

68. 放射線照射による脳機能への影響を最小限に抑える AAV ウイルスベクターの開発

群馬大学 大学院医学系研究科薬理学分野 助教 六本木 麗子

概要

中枢神経に対する放射線照射は、原発性脳腫瘍やがんの脳転移に対する治療に加え、小児急性リンパ性白血病の中枢神経再発予防としても重要である。一方で、副作用として認知機能障害（高次機能障害）を引き起こすことが知られている。このメカニズムについては一部解明が進んでいるものの、未だ十分に明らかにされていない。申請者は、この副作用の発症にミクログリアの活性化が関与していると仮説を立てた。具体的には、放射線照射後の炎症反応を示すミクログリアの活性化が、神経細胞の障害を引き起こす可能性があると考えた。本研究では、マウスを用いて放射線照射が中枢神経に与える影響を検証するとともに、ミクログリアを標的としたアデノ随伴ウイルスベクターを活用し、放射線照射後の認知機能障害を軽減する技術の開発を目指す。

この目的を達成するためには、まずマウスモデルを用いて、放射線照射による認知機能障害が発生するかを評価した。その結果、オスのマウスにおける記憶力評価テストでは、有意な低下が認められた。さらに、ミクログリアの活性化を示す炎症性マーカーの発現が照射後に上昇していることが確認された。次に、ミクログリアの活性化を抑制することで認知機能障害の軽減が可能かを検討するため、ミクログリアの活性化を抑制する AAV ベクターを作製した。今後はいくつかの AAV ベクターをマウスへ投与し、その効果を検証することで、放射線照射後の認知機能障害が軽減されるかを評価する予定である。

本研究は、貴財団からの助成金によって遂行することができた。ここに深く感謝申し上げます。

背景および目的

近年、放射線治療は大きく進化し、より複雑化している。患者の寿命が延び、再治療が頻繁に行われるようになったことで、副作用の抑制が重要な課題となっている。特に、放射線による認知機能障害は深刻な問題である。放射線が脳の認知機能に悪影響を及ぼすことは以前から報告されており、当初は高線量被ばくが主な原因と考えられていた。しかし、その後の研究により、低線量放射線でも認知機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。疫学研究では、脳腫瘍の生存者や頭蓋放射線療法を受けた患者に認知障害のリスクがあることが示されている。

放射線による認知機能障害のメカニズムとしては、海馬の神経新生障害、神経炎症、ミクログリアの活性化、神経細胞の形態変化が関与すると考えられている。これらの要因が神経細胞とミクログリアなどの非神経細胞の相互に作用することで、放射線誘発性認知機能障害が引き起こされる可能性がある。しかし、放射線照射による認知機能障害のメカニズムには未解明な部分が多く、異なる細胞種間の相互作用についての報告は乏しい。

神経細胞は、興奮性（グルタミン酸作動性）と抑制性（GABA 作動性）に分類され、これらの活動を制御するのがグリア細胞（ミクログリア、アストロサイト、オリゴデンドロサイト）である。グリア細胞は神経細胞に接近し、栄養供給や神経活動の調節を行うことが知られている。認知症、統合失調症、自閉症スペクトラム障害などの神経精神疾患では、興奮性と抑制性のバランス（E/I バランス）の破綻が精神症状の発現に関与していると考えられる。我々の 2019 年の研究では、放射線照射後の神経細胞の発達過程において抑制性細胞の増加傾

向が見られた (Puspitasari A., et al., 2019)。しかし、興奮性と抑制性細胞における放射線感受性の違いについては報告がなく、詳細な検討が必要である。以上のことから、放射線誘発性認知機能障害は、E/I バランスとグリア細胞の相互作用による神経ネットワークの破綻に起因するとの仮説を立てた。

本研究では、放射線照射後のマウス脳における E/I バランスの変化と、それを調節するミクログリア細胞への影響を解析することを目的とする。さらに、放射線照射による脳内の影響を最小限に抑えるため、ミクログリアを標的とした AAV ベクターの開発を行う。加えて、マウスの行動実験を通じて、開発した AAV ベクターが放射線誘発性認知機能低下を改善できるかを検討する。本研究の成果により、放射線照射の影響、とりわけ重粒子線（炭素線照射）が認知機能に及ぼす影響に関する新たな知見が得られると期待される。さらに、AAV ベクターを用いた基礎研究を通じて、放射線治療の副作用軽減に向けた新たな治療法の開発につながる可能性がある。

方法

1. 放射線照射の影響評価

低線量の放射線が年齢や用量依存的に認知機能へ与える影響を詳細に解析する。具体的には胎児期・幼若期・成熟期の脳に対する影響、および加齢に伴う神経変性の進行について検討する。放射線照射後の興奮性および抑制性神経細胞の変化を評価するため、免疫染色法を用いて脳内の発現パターンを解析する。また、ウェスタンブロットティング法を用い、ミクログリアの活性化を評価する。

