

2024.2.19

ジャーナルクラブ

統合失調症患者由来の人工多能性幹細胞由来アストロサイトは、血管形成に影響を及ぼす炎症性表現型を示す

MOL PSYCHIATRY, 28, 871-882, 2023

Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Astrocytes from Patients With Schizophrenia Exhibit an Inflammatory Phenotype that Affects Vascularization.

Trindade, P., Nascimento, J. M., Casas, B. S., et al.

Molecular Psychiatry

www.nature.com/mp

ARTICLE



Induced pluripotent stem cell-derived astrocytes from patients with schizophrenia exhibit an inflammatory phenotype that affects vascularization

Pablo Trindade ^{1,2,12}✉, Juliana Minardi Nascimento ^{1,3,4,12}✉, Bárbara S. Casas ⁵, Tomás Monteverde⁵, Juciano Gasparotto ⁶, Camila Tiefensee Ribeiro ⁷, Sylvie Devalle ¹, Daniela Sauma⁸, José Claudio Fonseca Moreira⁷, Daniel Pens Gelain⁷, Lisiane O. Porciuncula ⁷, Verónica Palma ⁵, Daniel Martins-de-Souza ^{1,3,9,10} and Stevens K. Rehen ^{1,11}✉



Nature

<https://www.nature.com/mp>

Molecular Psychiatry - Nature

Nature publishing group が出版

Molecular Psychiatry

インパクトファクター - ランク・動向・予測分析

[Homepage](#) · [Submit Manuscript](#) · [Wikipedia](#)

[2年間のIF](#)

[3年間のIF](#)

[4年間のIF](#)

[5年間のIF](#)

[アルタイム IF](#)

[IF動向予測](#)

最新
インパクトファクター

2023-2024

13.437

インパクトファクター動向



Molecular Psychiatry

www.nature.com/mp

REVIEW ARTICLE

OPEN

The synaptic hypothesis of schizophrenia version III: a master mechanism

Oliver D. Howes^{1,2,3} and Ellis Chika Onwordi^{1,2,3,4}

© The Author(s) 2023

[Check for updates](#)

Molecular Psychiatry

www.nature.com/mp

ARTICLE

OPEN

Subcortical volumetric alterations in four major psychiatric disorders: a mega-analysis study of 5604 subjects and a volumetric data-driven approach for classification

[Check for updates](#)

4大精神疾患(SZ,BP,MDD,ASD)で皮質下体積比較

Szで扁桃核、視床、側坐核の体積小

尾状核(特に左)、被殻、淡蒼球の体積大

脱線：

ASDでは左右の視床体積が健常者に比して小さい
(統計的に有意では無かったが…)

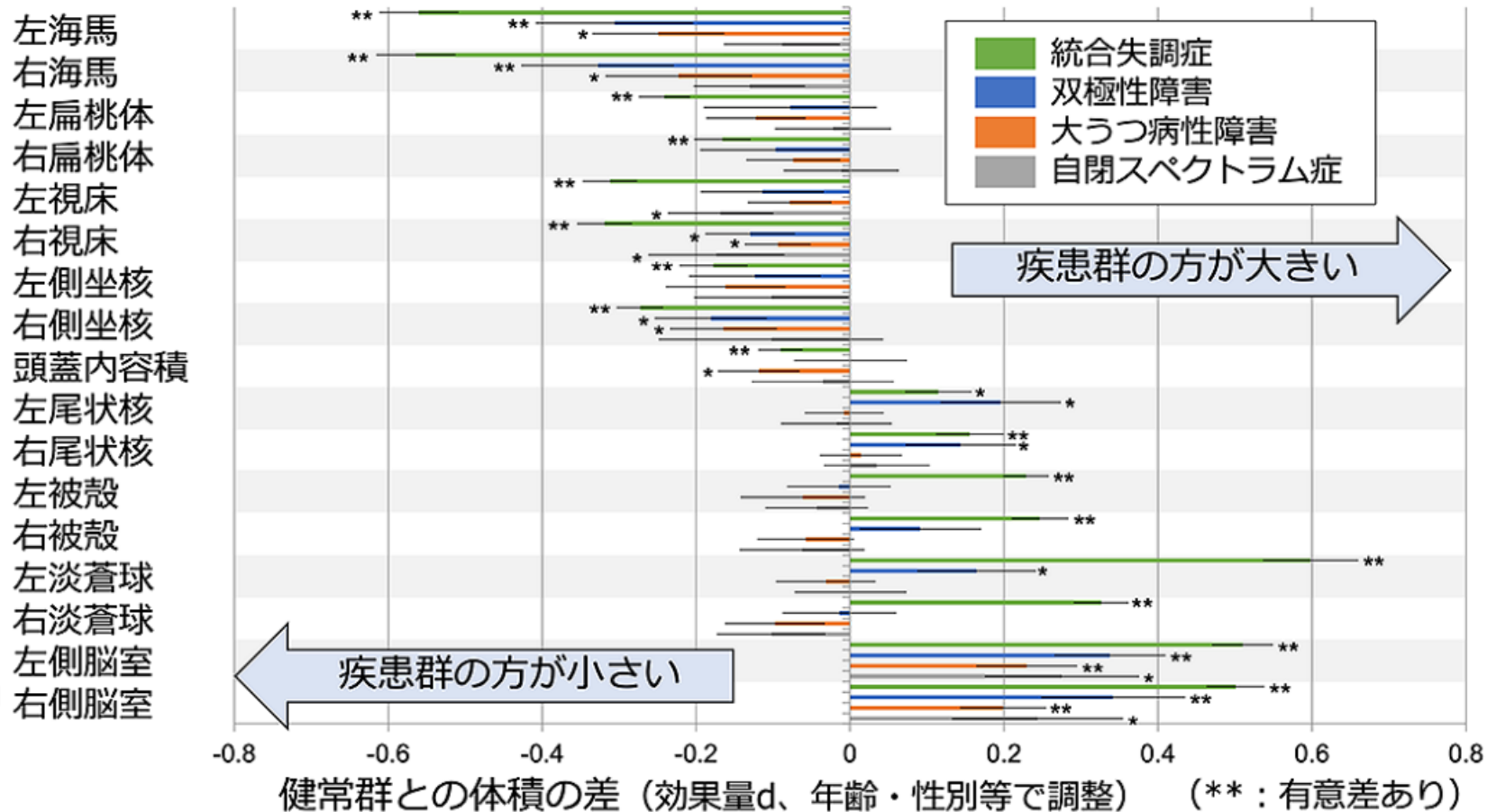
神谷さんの研究に繋がる？

ARTICLE OPEN

Check for updates

Subcortical volumetric alterations in four major psychiatric disorders: a mega-analysis study of 5604 subjects and a volumetric data-driven approach for classification

【解析①】体積の群間差





Pablo Trindade

Federal University of Rio de Janeiro | UFRJ · Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
PhD

About

Publications 46

Network

About

46

Publications

4,913

Reads ⓘ

1,716

Citations

601–
800

Federal University of
Rio de Janeiro

📍 Brazil

World University Rankings 2024

The *Times Higher Education* World University Rankings 2024 include 1,906 universities across 108 countries and regions.

