

ジャーナルクラブ

2023.7.10

Article | [Open Access](#) | [Published: 01 April 2021](#)

Loss of microglial SIRP α promotes synaptic pruning in preclinical models of neurodegeneration

[Xin Ding](#), [Jin Wang](#), [Miaoxin Huang](#), [Zhangpeng Chen](#), [Jing Liu](#), [Qipeng Zhang](#), [Chenyu Zhang](#), [Yang Xiang](#), [Ke Zen](#)  & [Liang Li](#) 

[Nature Communications](#) **12**, Article number: 2030 (2021) | [Cite this article](#)

Abstract

- 疾患においてシナプス刈り込みにおけるミクログリアのSIRP α の役割は不明。
- コンディショナルノックアウトマウスを用いて、ミクログリア特異的にSIRP α を欠失させるとシナプス密度が低下した。
- ヒト組織ではアルツハイマー病の進行とともにSIRP α の発現が低下する。
- アルツハイマー病モデルマウスでSIRP α を欠損させると、ミクログリアの貪食によりシナプス損失が増加、また認知機能障害が増加した。
- →ミクログリアのSIRP α が神経変性におけるシナプス刈り込みを制御している。

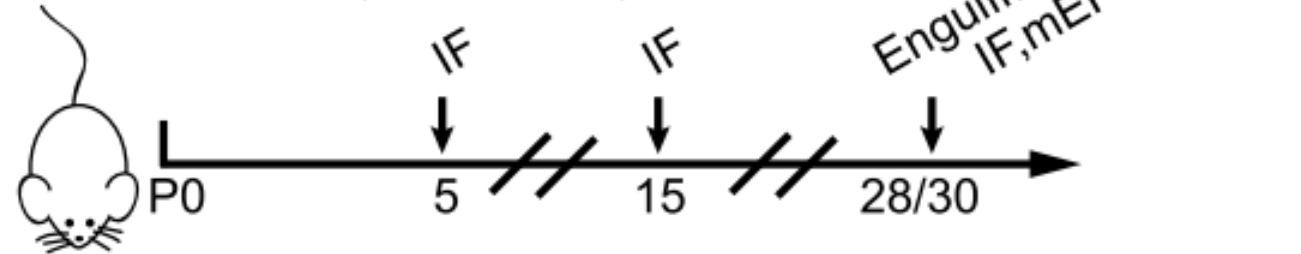
Result1

a

SIRP $\alpha^{fl/fl}$ (+TAM P1-P3)

Cx3cr1^{CreERT2}:SIRP $\alpha^{fl/fl}$ (-TAM)

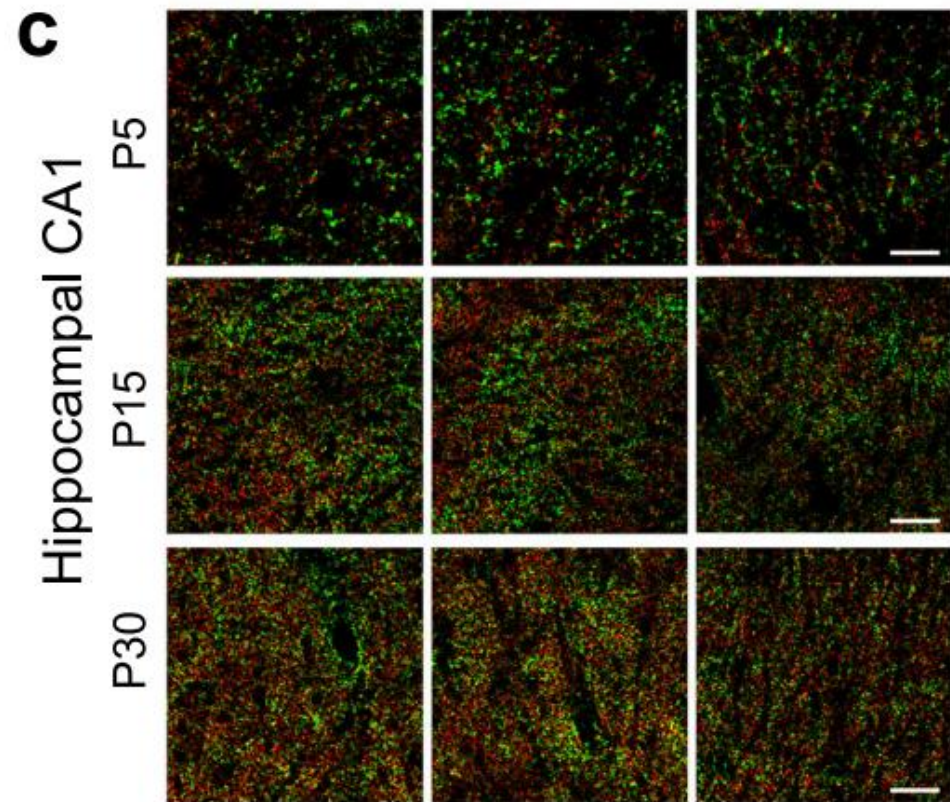
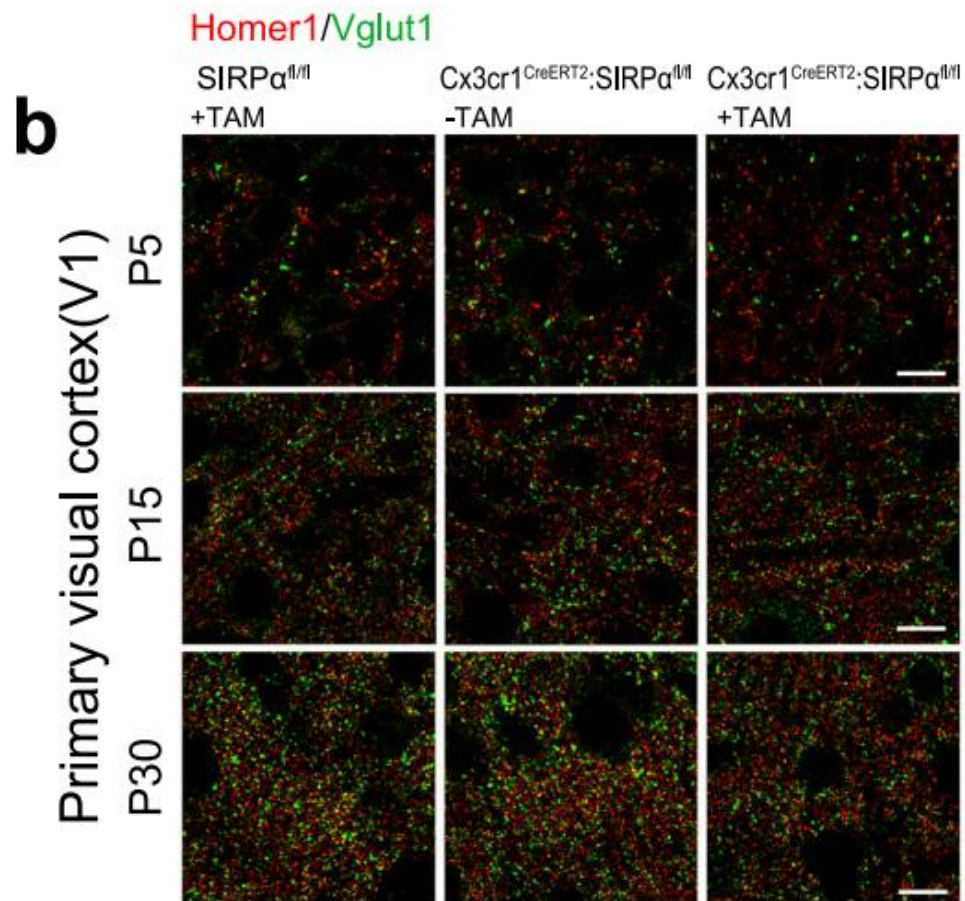
Cx3cr1^{CreERT2}:SIRP $\alpha^{fl/fl}$ (+TAM P1-P3)



