週齢の腰髄サンプルを使用し、RNA アレイアッセイを行った。8 週齢を発症前期、14 週齢を疾患進行期、20 週齢を疾患末期と定義した。

【結果】*Cx30*KO-m*SOD1* マウスでは m*SOD1* マウスより、体重減少時期（109.6 日 vs. 119.0 日, $p = 0.04$ ）、後肢徴候出現時期（13-15 週, $p < 0.001$ ）が遅延し、生存期間が延長する傾向（156.8 日 vs. 161.2 日, $p = 0.09$ ）にあった。握力やローターロッド試験の成績低下には有意差を認めなかった。腰髄神経細胞の評価では、*Cx30*KO-m*SOD1* マウスでは m*SOD1* マウスより、疾患進行期および疾患末期の前角細胞数（それぞれ $p = 0.03, 0.048$ ）、発症前期および疾患末期の後角細胞数（それぞれ $p = 0.008, 0.016$ ）が保持されていた。

さらに疾患末期において前角、後角細胞ともに *Cx30*KO-m*SOD1* マウスでサイズが大きかった（ $p < 0.001$ ）。定量的ウェスタンブロット解析では、Cx30 は 4 週齢、20 週齢の m*SOD1* マウスと比較して、8 週齢の m*SOD1* マウスで有意に発現が増加していた（それぞれ $p < 0.0001, < 0.001$ ）。Cx30 と同じくアストロサイト Cx である Cx43 の発現は、m*SOD1* マウスにおいて、*Cx30*KO-m*SOD1* マウスと比較して発症前期で有意に増加していた（ $p = 0.04$ ）。

アストロサイトの評価では、*Cx30*KO-m*SOD1* マウスにおいて、発症前期および疾患進行期の S100A10/GFAP 陽性アストロサイト、疾患末期の C3/GFAP 陽性アストロサイトが、m*SOD1* マウスより有意に減少していた（それぞれ $p = 0.005, 0.020$ および 0.049 ）。さらに *Cx30*KO-m*SOD1* マウスでは m*SOD1* マウスより、発症前および疾患末期の GFAP 陽性アストロサイトが有意に減少していた（それぞれ $p = 0.036, 0.043$ ）。ミクログリアの評価では、両群において Iba1 陽性ミクログリアや Arg1 陽性ミクログリア、NOS2 陽性ミクログリアの発現量に差を認めなかった。

RNA アレイアッセイでは、*Cx30*KO-m*SOD1* マウスにおいて、m*SOD1* マウスと比較して、炎症やア

astrocytesに関連するデータセットのいずれでも遺伝子発現量が低下していた。特に、反応性astrocytesセット、炎症性astrocytesセットにおいては、その傾向が顕著であった。

【考察】今回の研究で得られた主な結果は以下の通りである。(1) Cx30 欠損は疾患の発症を遅らせ、生存期間を比較的延長し、mSOD1 マウスの腰髄神経細胞の喪失を有意に緩和させた。(2) mSOD1 マウス腰髄における Cx30 の発現は発症前期に増加した。(3) Cx30 欠損は発症前期の mSOD1 マウスの腰髄において、Cx43 の発現を抑制した。(4) Cx30 欠損は mSOD1 マウスのastrocytes活性化を低下させた。この要因として、Cx30 欠損によって Cx30 を介してastrocytes間を移動するグルタミン酸の輸送が減少することで、グルタミン酸によって活性化されるastrocytesが減少する可能性、神経炎症を誘発する Cx43 の発現が Cx30 欠損によって抑制され、神経炎症が緩和した可能性を考えた。

【まとめ】ALS モデルマウスにおいて Cx30 欠損はastrocytesの炎症性活性化を抑制し、臨床的、組織学的に神経保護的に働くことが示された。本結果は、炎症性活性化astrocytesのギャップ結合タンパクが、ALS の新たな治療標的となる可能性があることを示唆している。