351–
400

Hokkaido University

📍 Japan

351–
400

University of
Tsukuba

📍 Japan

401–
500

Tokyo Medical and
Dental University
(TMDU)

📍 Japan

601–
800

The University of
Aizu

📍 Japan

601–
800

Hiroshima
University

📍 Japan

601–
800

Juntendo University

📍 Japan

601–
800

Keio University

📍 Japan



世界大学ランク日本版で23位！会津大学って？ 評価の理由を調査

ウェブ 2017年6月6日・世界大学ランキング日本版で23位にセンター試験は理科1科目のみ 会津大学って知っていますか？ 福島県会津地方唯一の大学なんですが、英国の出

この研究は、統合失調症（SCZ）患者由来のヒト誘導多能性幹細胞（hiPSC）から派生したアストロサイトの分子および機能の異常に焦点を当てています。以下は、主な結果の要約です。

1. プロテオミクス解析:

1. 研究者はアストロサイトのプロテオミクス解析を行い、免疫機能と血管形成に関連するタンパク質に変化があることを特定しました。
2. 具体的には、免疫応答と血管形成に関与するタンパク質に変更が見られました。

2. NF- κ B p65サブユニット発現:

1. SCZ由来のアストロサイトでは、核因子 κ B（NF- κ B）p65サブユニットの発現が低下していました。
2. NF- κ Bは免疫応答を調節する重要な転写因子です。

3. 炎症反応:

1. SCZ由来のアストロサイトを腫瘍壊死因子アルファ（TNF- α ）で刺激した後、サイトカインの分泌に有意な増加は見られませんでした。
2. これは、これらのアストロサイトが免疫刺激に対する反応に変化または障害がある可能性を示唆しています。

4. IL-8分泌:

1. 炎症性サイトカインの中で、IL-8の分泌は特にSCZ由来のアストロサイト誘導培地（ASCZCM）で上昇していました。
2. これは、IL-8の生成に特有の調節異常がある可能性を示唆しています。IL-8は免疫応答に関与するケモカインです。

5. 血管形成への影響:

1. アストロサイト誘導培地が鶏胚の脈絡膜（CAM）アッセイで血管形成に与える影響を評価しました。
2. ASCZCMは新しく成長した血管の直径を減少させました。
3. 研究者は外部からIL-8を添加することで同様の効果が得られたことも観察し、IL-8がSCZアストロサイトに関連する変化した血管形成に寄与する可能性が示唆されています。

6. 結果の意義:

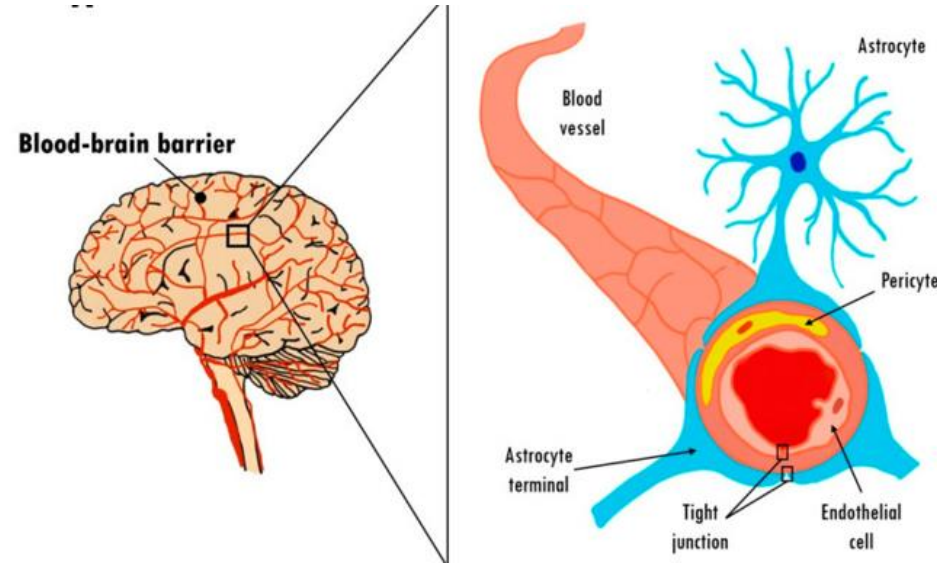
1. これらの結果は、統合失調症患者由来のアストロサイトが免疫機能の異常を示す可能性があります。
2. これにより、IL-8などの因子の分泌が統合失調症の発症に寄与する可能性があります。

要約すると、この研究は統合失調症におけるアストロサイトの分子および機能の特徴に関する洞察を提供し、免疫関連タンパク質、NF- κ B発現、IL-8の役割に焦点を当てています。これらの結果は、アストロサイトの機能異常と統合失調症の病因との複雑な相互作用を理解するのに貢献しています。

本研究の背景

- ・統合失調症(SCZ)は脳内免疫系の障害であるという考えを支持する研究報告が増えている.(Kroken et al.,2018)

- ・アストロサイトはBBBの形成、サイトカイン放出を介して脳内免疫に関与している



- ・患者死後脳、患者由来iPS細胞、動物モデルを使った研究で統合失調症患者においてアストロサイトの密度が減少していることが明らかになっている (Cotter et al., 2001; Brennand et al., 2011; Dietz et al., 2020; Naujock et al., 2020) が、SCZにおけるアストロサイト免疫反応については、まだ十分に解明されていない

- ・本研究の目的はSCZ患者由来のヒトiPS細胞(hiPSC)由来アストロサイトのプロテオーム、炎症反応、及び血管形成への影響について調べることである

実験手法

健常者(CTR)4名と統合失調症患者3名のiPS細胞から得たヒトiPS細胞由来の神経幹細胞(NCS)から分化させたアストロサイトを用いて

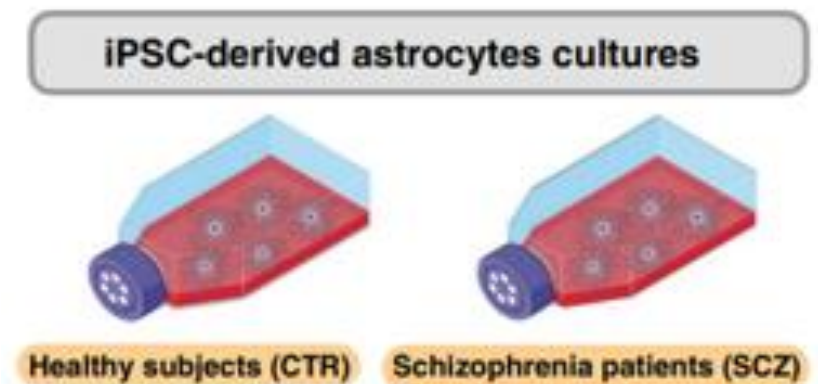
NCSをGeltrexでコーティングしたNSC-expansion mediumで培養