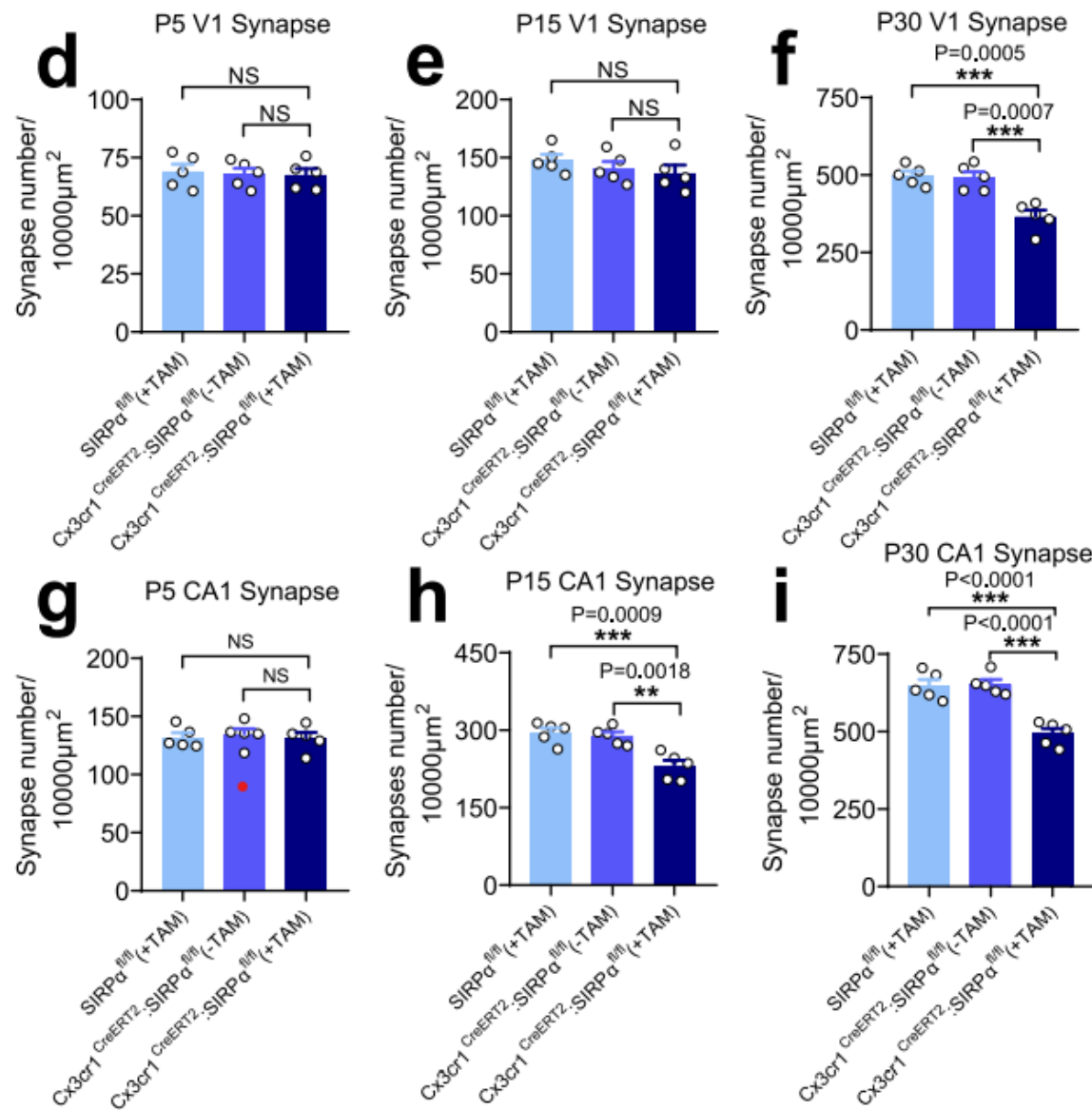
P1-P3 : TAMまたはcorn oilを投与

IF : 免疫蛍光染色

mEPSC : 微小興奮性シナプス後電流

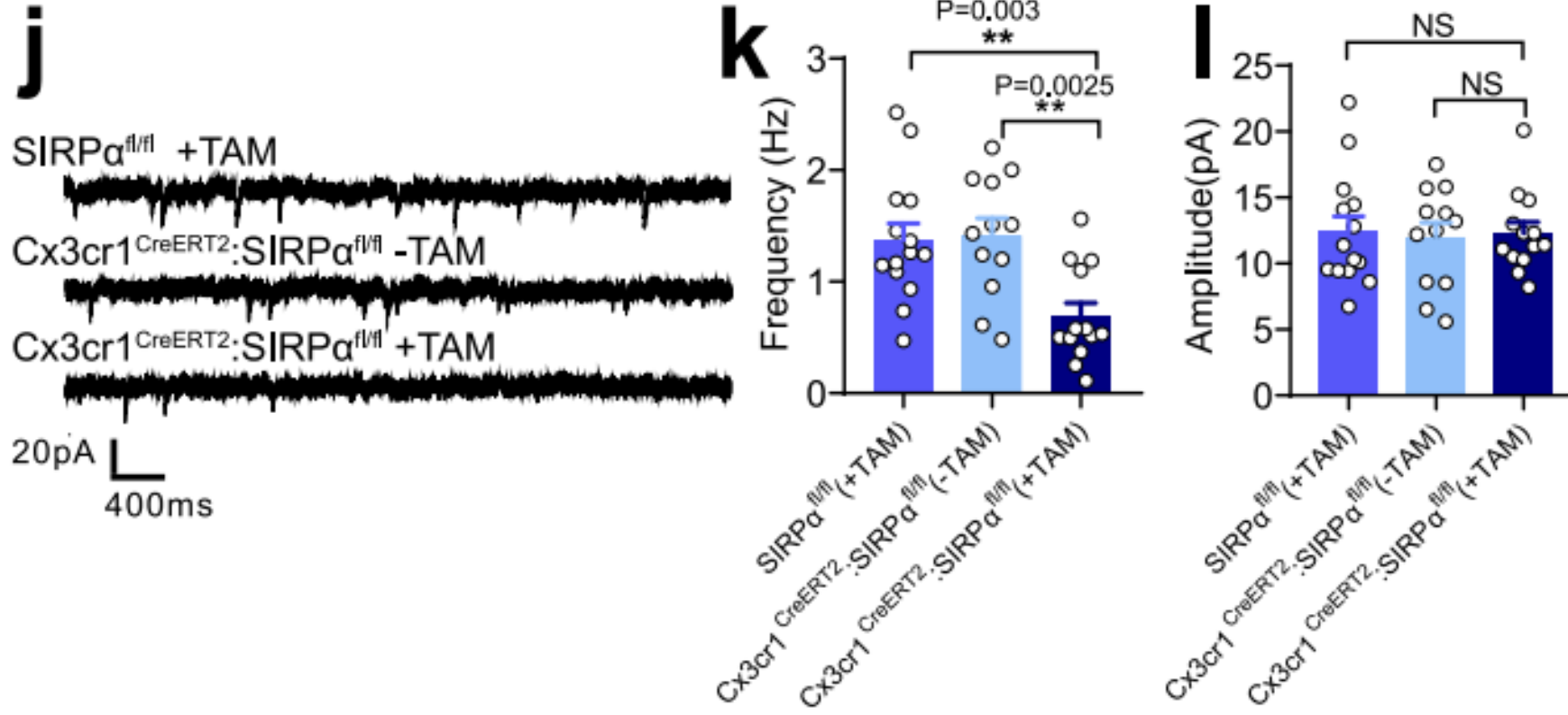


Homer1:シナプス後マーカー
Vglut1:シナプス前マーカー



それぞれのシナプス数を定量化し、シナプス密度を比較した。

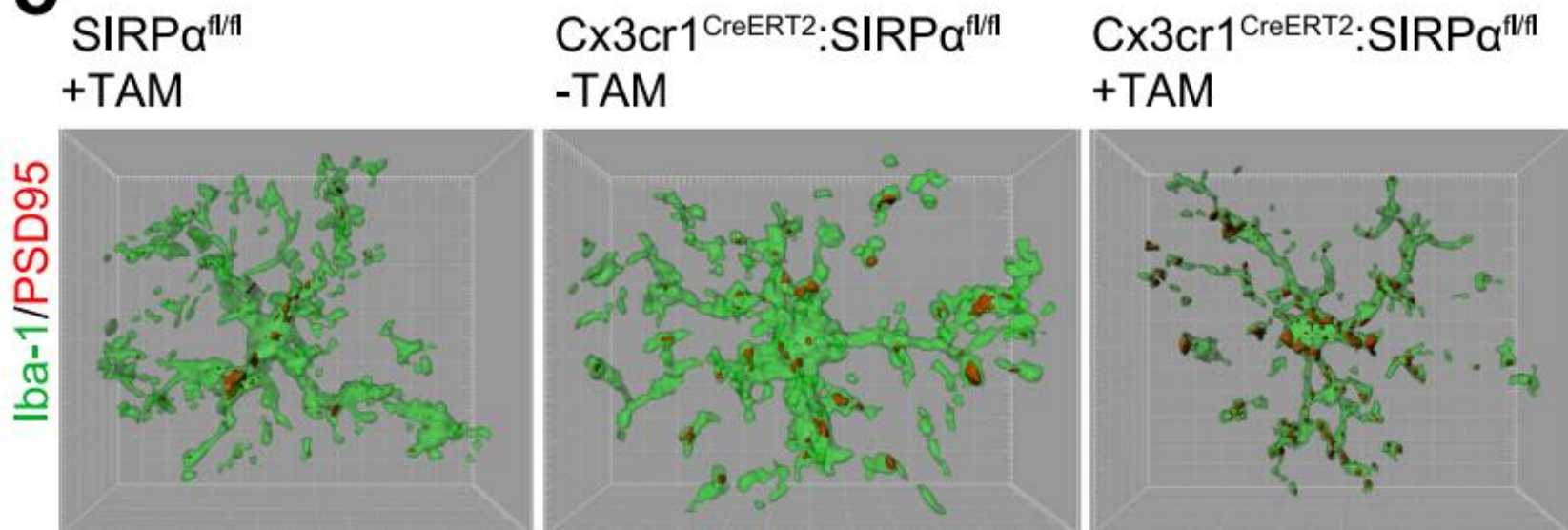
→ミクログリアのSIRP欠損は、早期 (<P5) のニューロン成長に影響を与えることなくシナプス密度を減少させる。



J : mEPSCのトレース例 K : 平均mEPSC頻度 L : 平均mEPSC振幅

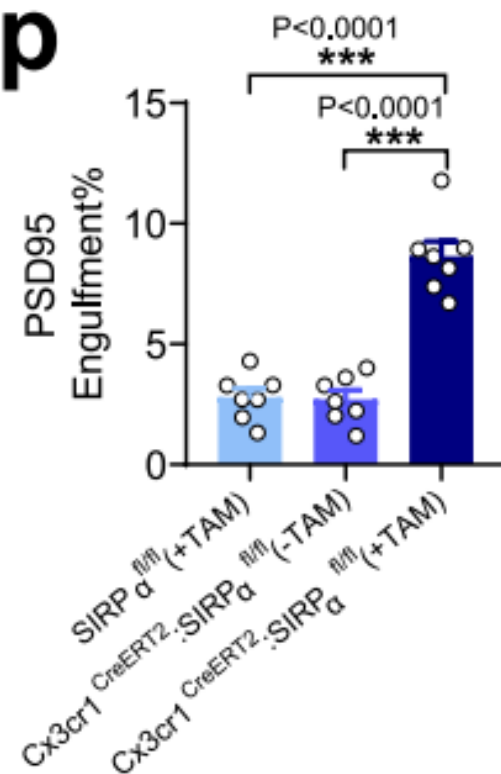
SIRP α の欠損はmEPSCの頻度を減少させたが振幅は減少させなかった。

O

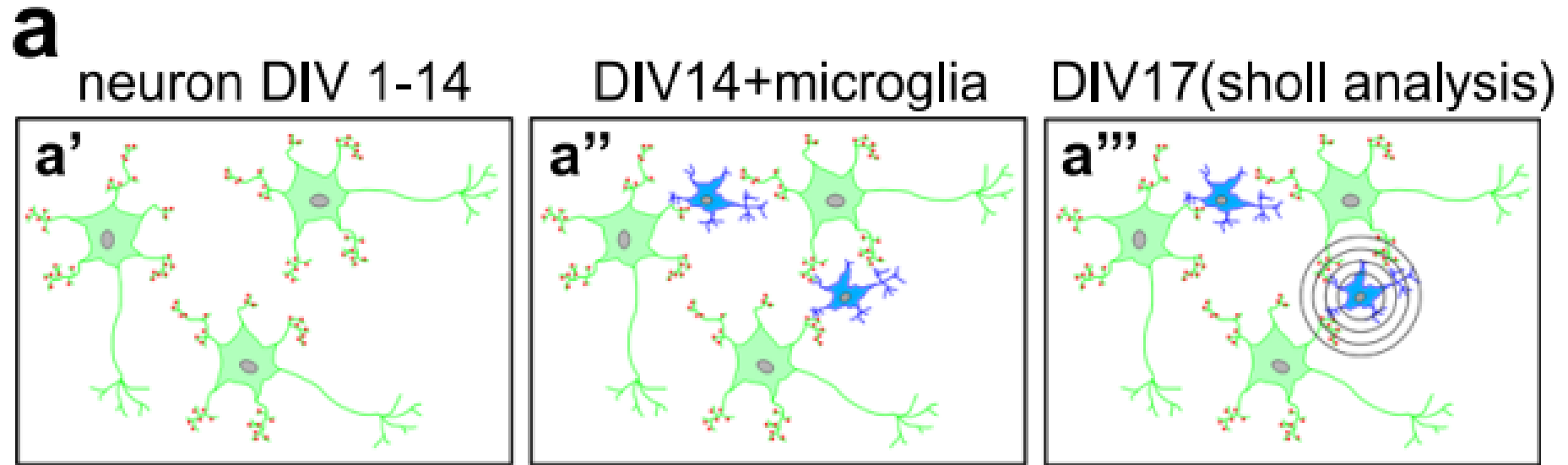


Iba-1:ミクログリア／PSD95:シナプス後部
P28のV1におけるミクログリア
SIRP α -c KOマウスでは、PSD95の体積比が大きい。

p

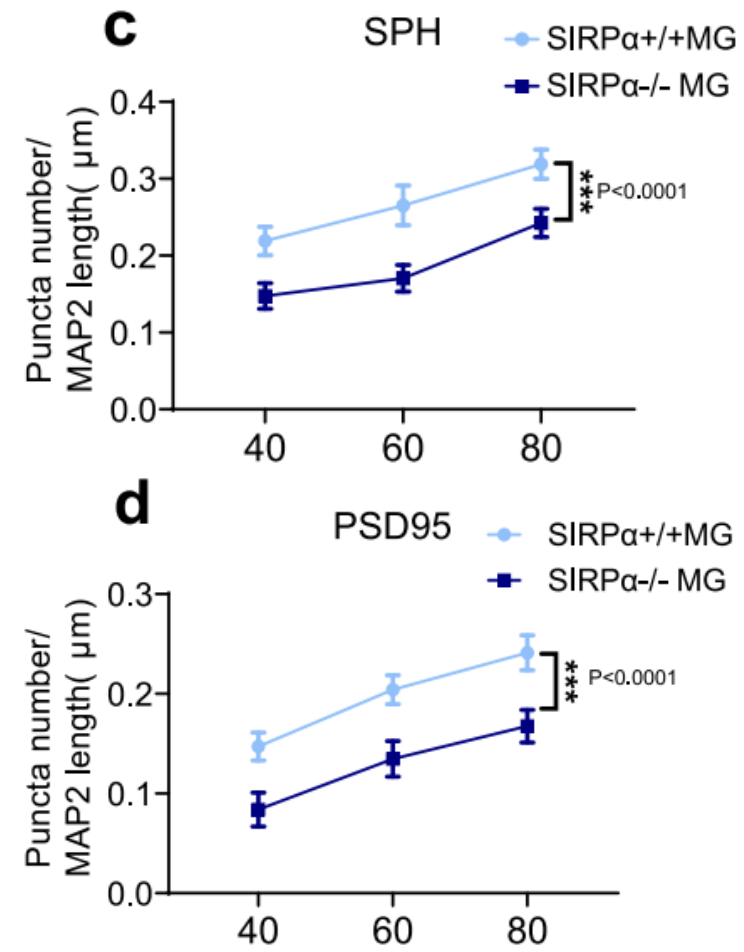
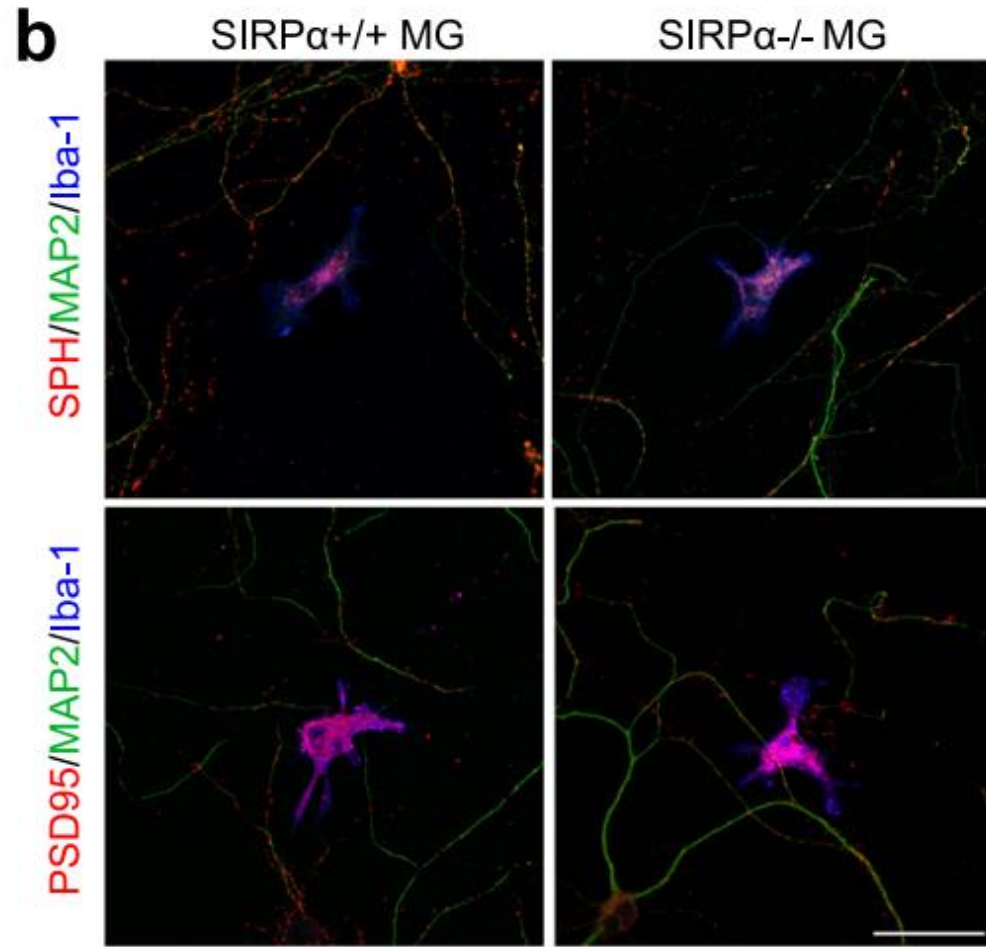