2. 認知機能の評価

放射線照射後の認知機能変化を評価するため、バーンズ迷路テストを実施し、非照射群と比較する。

3. ミクログリア特異的 AAV ベクターの開発

ミクログリア特異的なプロモーター（例：mIB1, hTMEM119）を用いた AAV ベクターを設計し、DREADD システムを組み込む。DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) システムは、人工受容体の特異的リガンド (CNO) で活性化し、神経活動を制御する手法である。本研究ではこのシステムを用いて、ミクログリアの機能を選択的に操作することで放射線による影響を最小限に抑えるアプローチを開発する。

結果および考察

1. 放射線照射後の E/I バランスの変化

免疫染色法による解析の結果、放射線照射後のマウス脳では抑制性神経細胞（GABA 作動性ニューロン）が増加する傾向が認められた。一方で、興奮性神経細胞（グルタミン酸作動性ニューロン）の発現には顕著な変化は見られなかった。特に、海馬の CA1 領域および前頭前野においてこの変化が顕著であった。これらの結果は、放射線照射が神経細胞の E/I バランスを変化させる可能性を示唆している。過去の研究では、E/I バランスの破綻が認知機能障害や精神疾患の発症に関与することが報告されており、本研究の結果もこの知見を支持するものである。

2. 放射線照射によるミクログリアの活性化と神経炎症

ウェスタンブロットティング法による解析の結果、放射線照射を受けたマウス脳ではミクログリア活性化の指標である Iba1 の発現が有意に上昇していた。さらに、炎症性サイトカインである IL-1 β および TNF- α の発現量も増加していた。これらの結果は、放射線照射がミクログリアの活性化を促進し、それに伴う神経炎症を引き起こす可能性を示している。ミクログリアは通常、神経細胞の保護や修復に関与するが、過剰な活性化は神経細胞の損傷を引き起こし、結果として認知機能障害を誘発することが知られている。本研究の結果も、放射線誘発性の神経炎症が認知機能障害の一因となる可能性を示唆している。

3. 放射線照射による認知機能障害

バーンズ迷路テストの結果、放射線照射を受けたマウス群では、非照射群と比較して学習時間の延長およびエラー回数の増加が観察された。この結果は、放射線照射が海馬依存性の記憶学習に悪影響を及ぼすことをしており、これまでの研究とも一致する。海馬は記憶形成に重要な役割を果たす領域であり、E/I バランスの破綻やミクログリアの活性化がこの影響に寄与している可能性が示唆された。

今後の展望

本研究では、放射線照射による認知機能障害のメカニズムとして、E/I バランスの破綻とミクログリアの活性化が主要な要因である可能性を示した。特に、抑制性神経細胞の増加や炎症性サイトカインの発現上昇が確認されたことから、神経ネットワークの異常と慢性的な神経炎症が認知機能障害に関与していることが示唆された。今後の研究では、これらの知見を基に、放射線誘発性認知機能障害の予防および治療に向けた具体的なアプローチを検討する必要がある。

第一に、ミクログリアの過剰な活性化を抑制することで、放射線による神経炎症を軽減できる可能性がある。現在では、ミクログリア特異的な AAV ベクターを用いた DREADD システムを開発し、放射線照射後の神経炎症を制御する戦略を検討している。今後は、このシステムをさらに最適化し、ミクログリアの過剰な活性化を抑制することで認知機能の改善が可能かどうかを詳細に解析する。

第二に、放射線照射による長期的な影響を明らかにするための研究が必要である。本研究では、照射後の比較的短期間における神経細胞の変化を解析したが、放射線による慢性的な神経炎症や神経変性の進行については十分な検討がなされていない。特に、加齢との関連性を明らかにするために、高齢マウスモデルを用いた解析を行い、放射線がアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の発症リスクを高めるかどうかを検討することが重要である。

さらに、放射線治療の副作用軽減に向けた応用研究を進めることで、より安全で効果的な治療法の確立を目指す必要がある。例えば、放射線治療と併用可能な神経保護薬の開発や、神経炎症を抑制する治療戦略の確立が求められる。また、本研究では重粒子線（炭素線）による影響を解析したが、X 線や陽子線などの異なる放射線種による認知機能への影響を比較し、それぞれの特性を明らかにすることも重要である。

最終的には、動物モデルで得られた知見をヒトへの応用へと発展させることが求められる。具体的には、ヒトの脳画像解析（MRI・PET など）を用いた E/I バランスの変化の評価や、放射線治療後の認知機能評価とバイオマーカーの探索を進めることで、放射線誘発性認知機能障害の診断および治療法の開発につなげることができると考えられる。また、AAV ベクターを用いた遺伝子治療の臨床応用に向けた前臨床研究を進めることで、将来的な治療法の選択肢を広げることが期待される。

本研究の成果を基盤として、今後はミクログリアを標的とした治療戦略の確立、放射線照射の長期的影響の解析、放射線治療の副作用軽減に向けた応用研究を推進する。これにより、放射線治療による認知機能障害のメカニズム解明とその対策の確立に貢献し、最終的には放射線治療を受ける患者の生活の質（QOL）の向上につながることが期待される。

(完)

参考文献

- 1) A. Puspitasari et al. Neuroscience Research 160 (2020) 11–24