翌日、培養液を(DMEM/F12, 1×N2サプリメント, 1%FBS)に交換する

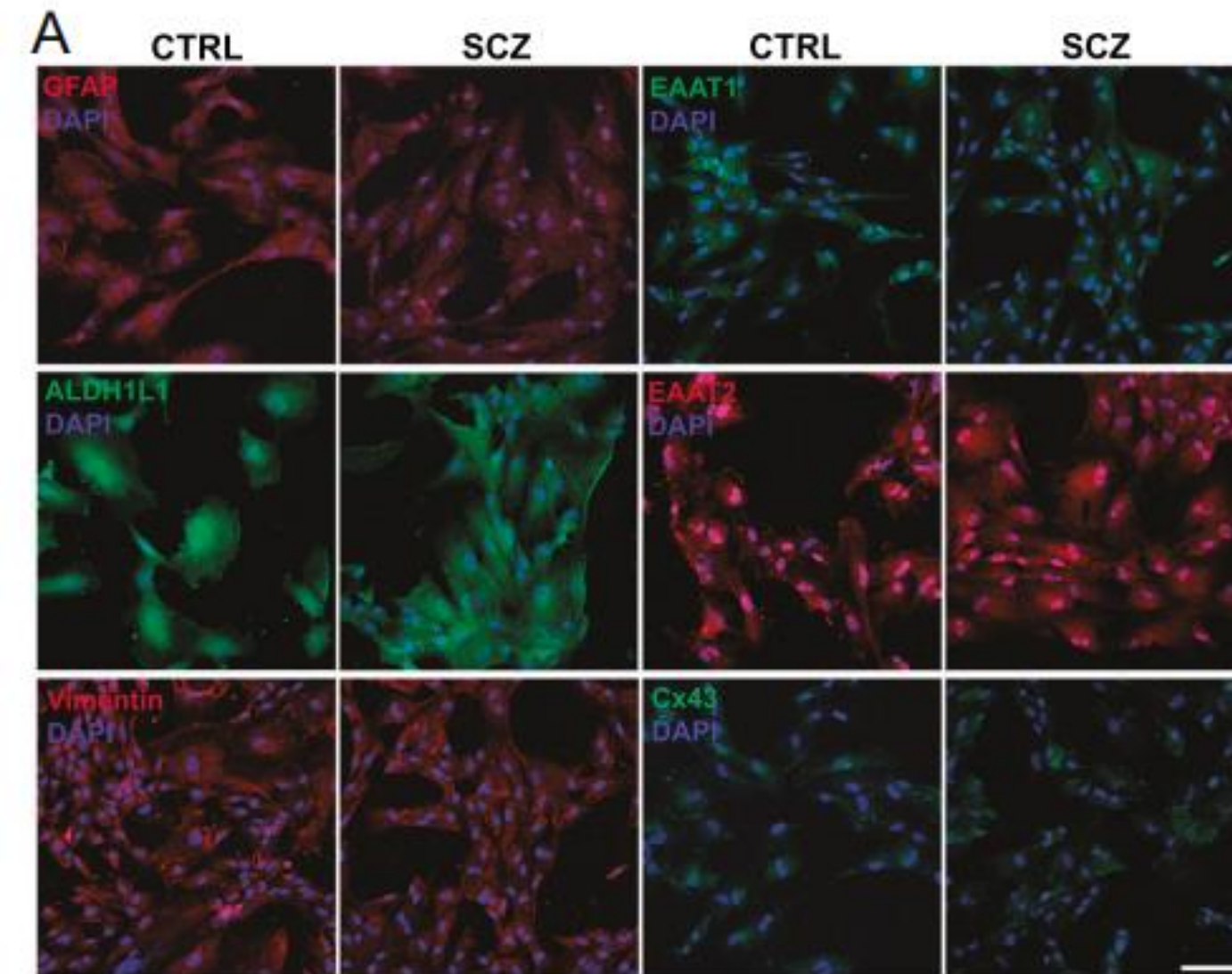
培養液の交換はそれから21日間1日おきに行う

21日後からは(10%FBS, DMEM/F12)に培養液を変えて4週間培養し、アストロサイトの機能を成熟させる

初日から数えて49日後から実験を開始する



結果 1 hiPSC由来アストロサイトの免疫細胞化学とプロテオミクス解析



4%PFAでFIX20分

↓

0.3%TritonX-100でpermeabilize

↓

2%BSAでblocking

↓

1次抗体 @4°C overnight

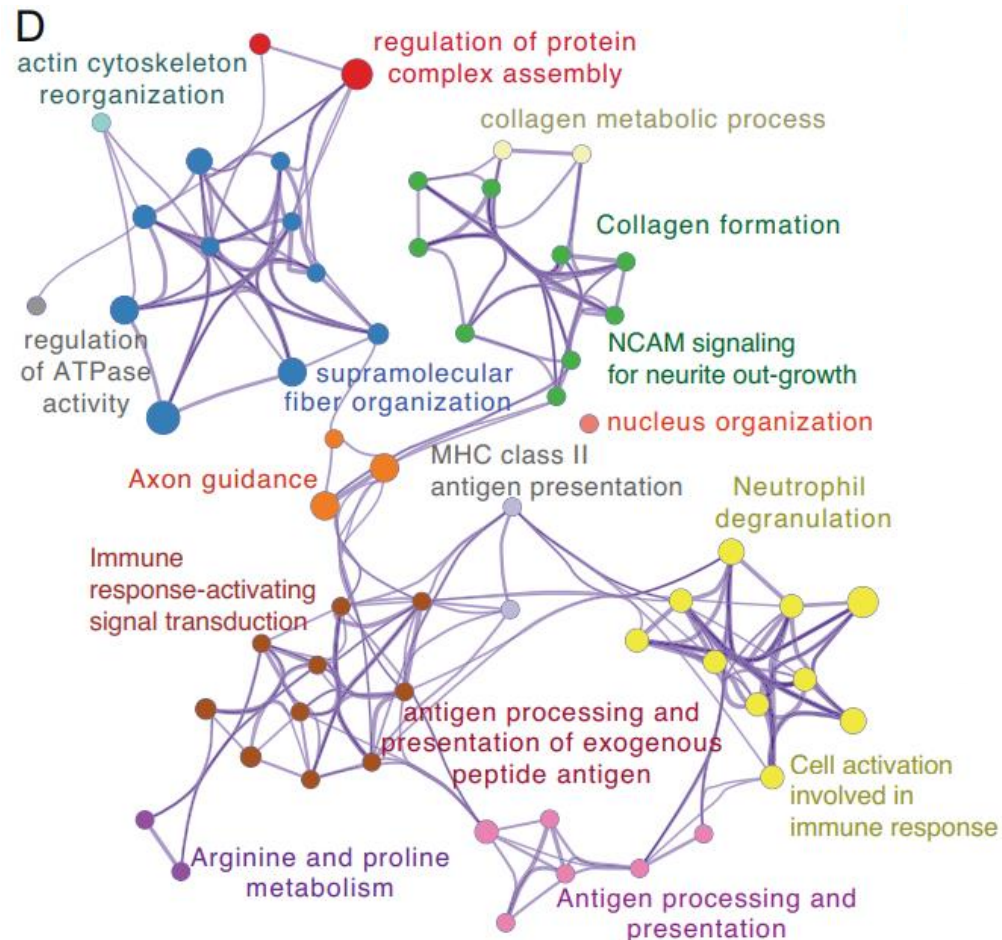
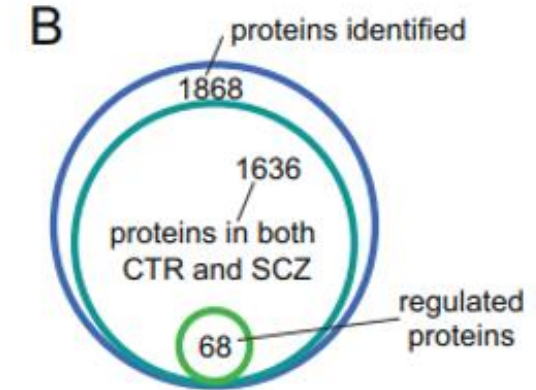
↓