Result2

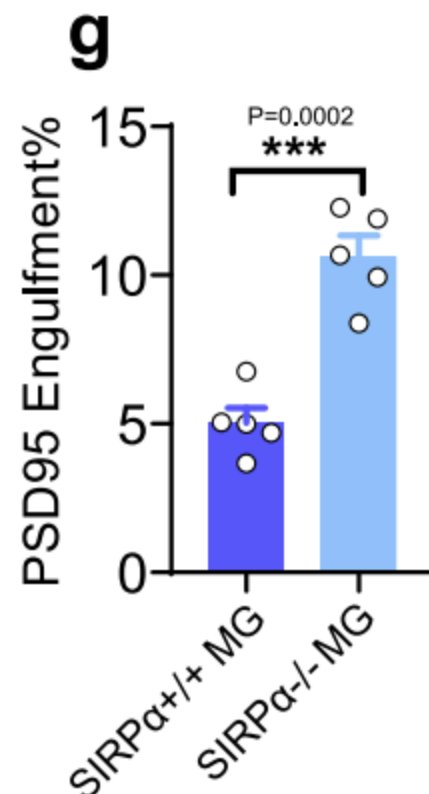
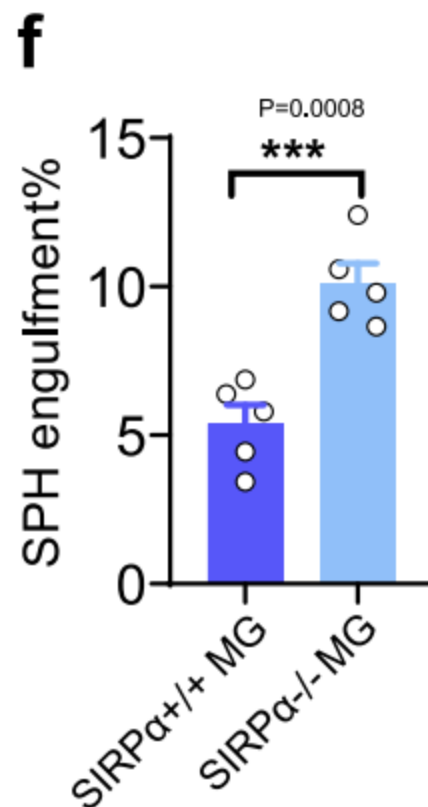
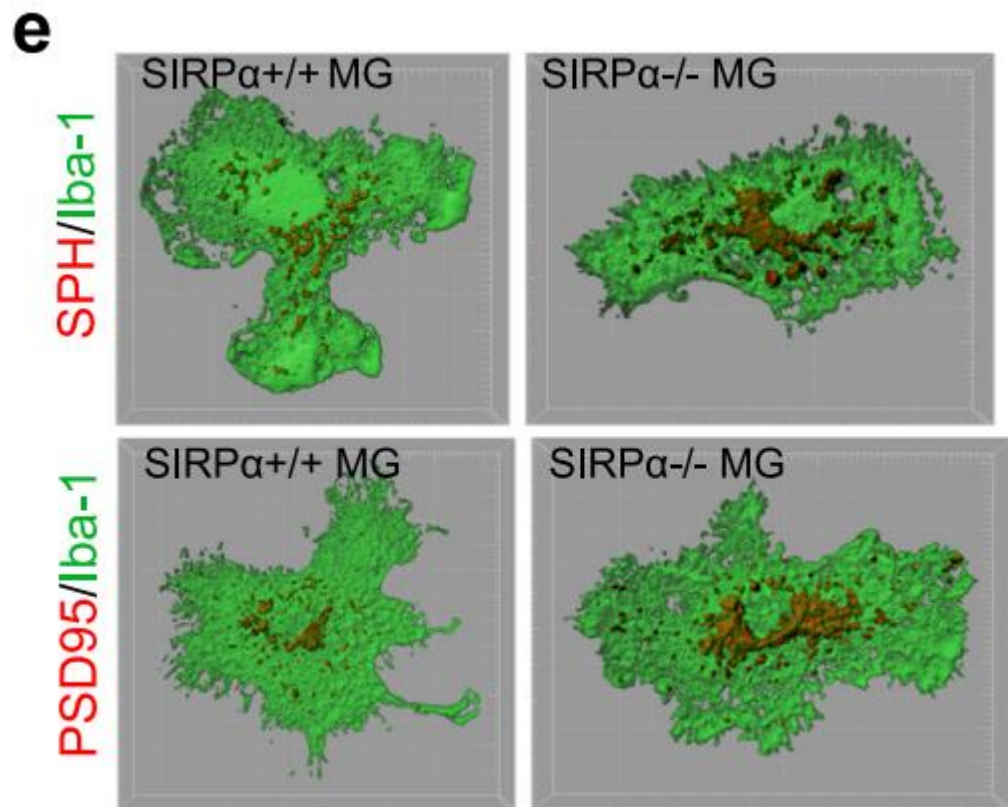


神経細胞とミクログリアの共培養系を用いて、in vitroでミクログリアの貪食を評価した。

緑：ニューロン（MAP2） 赤：シナプス（SPH/PSD95） 青：ミクログリア（Iba-1）



SIRP α 欠損ミクログリアに隣接するシナプス密度 (80 μ m以内) が減少した。

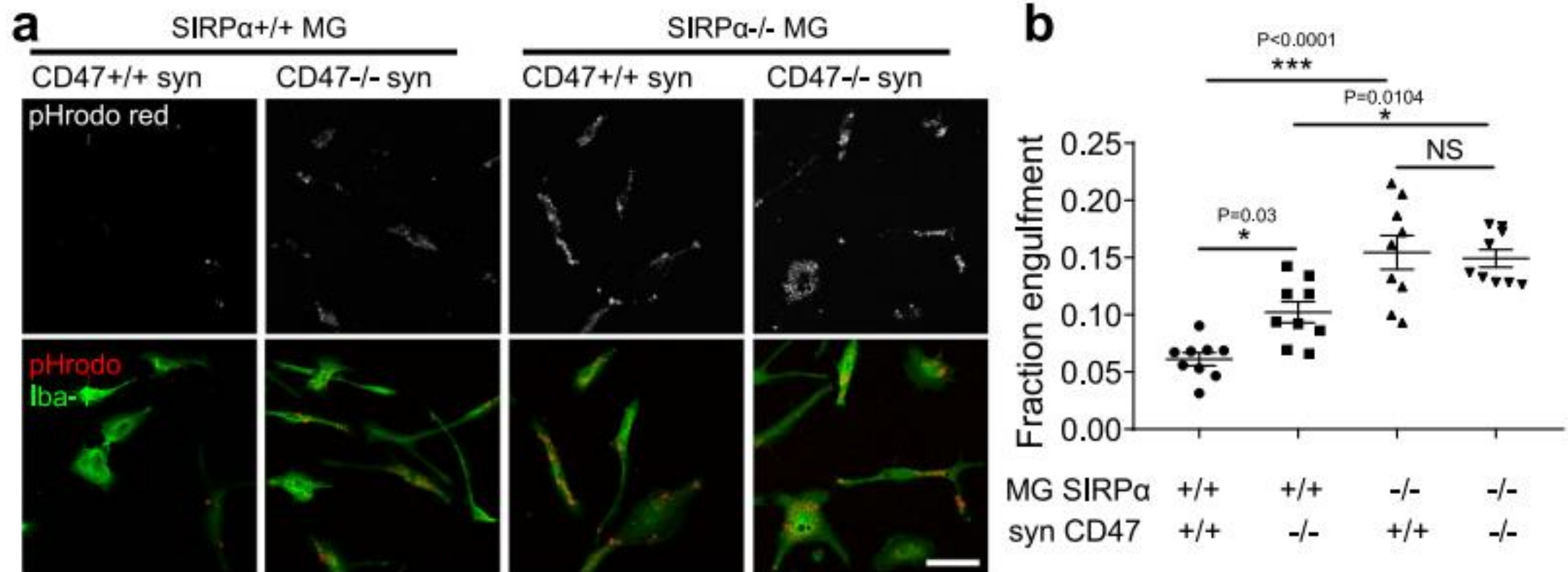


e : 3D再構成

f, g : SPHまたはPSD95の点の体積比

→SIRP α 欠損ミクログリアはより多くのシナプスを取り込んだ

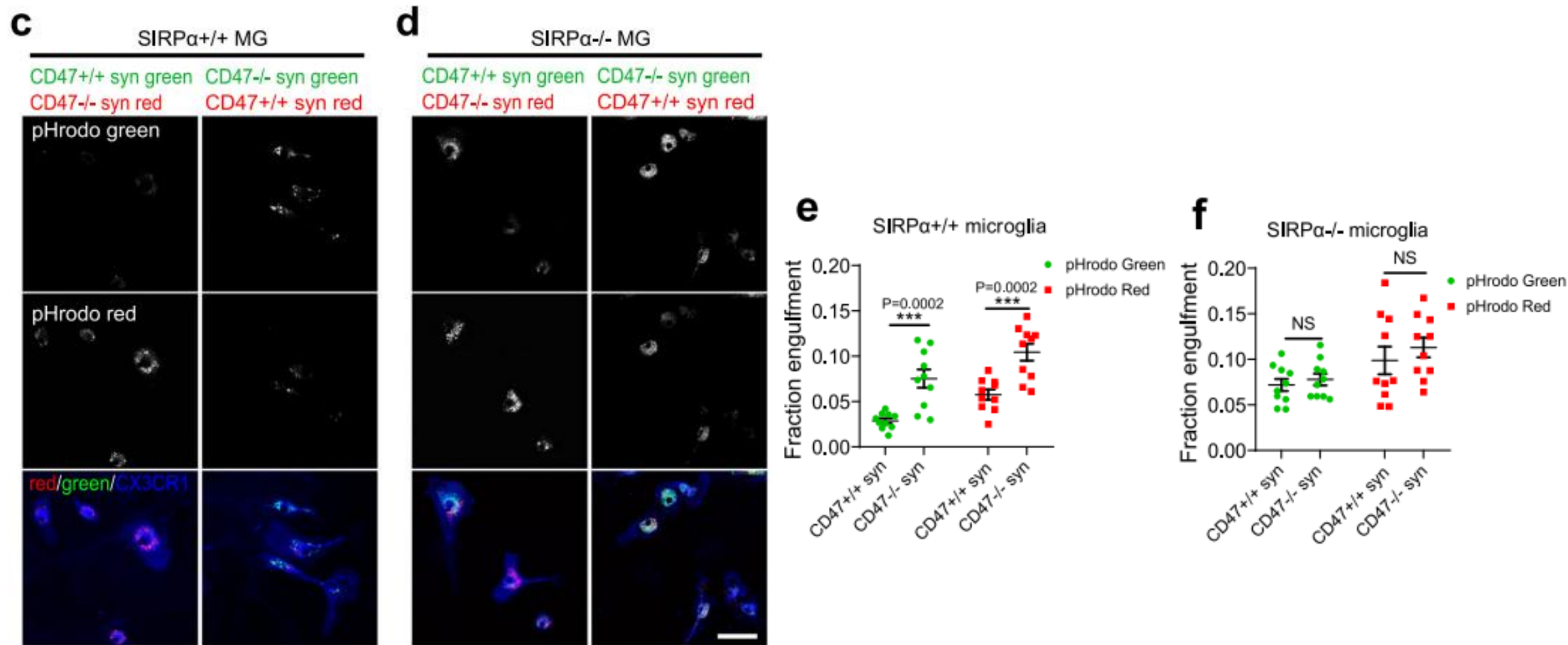
Result3



pHrodo red : ファゴソームに取り込まれると発光する

b : 異なる遺伝子型のミクログリアに貪欲されたシナプトソームの割合

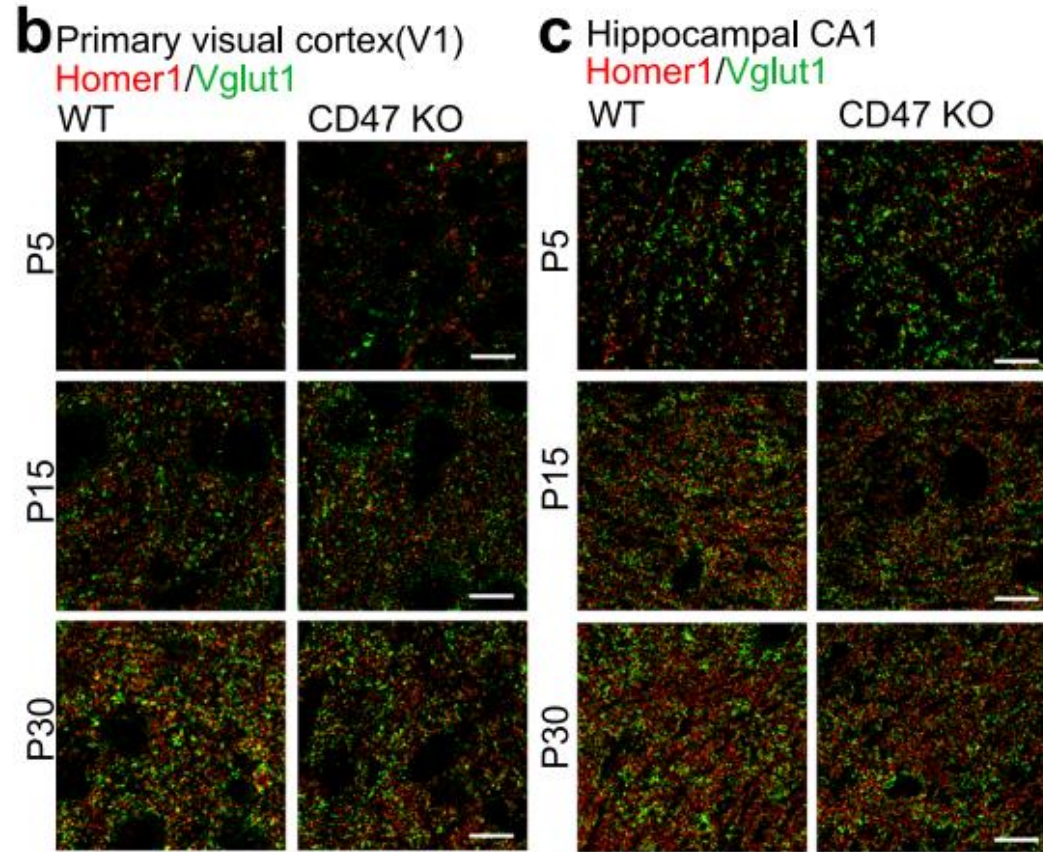
SIRP α -CD47シグナルが遮断されると、ミクログリアはより多くのシナプトソームを取り込む



