

【目的】アルツハイマー病を始めとする神経変性疾患における病理学的特徴として、アミロイド β ($A\beta$) やタウなどが高度に線維化した凝集体の蓄積に加え、主にグリア細胞の活性化に代表される脳内炎症反応が挙げられる。遺伝学および病理学的な解析からこの蓄積病態によって惹起される慢性脳内炎症が認知症発症のタイミングと進行速度を決定づけていると考えられているが、その詳細な分子メカニズムは不明である。そこで本課題においては、認知症発症機構における異常凝集タンパク質に対するグリア細胞における慢性炎症性応答を解析し、その分子・細胞病態の解明を通して、脳内炎症制御法の確立と新規グリア細胞創薬研究を遂行することを目的として研究を行った。

【方法】本課題においては、1. CRISPR/Cas9システムを利用した、新規グリア細胞炎症性反応分子の Cell based スクリーニング、2. $A\beta$ に応答して発現変動する新規アストロサイト炎症性プロテアーゼ **KLK7** の活性制御法の開発、2つを柱項目とし、*in vitro*、*in vivo*において研究を進めた。

【結果】1. については、蛍光標識された $A\beta$ を用いてその取り込み量を FACS によって定量的に評価する系を確立し、全ゲノムを対象とした guide RNA ライブラリーを用いて様々なゲノム編集が行われた細胞集団において異常な蛍光強度を示す細胞集団をソートし、標的遺伝子を次世代シーケンサーによって解析した。得られた遺伝子群の情報から over-representation analysis、インタラクトーム解析により、AD の遺伝学的リスク因子である *Inpp5d* 及び *Cd2ap* がスクリーニングで得られた遺伝子群の近傍に同定され、これらの遺伝子が関与する、ミクログリアにおける PI (3, 4, 5) P₃ シグナリングが $A\beta$ 取り込みに関与していることが示唆された。2. については、我々が新規 $A\beta$ 分解酵素として同定した **KLK7** の発現量を上昇させる化合物を初代培養アストロサイトにおいて探索し、アルツハイマー病治療薬として認可されている、NMDA 受容体拮抗薬であるメマンチンに *Klk7* 発現上昇能が認められた。またアルツハイマー病モデルマウスにおいて、メマンチン投与によりアミロイド斑の減少が確認された。すなわち、アストロサイトにおける NMDA 受容体シグナル経路の抑制が **KLK7** の発現量を上昇させ、抗 $A\beta$ 作用をもたらすと考えられた。

$A\beta$ によって惹起される慢性炎症反応の分子機構