2次抗体

GFAP, Vimentin, EAAT1, EAAT2, ATP1A2, Cx43, ALDH1L1 といったアストロサイト特異的な抗原マーカーはCTRL群, SCZ群共に同程度発現していた

結果 1 hiPSC由来アストロサイトの免疫細胞化学とプロテオミクス解析

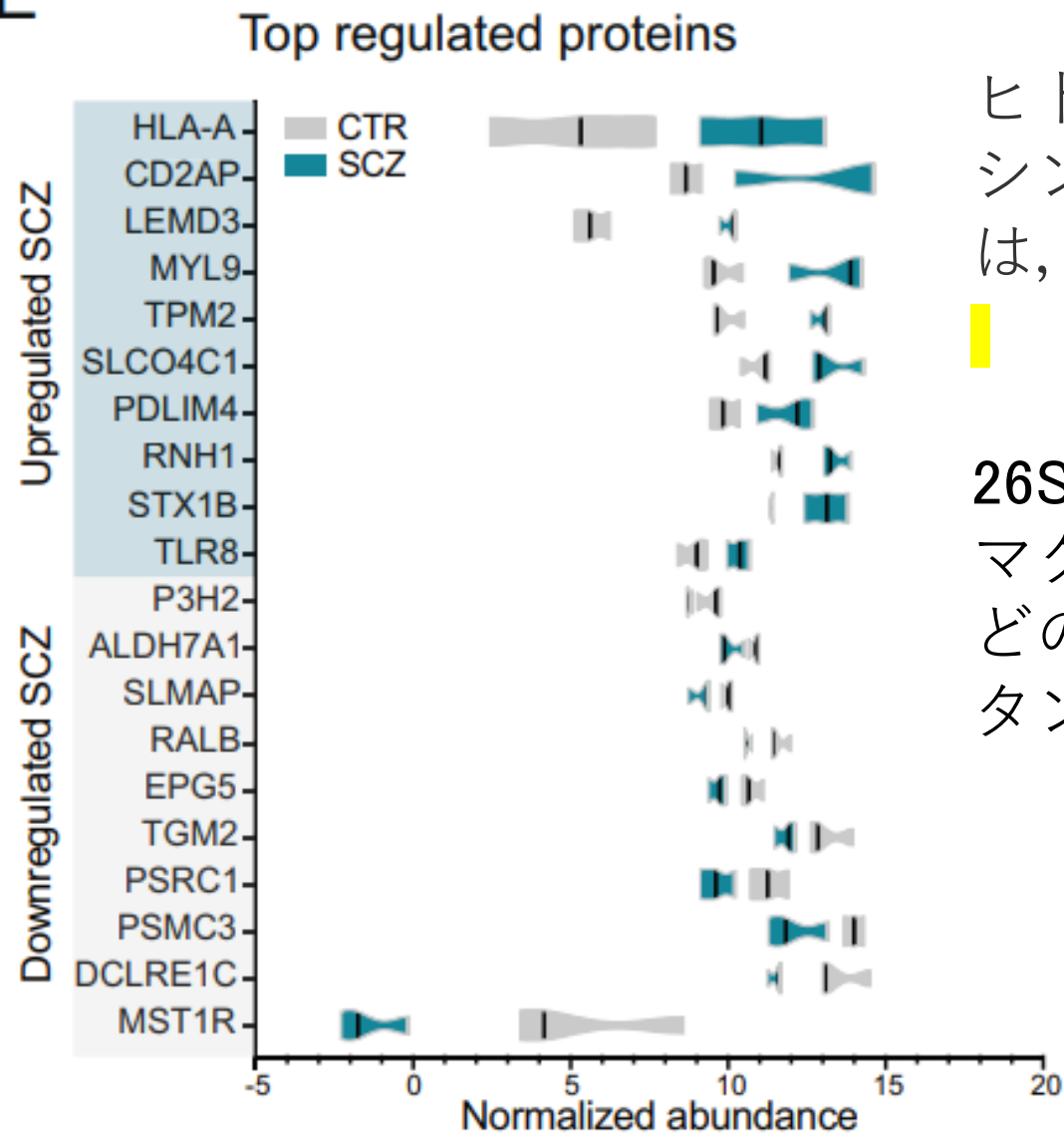
プロテオーム解析(細胞内で発現しているタンパクを網羅的に解析)の結果
同定された**1868**のタンパク質のうちそのうち**1636**が**SCZ**群と**CTR**群の両方に存在
そのうち、**68**のタンパク質が**SCZ**群で有意に異常発現(増加or低下)している



細胞内骨格(アクチン)、タンパク質複合体の組み立ての調節、**ATPase**活性、コラーゲン形成、**NCAM**、代謝プロセス、抗原提示、免疫系など関連するタンパク質は多岐にわたる

中でも...