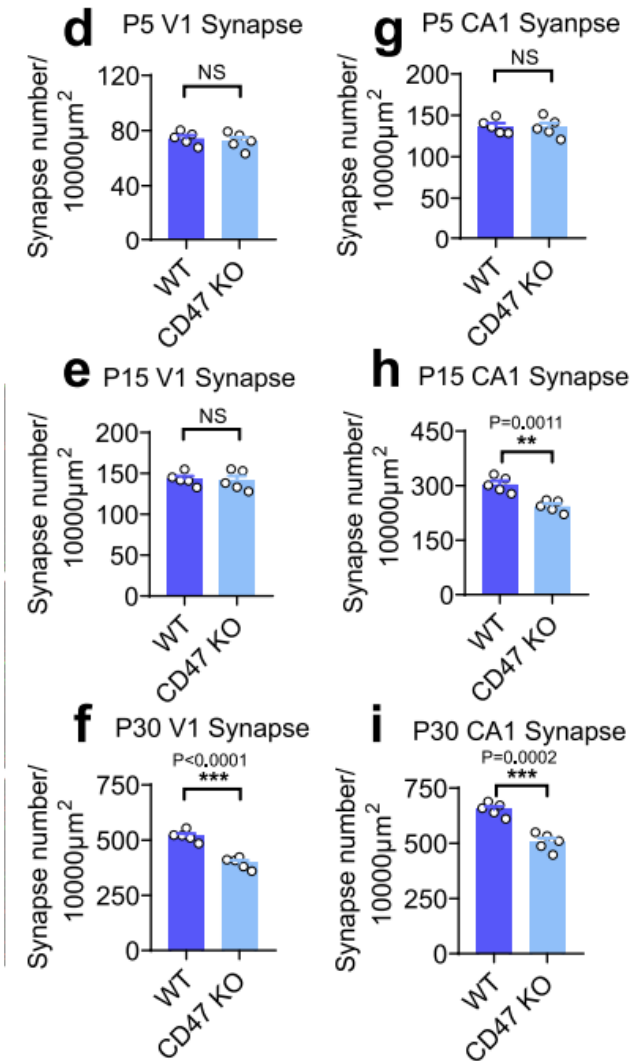
異なるpHrod色素で標識したCD47+またはCD47-シナプトソームの混合物をミクログリアと培養した。

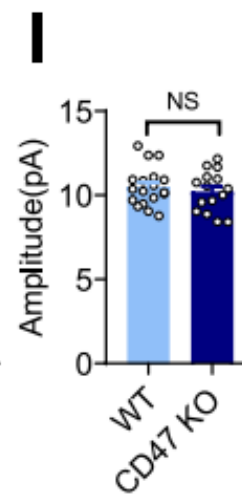
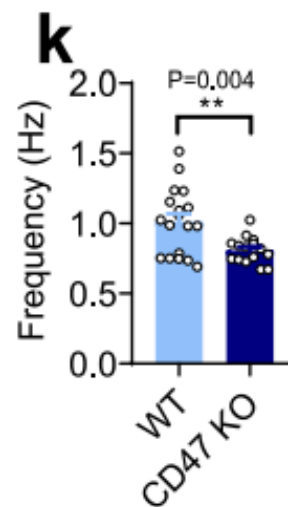
→ミクログリアにおけるSIRP α の欠損はCD47のシグナル認識を低下させるだけでなく、貪食能の亢進をもたらし、シナプス構造を過剰に除去する可能性が示唆される。

Result4

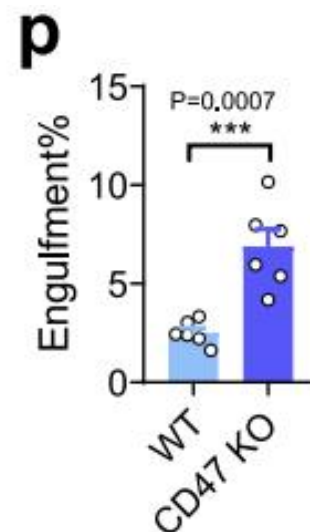
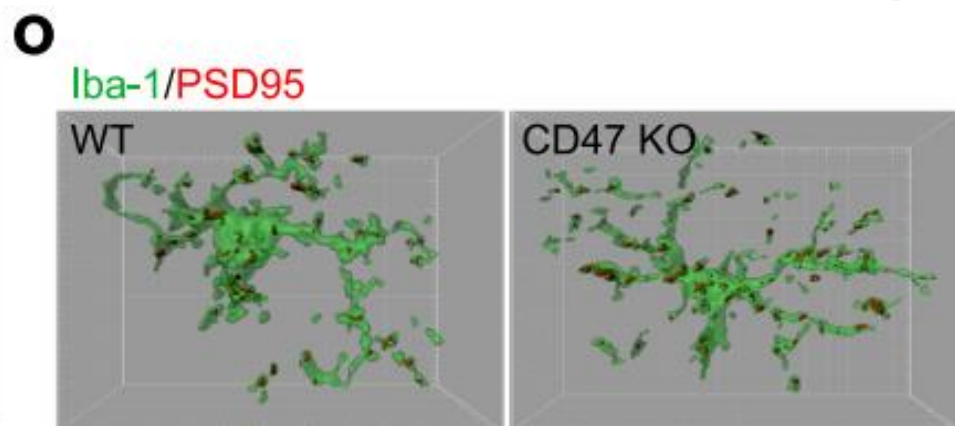


CD47-KOマウスでは、シナプス密度が低下した。





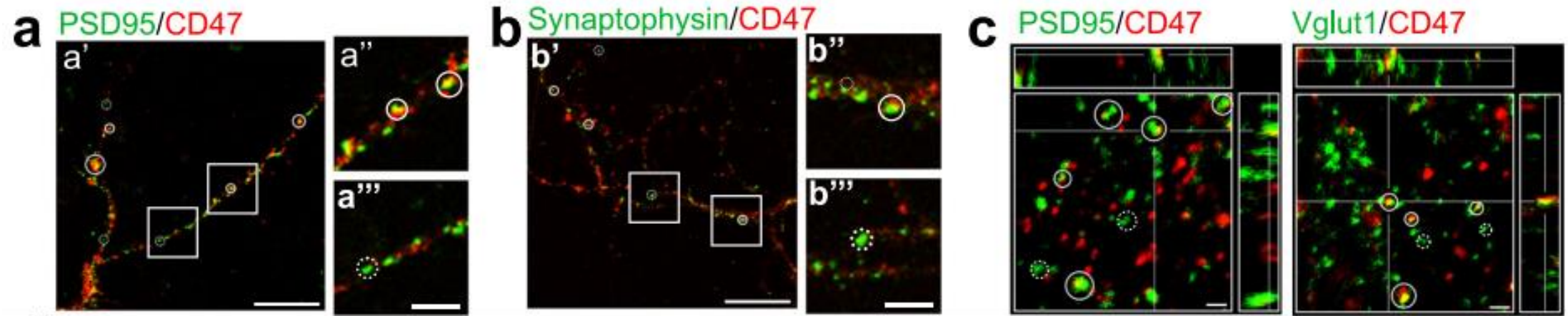
CD47-KOマウスでは平均 mEPSCの頻度が低下した。



CD47-KOマウスではミクログリア内のPSD95の体積がWTより大きい。

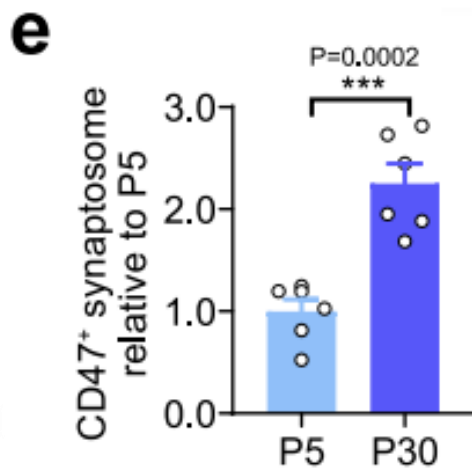
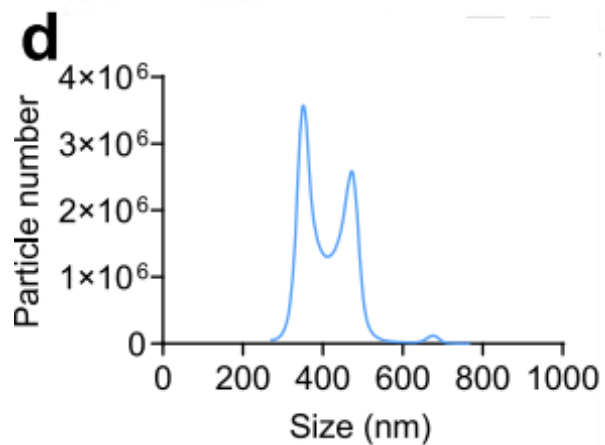
→SIRP α -CD47シグナルは神経発達初期にミクログリアが介在する過剰な排除からシナプスを保護している。

Result5



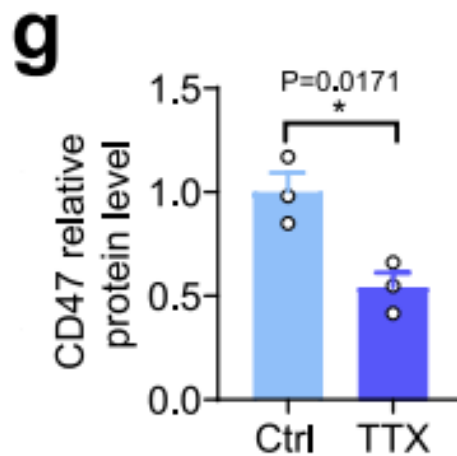
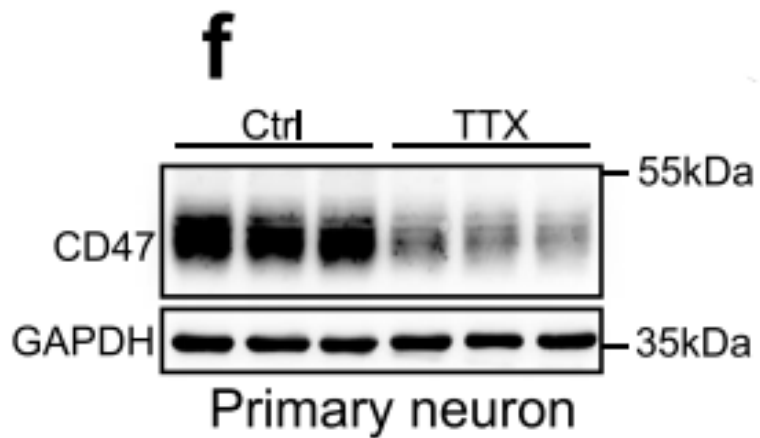
- a : PSD95+/CD47+とPSD95+/CD47-の両方が存在する
- b : Synaptophysin+/CD47+とSynaptophysin+/CD47-の両方が存在する
- c : CD47+とCD47-の両方が存在する