E

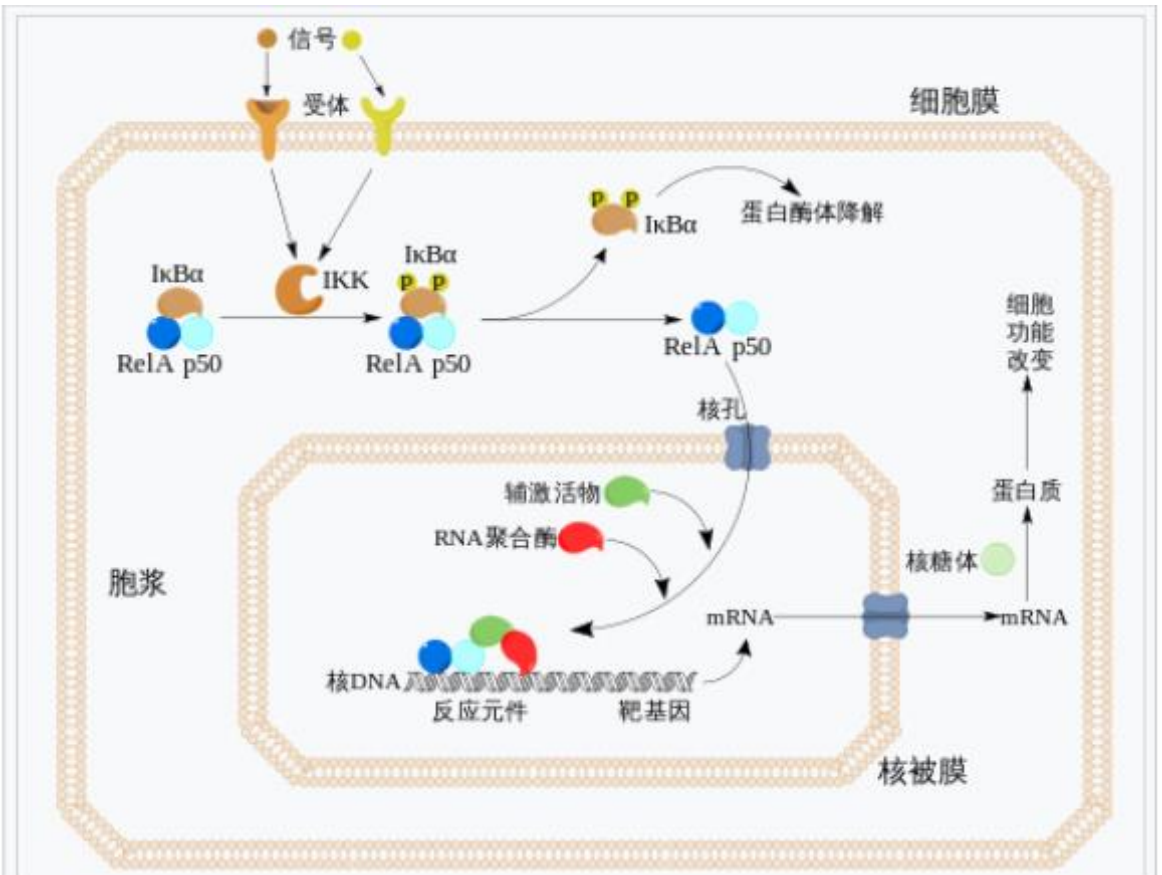


ヒト白血球抗原(HLA)-A, Toll様受容体(TLR)8, シンタキシン(STX)1Bなどの免疫応答タンパク質は, SCZのアストロサイトで発現量増加

26Sプロテアソーム調節サブユニット6A(PSMC3)マクロファージ刺激タンパク質受容体(MST1R)などのタンパク質の分解、移動、増殖を調節するタンパク質はSCZのアストロサイトで発現量低下

NF- κ B p65について説明

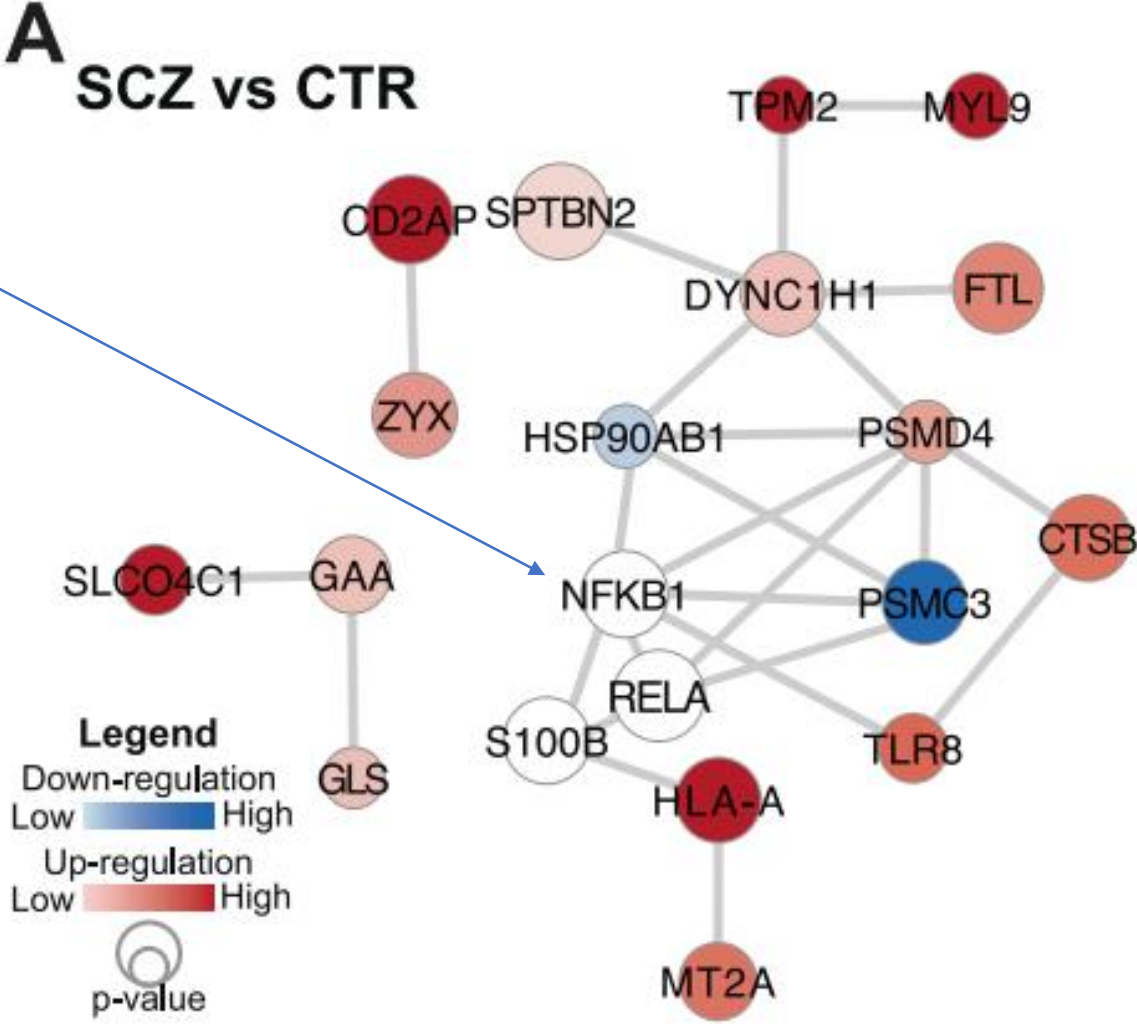
NF- κ Bは免疫応答を調節する重要な転写因子です



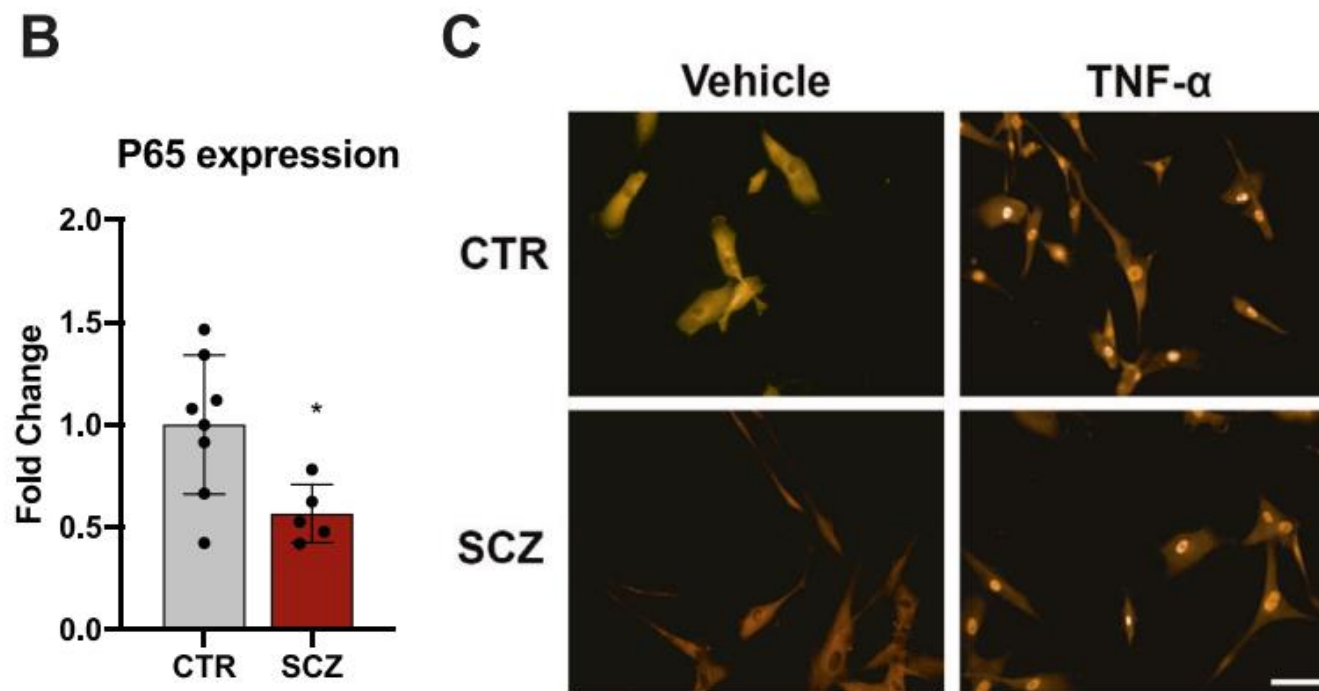
転写因子NF- κ Bの活性化機構（古典的経路）。I κ Bが外れるとNF- κ Bは核内へと移行し、DNAと結合することが可能となる。