→CD47は神経細胞のシナプスで異なる発現をしている



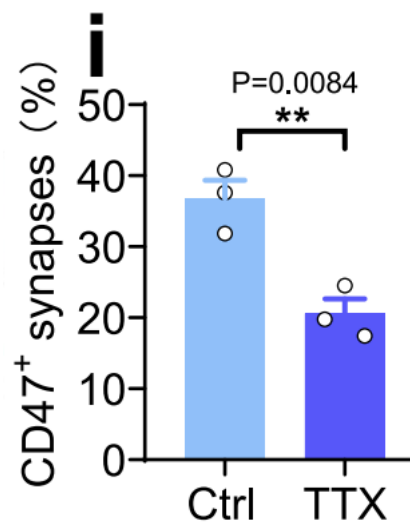
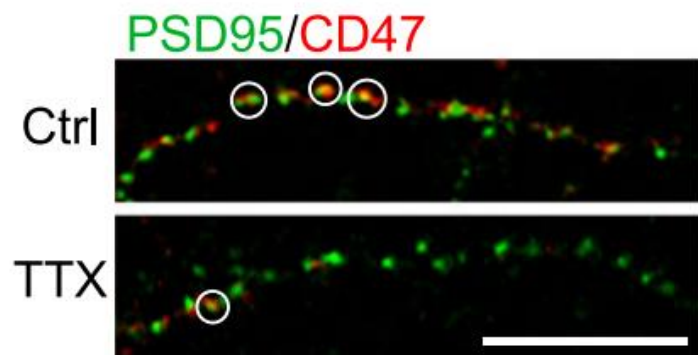
d: マウスの脳からシナプトソームを採取し、NanoSightでCD47シグナルを測定

→加齢に伴うCD47陽性シナプスの増加

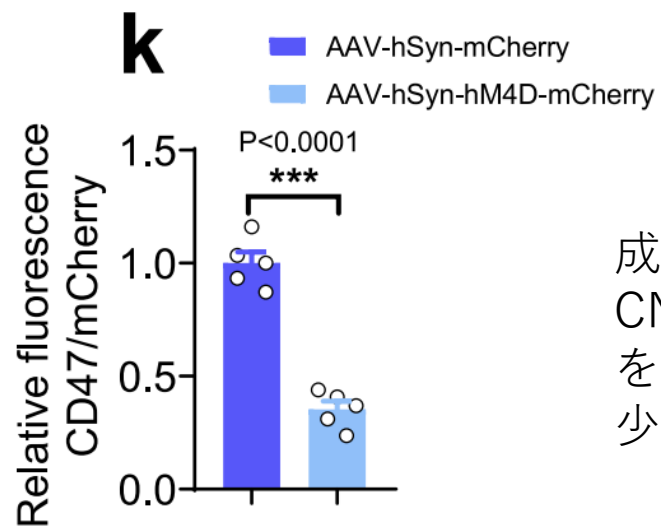
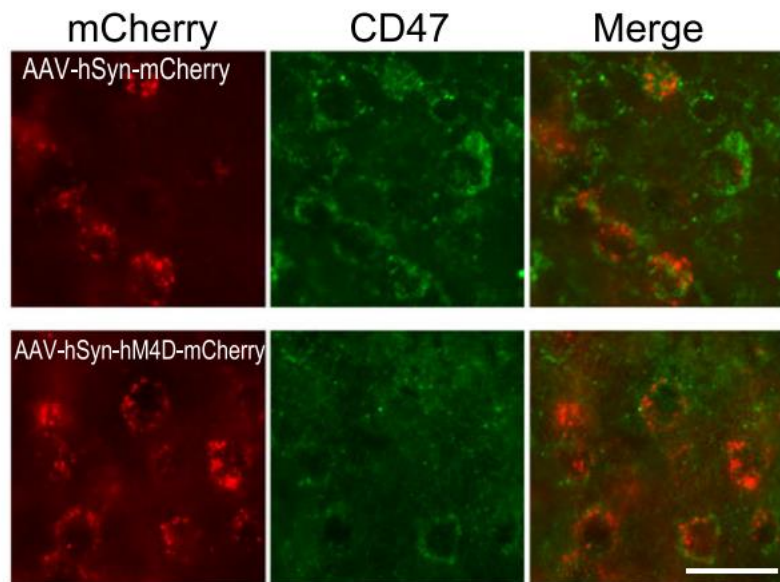


TTX: テトロドトキシン (チャンネル遮断薬)

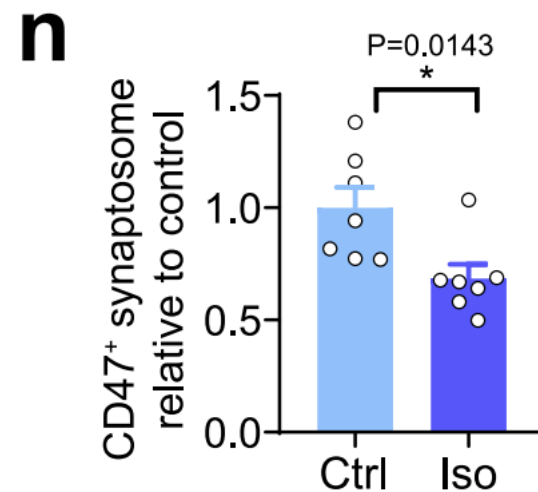
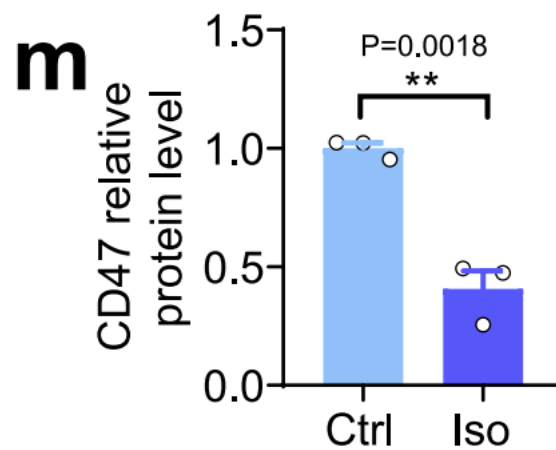
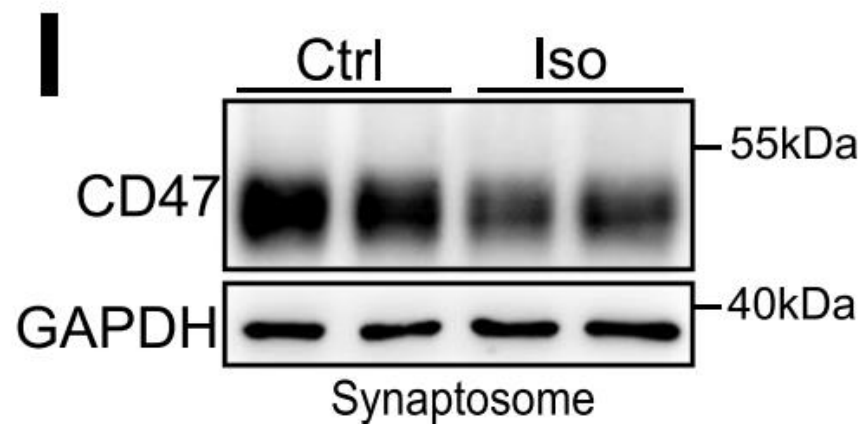
→CD47の発現減少

h

TTX処理ニューロンでCD47+シナプスの割合が減少

j

成体マウス的大脑皮質神経細胞。CNO投与によりニューロンの活動を抑制すると、CD47の発現が減少した

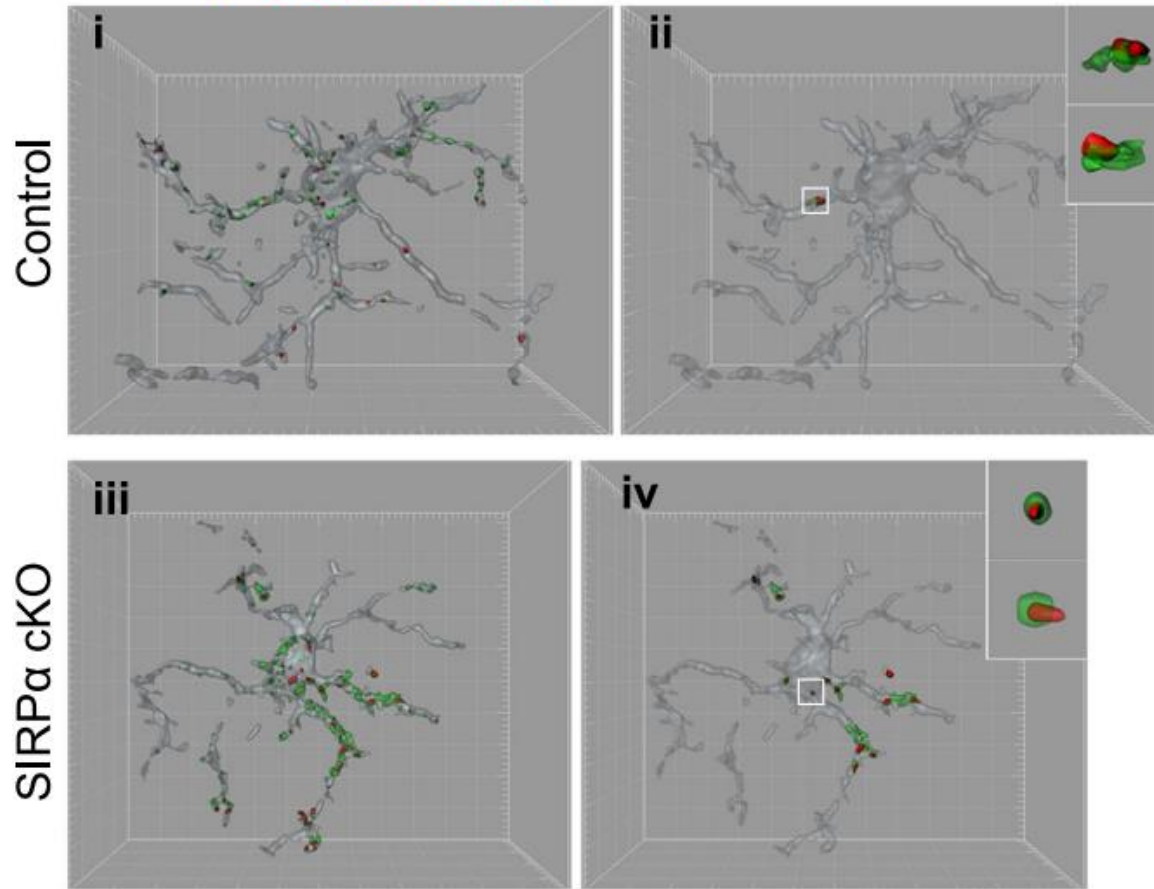


Iso：イソフルラン

m：ウエスタンブロット解析。IsoでCD47減少。

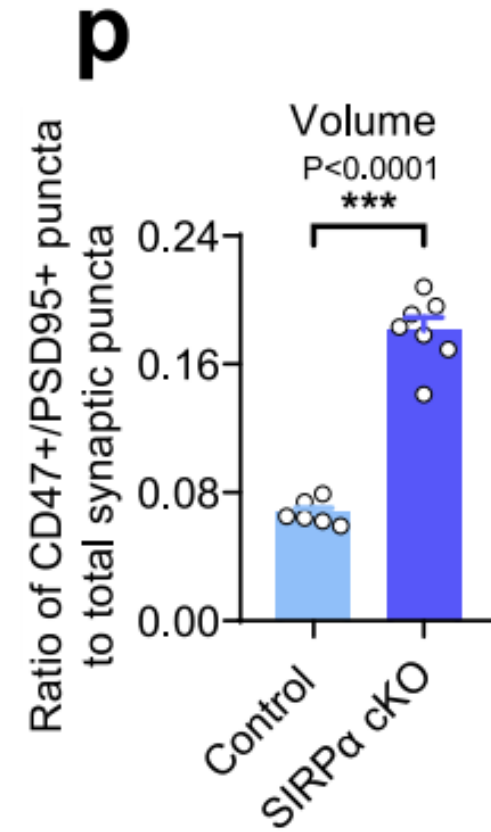
n：NanoSight。IsoでCD47+シナプトソームの減少

O Iba-1/PSD95/CD47

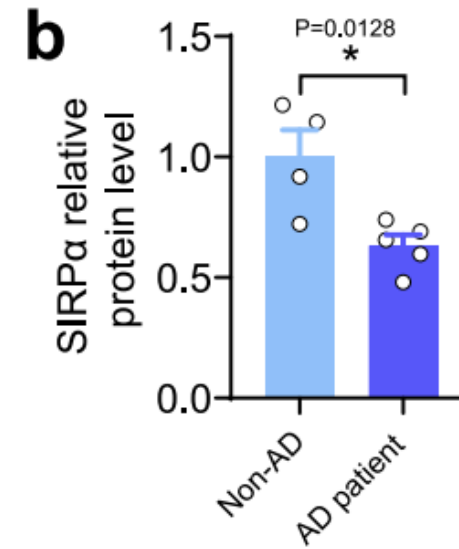
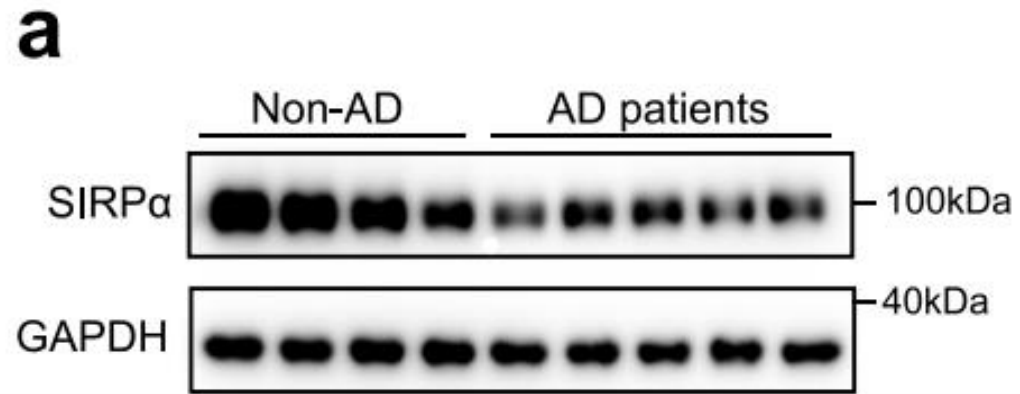