結果 2 SCZアストロサイトでのNF- κ Bの発現量

プロテオーム解析でSCZ群で有意に異常発現したタンパク質はNF- κ Bに関連していた



結果 2 SCZアストロサイトでのNF- κ Bの発現量



TNF- α 刺激後のNF- κ B p65サブユニットの発現は、CTR由来アストロサイトと比較して、**SCZアストロサイトでは50%程度減少**していた

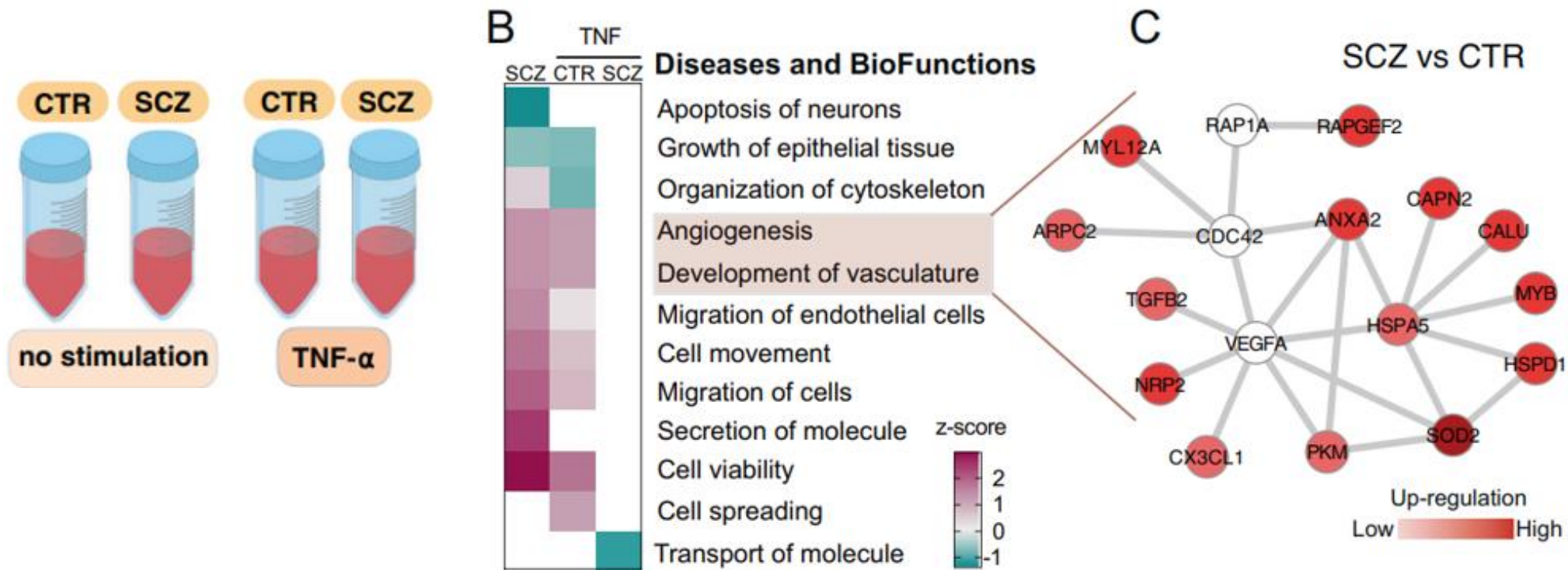
→SCZ アストロサイトで**炎症反応、免疫応答が阻害**されている可能性

結果 3 SCZアストロサイトでの血管新生関連タンパクの発現

SCZ アストロサイトでNF- κ B p65サブユニットが減少した

→ SCZ 由来アストロサイトで炎症反応が妨げられるか検証

CTR、SCZアストロサイトにおいて非刺激とTNF- α 刺激との比較を行った

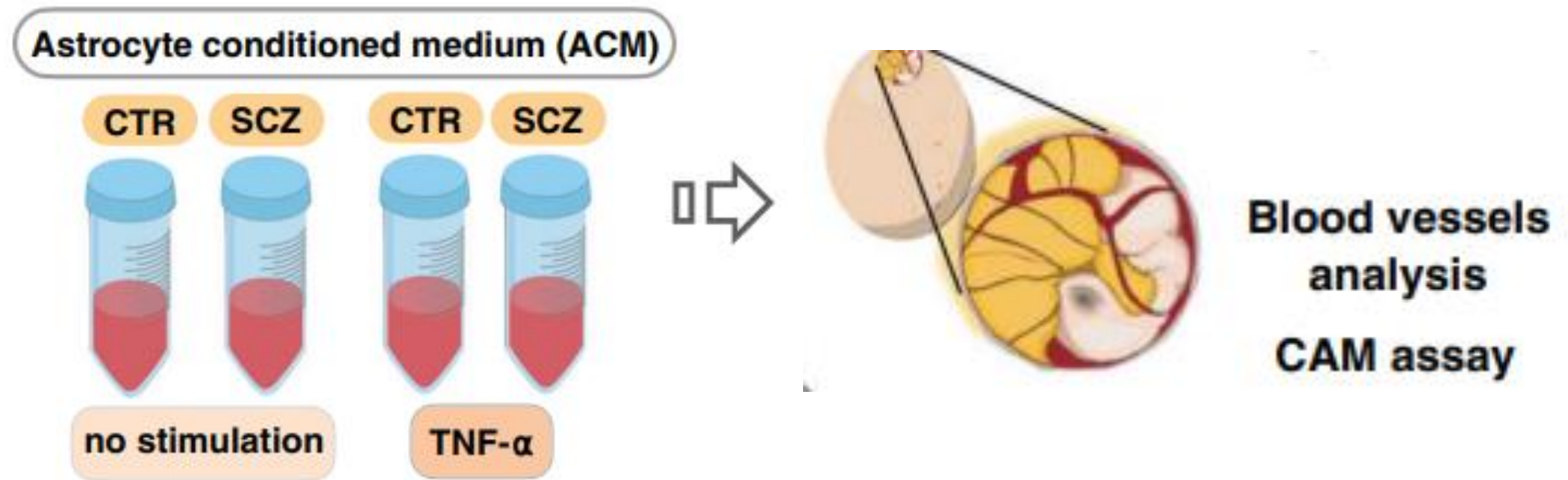


非刺激SCZアストロサイトとTNF- α 刺激CTRアストロサイトで類似したタンパク発現

(血管新生関連タンパクの発現上昇)

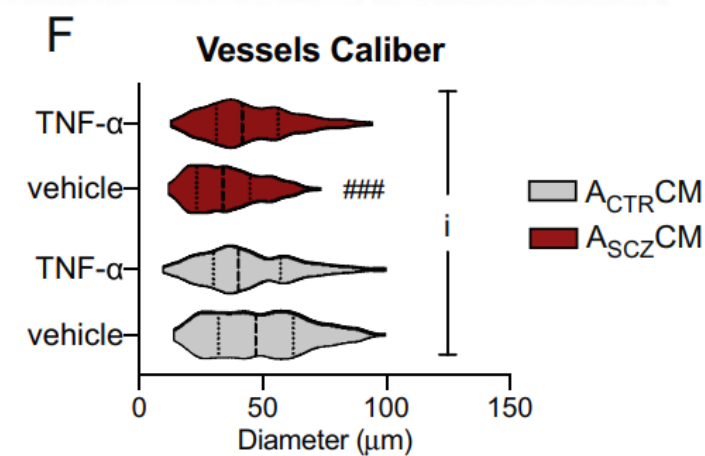
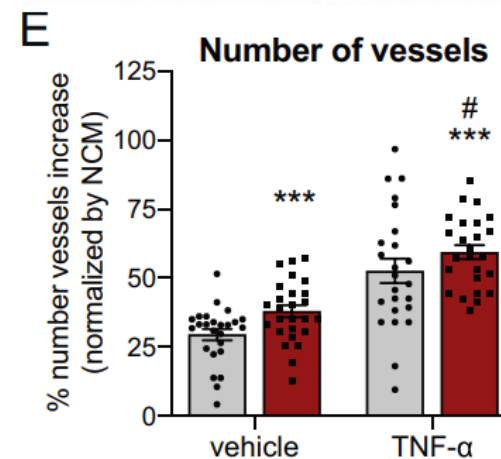
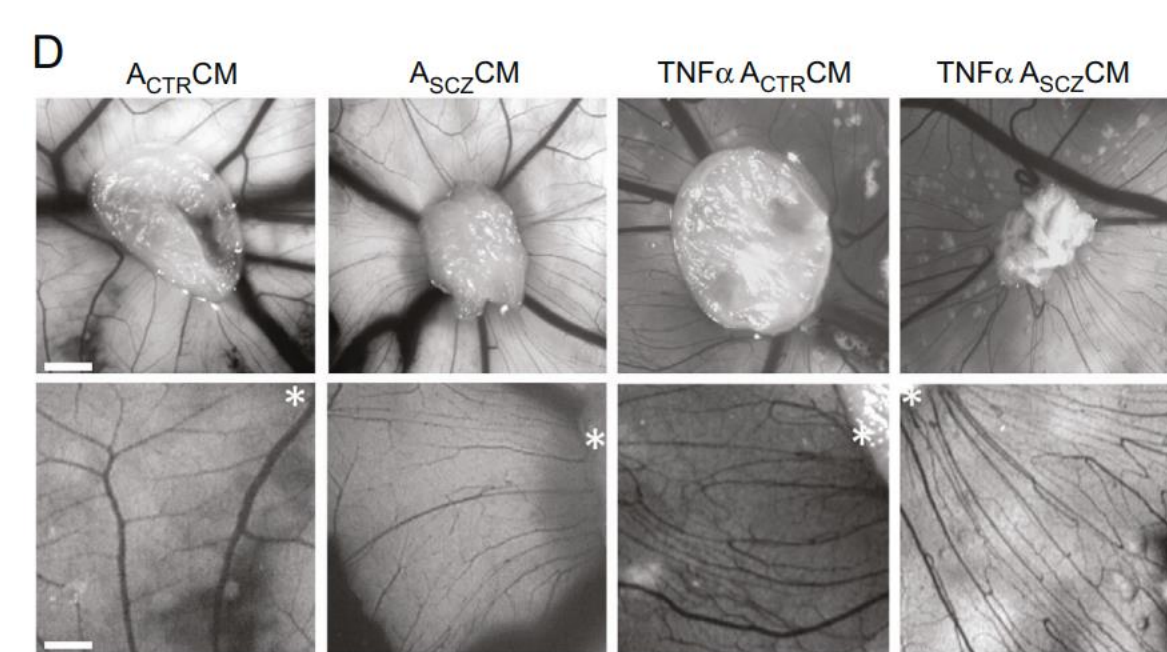
結果 4 ニワトリ絨毛膜(CAM)アッセイを用いたin vivo血管新生解析

CTR群とSCZ群のTNF α 刺激および非刺激アストロサイトのアストロサイト調整培地(ACM)をニワトリ絨毛膜(CAM)に投与してin vivoでの血管新生への影響について解析