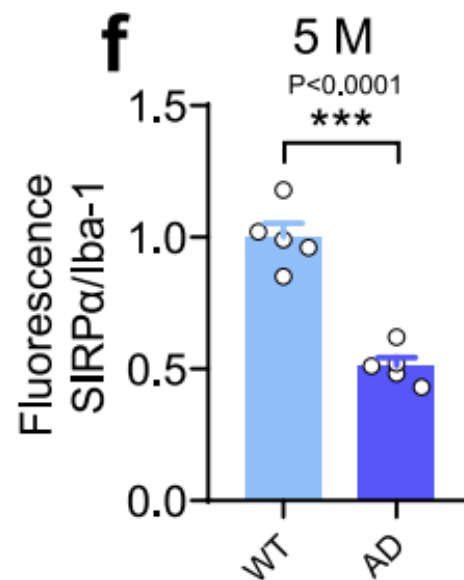
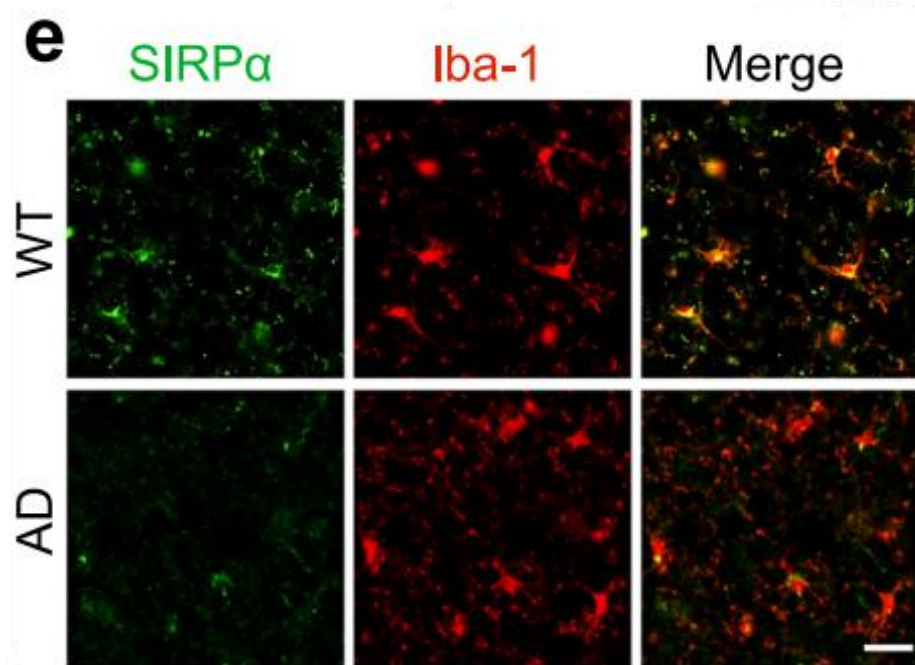
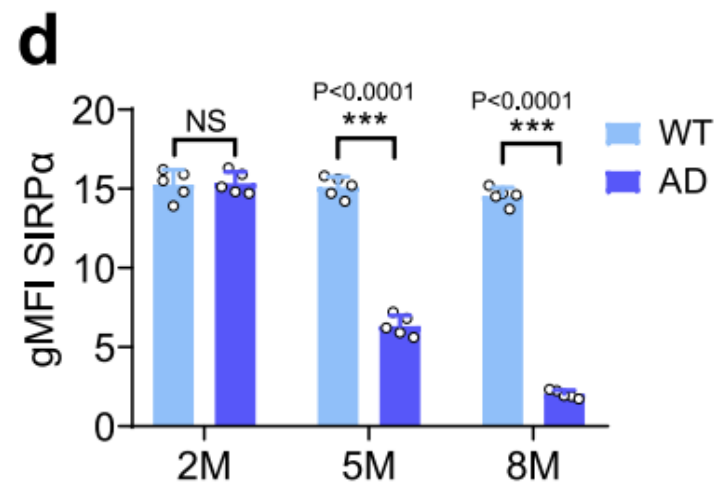
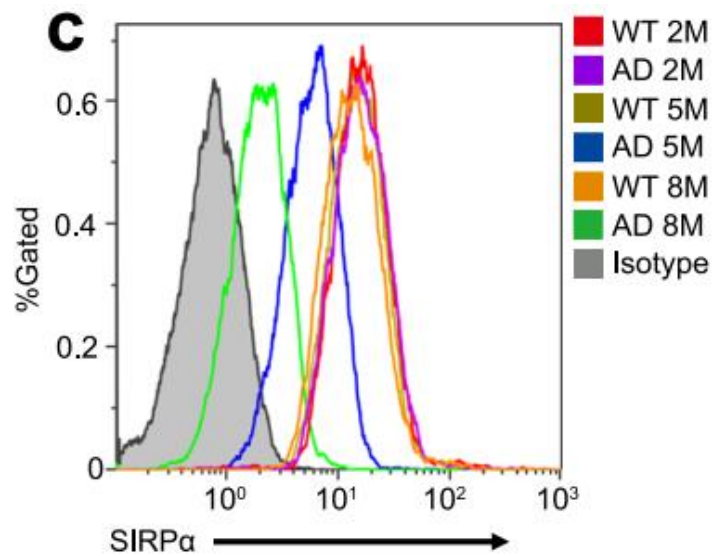
i, iii ; ミクログリア内のPSD95+とCD47+
 ii, iv : PSD95+とCD47+の共局在

→SIRP α 欠損ミクログリアではCD47-シナプスの選択的取り込みが低下する。

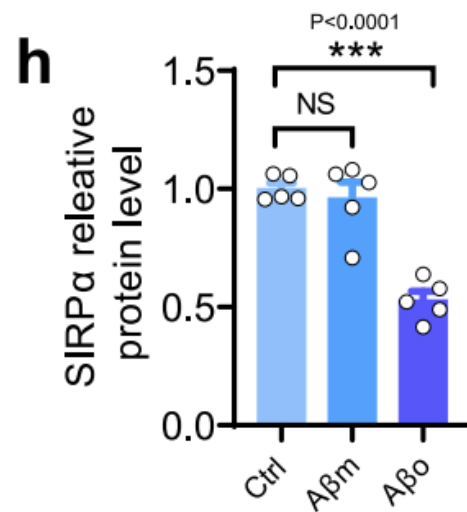
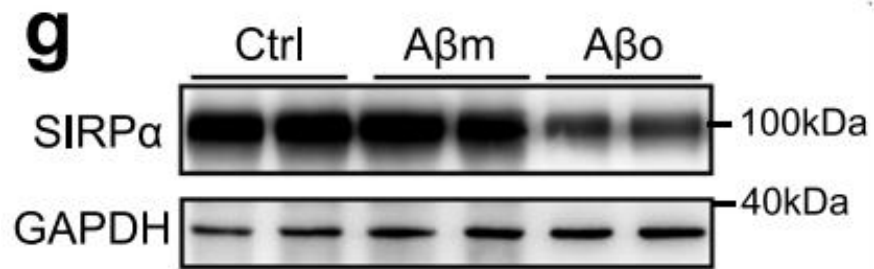


Result6



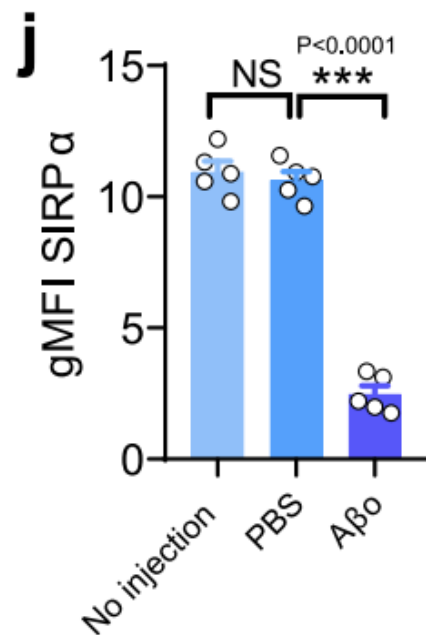
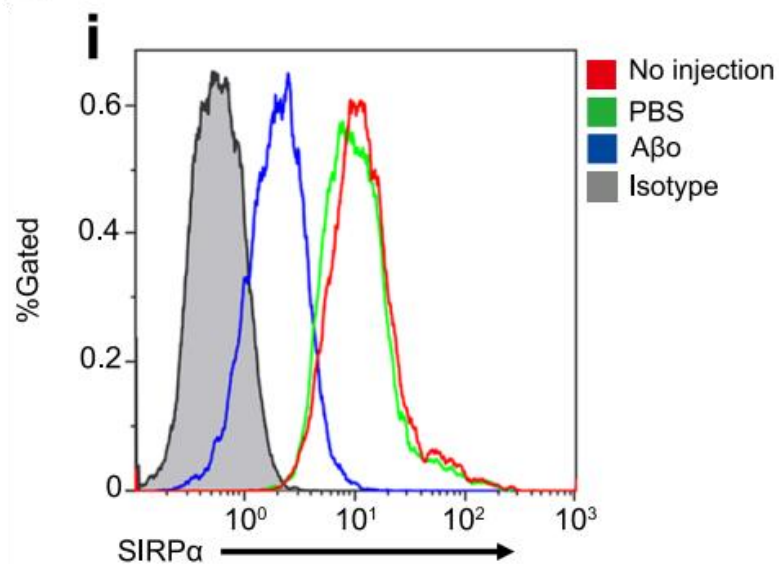


WTとAD（5ヶ月齢）の脳皮質におけるSIRP α の免疫染色と定量。



初代ミクログリアにAβモノマー/オリゴマーを負荷した

→AβoでSIRPαタンパクが低下



Aβoを脳室内に投与した3日後のフローサイトメトリー

Result7

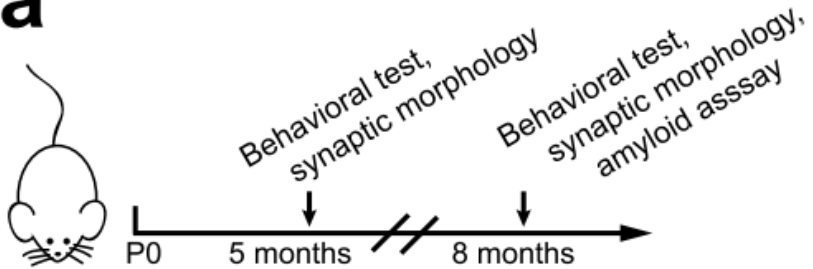
Control: Cx3cr1^{CreERT2}:SIRPα^{fl/fl} (-TAM)

SIRPα cKO: Cx3cr1^{CreERT2}:SIRPα^{fl/fl} (+TAM 2M)

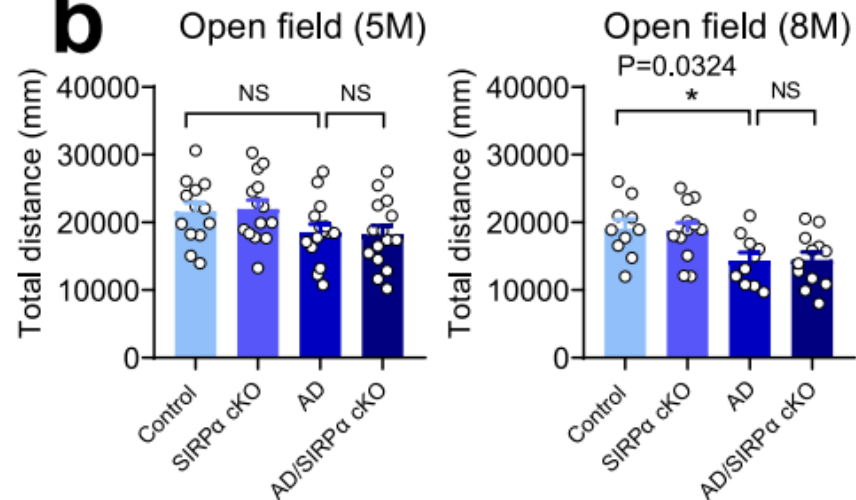
AD: APP^{swe}, PSEN1^{dE9}

AD/SIRPα cKO: AD/Cx3cr1^{CreERT2}:SIRPα^{fl/fl} (+TAM 2M)

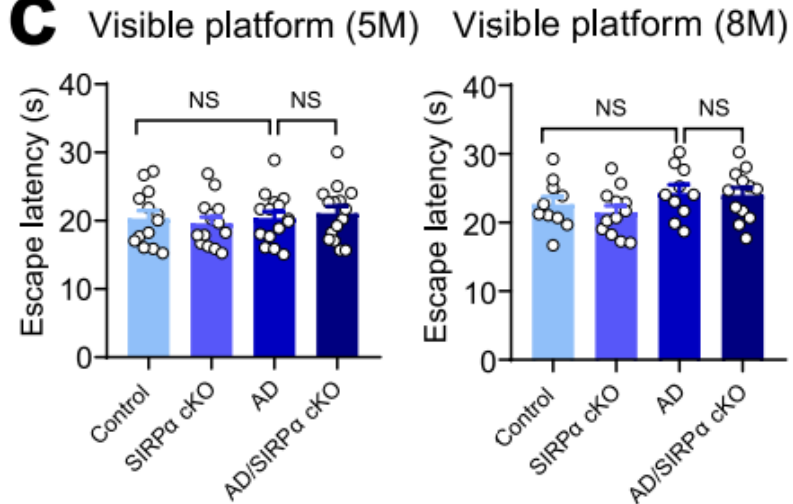
a



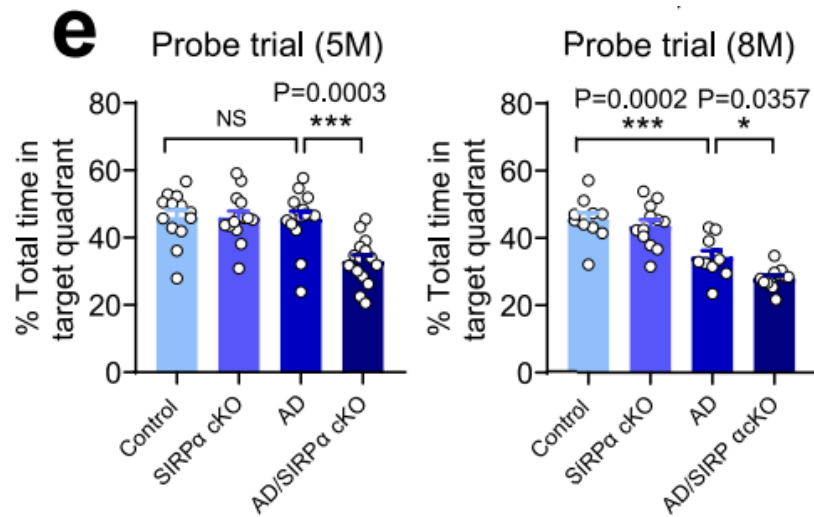
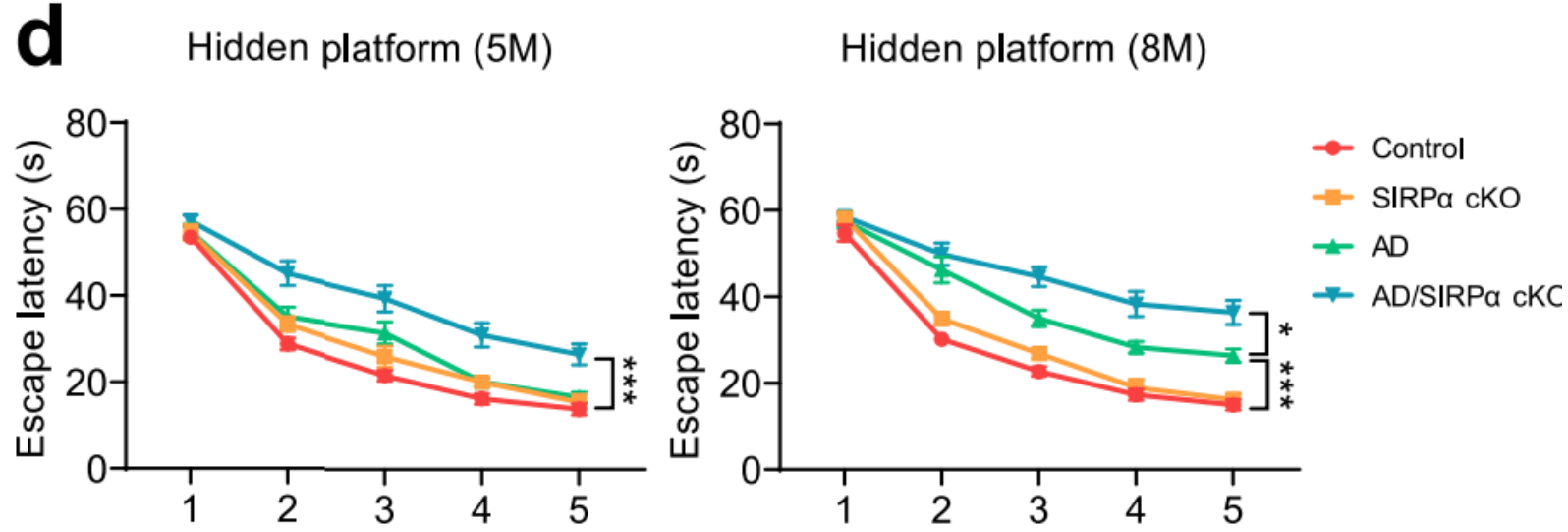
b



c

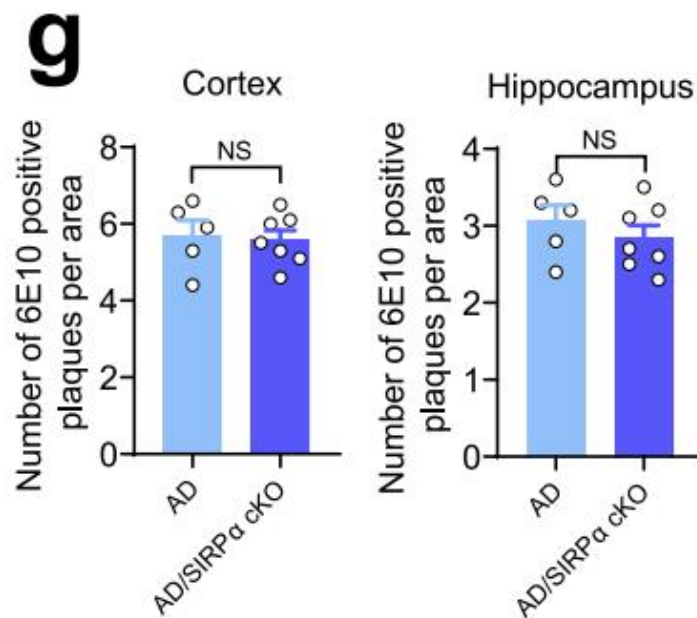
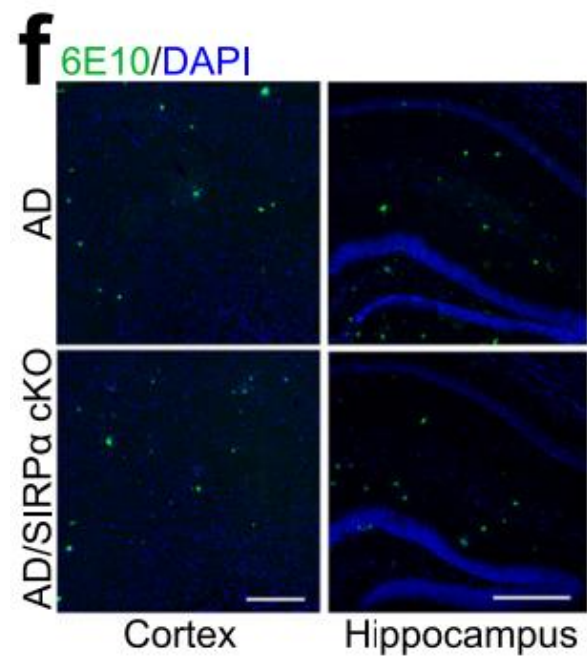


b : 運動活性
c : 視力



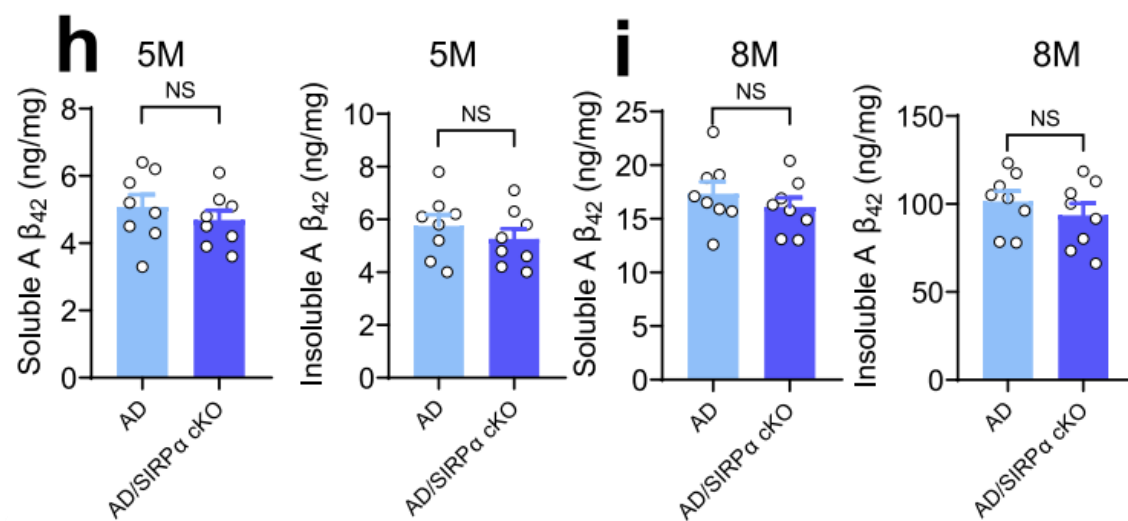
d: モリス水迷路で隠れたプラットフォームにたどり着くまでの時間 (5 日)

→ミクログリアSIRP α の欠損はプラーク形成に先行してADマウスの認知機能障害を加速させる

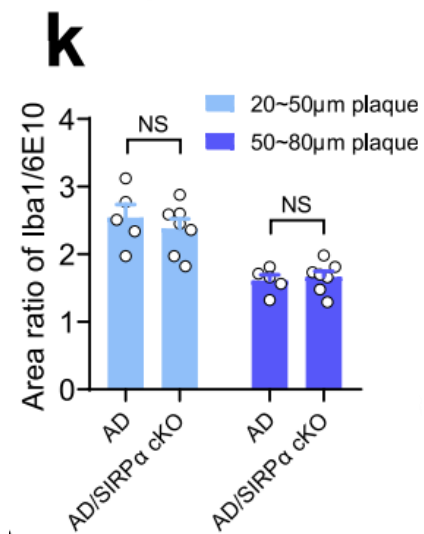
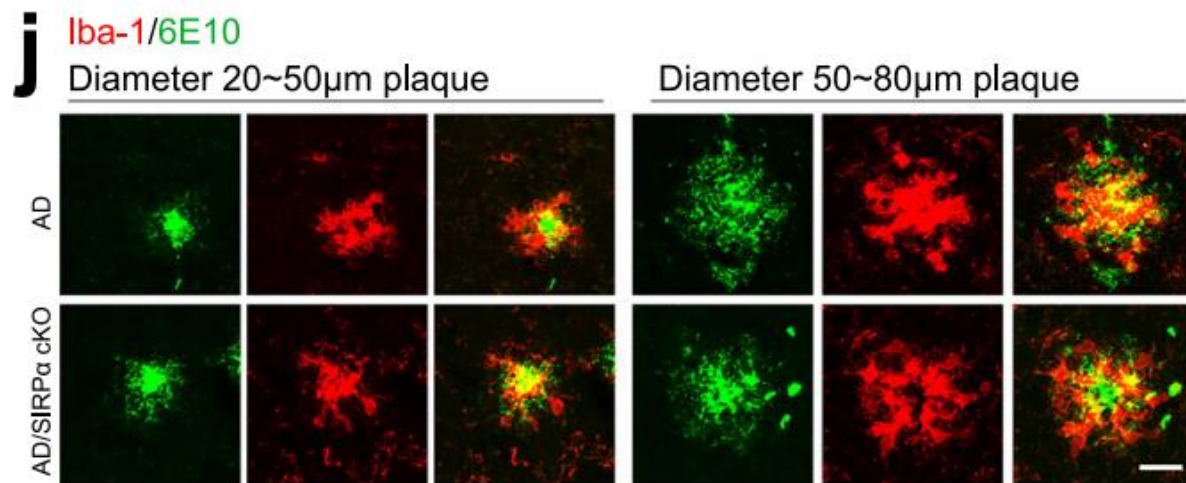


6E10 : A β 抗体
DAPI : 二本鎖DNA抗体

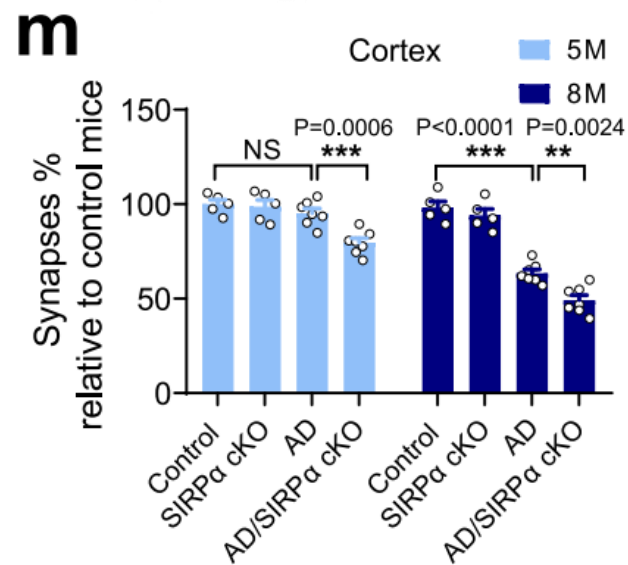
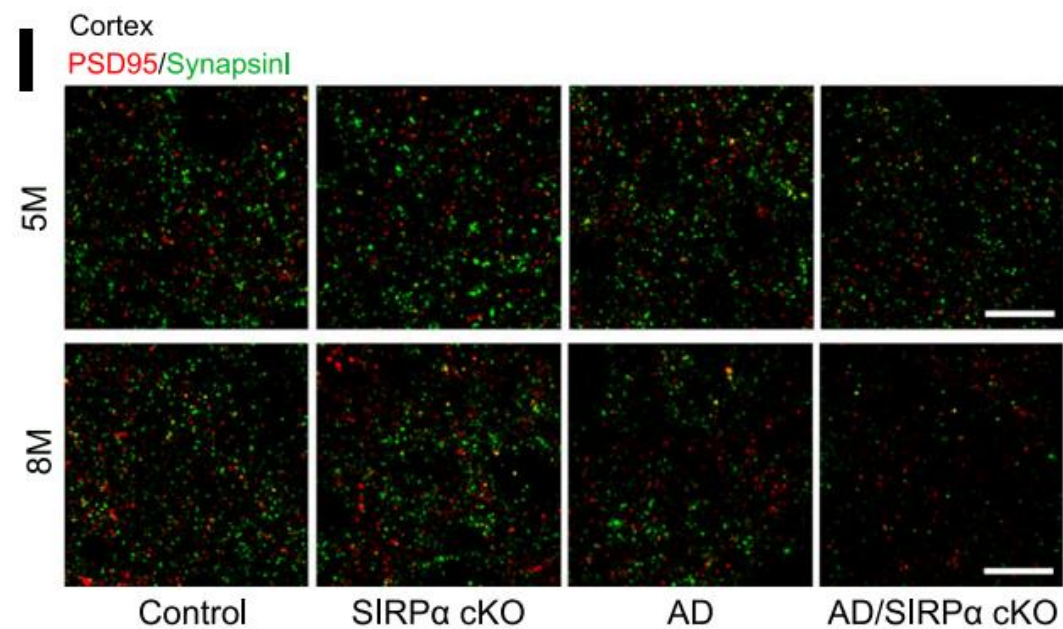
→アミロイド沈着に差がない



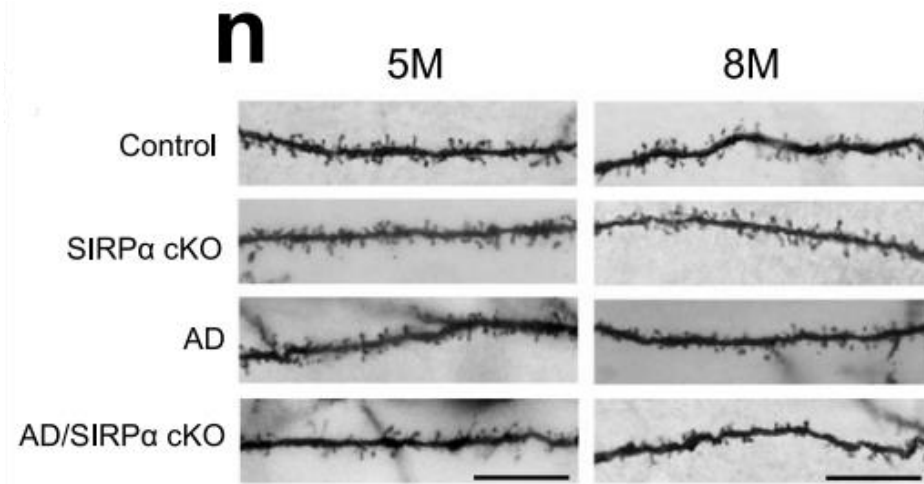
可溶性/不溶性A β のELISA解析



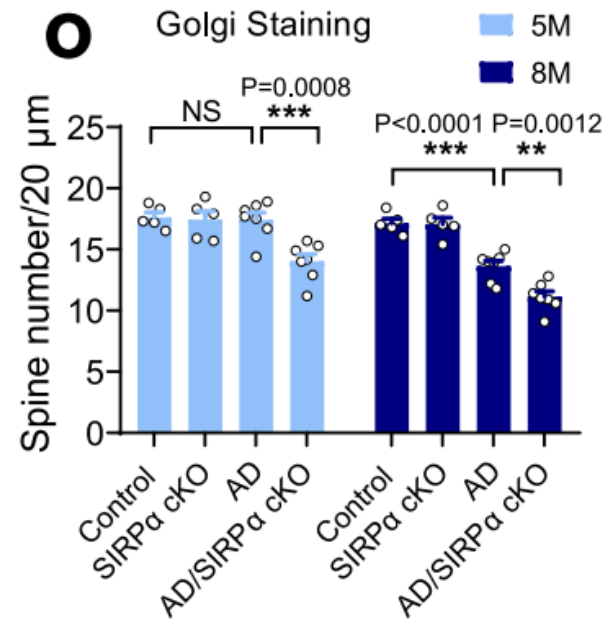
→ミクログリアのSIRP α 欠損はADマウスのアミロイド病理にほとんど影響を与えない



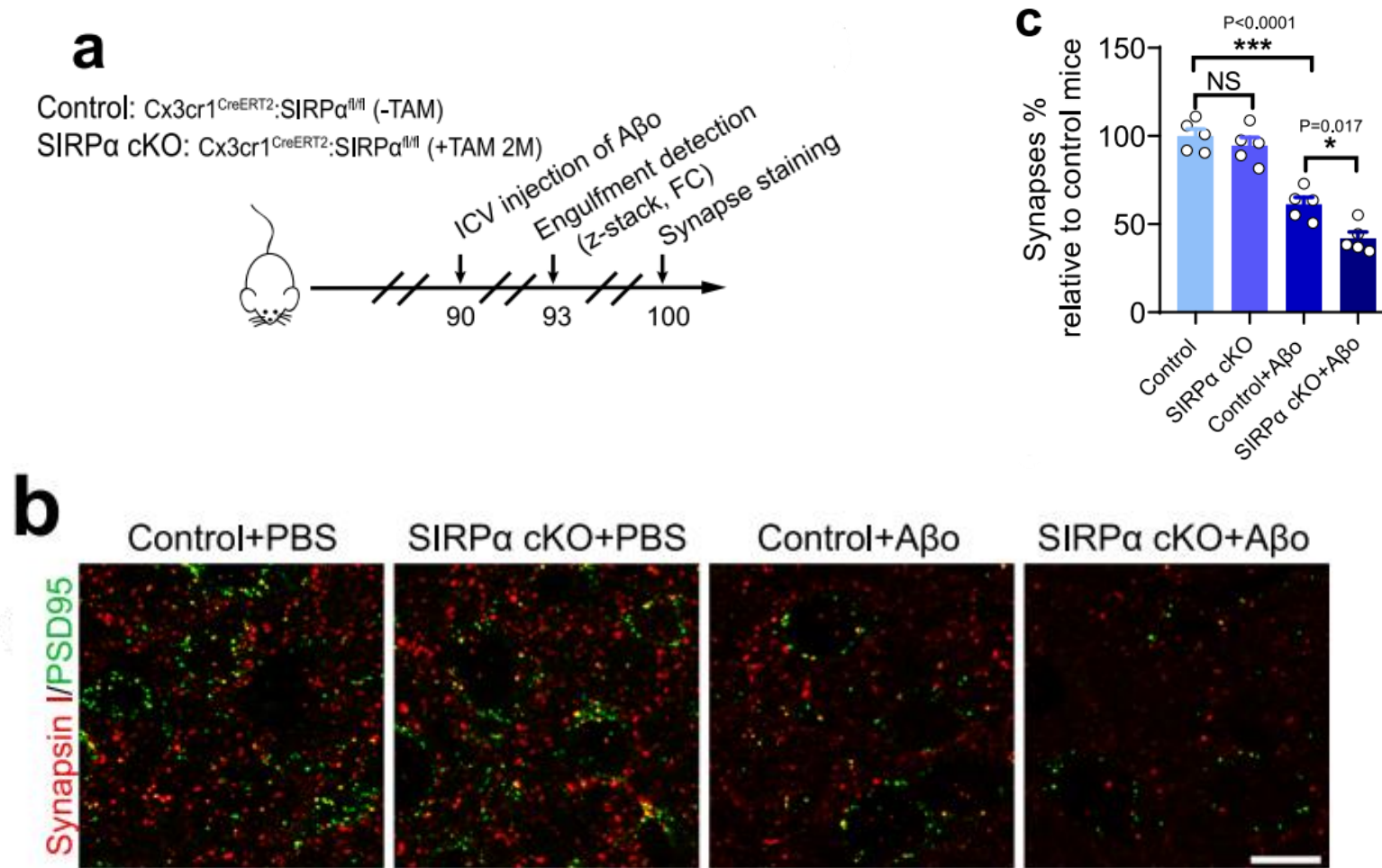
→ミクログリアSIRP α 欠損がADマウスのシナプス消失を促進する



樹状突起先端棘のゴルジ染色

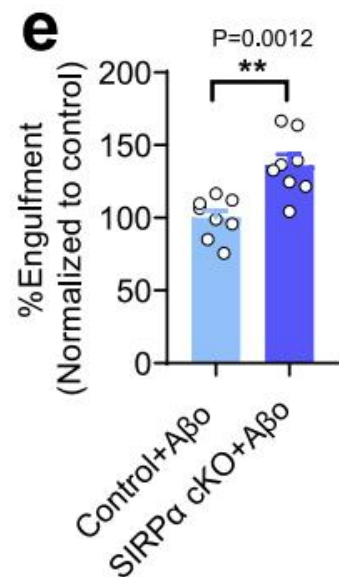
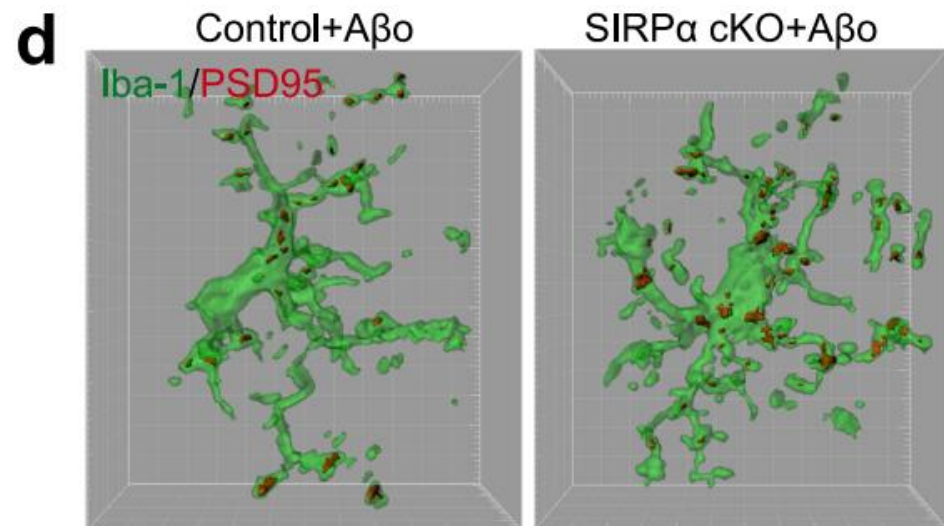


Result8

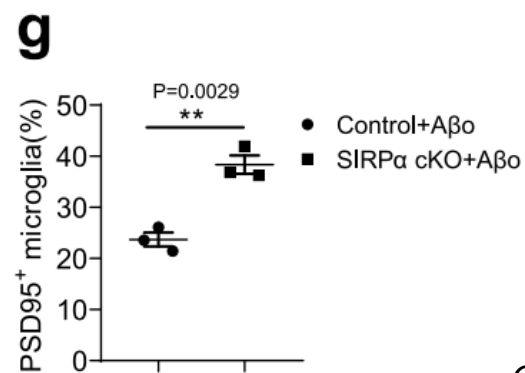
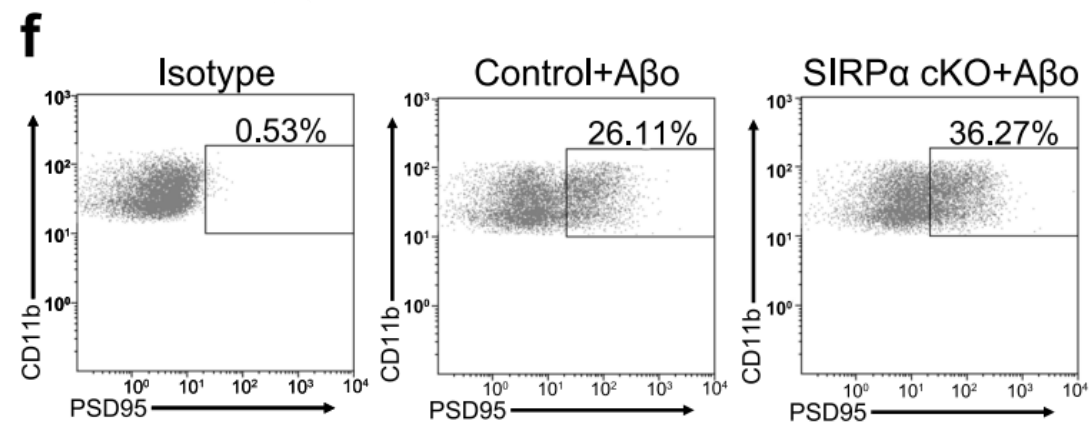


A β o注射後SIRP α -cKOマウスではシナプス数が減少した。

A β o刺激がない場合、SIRP α -cKOマウスでもシナプス数は減少しなかった。



SIRP α -cKOマウスのミクログリアはより多くのシナプスを貪食した



CD11 b : ミクログリア