結果 4 ニワトリ絨毛膜(CAM)アッセイを用いたin vivo血管新生解析

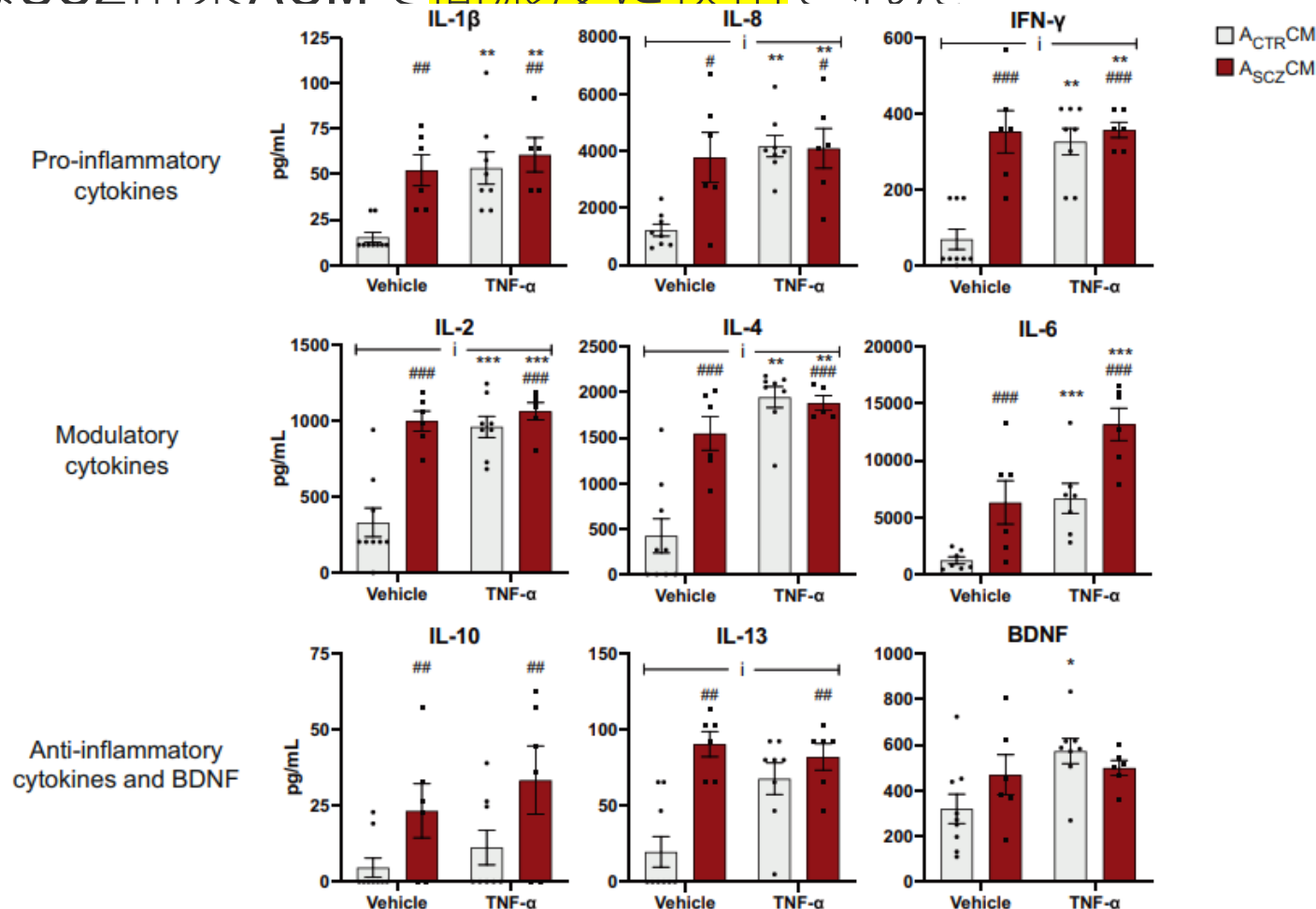
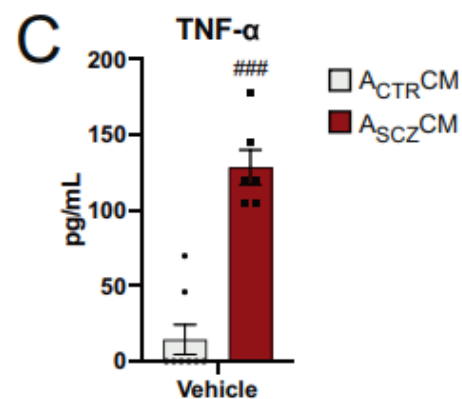
- ・ **SCZ由来ACM処理**ではCTR由来ACM処理よりも、非刺激及びTNF- α 刺激の両方で有意に**血管新生の本数が増加した**
- ・ SCZ由来ACM処理とCTR由来ACM処理共に**TNF- α 刺激**により**血管新生の本数が増加した**
- ・ **SCZ由来ACM**は、CTR由来ACMと比較して **CAM血管の平均径を約30%減少させた**。



結果 5 SCZアストロサイトの炎症性サイトカインの分泌

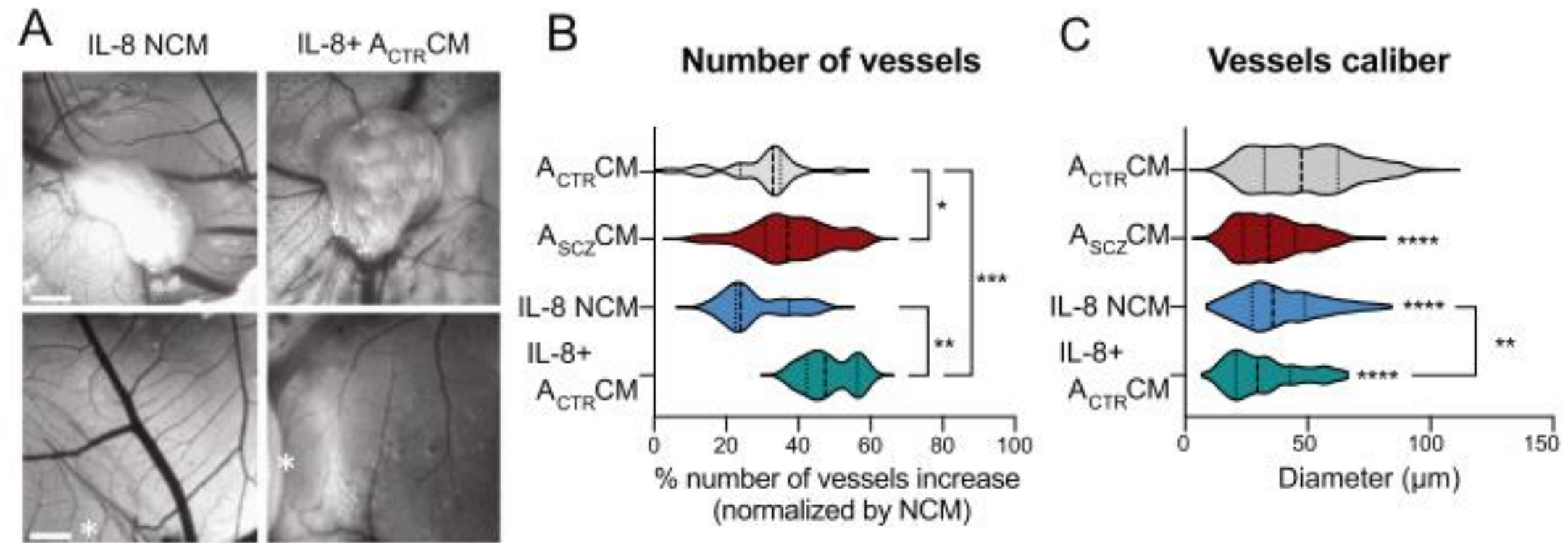
SCZ由来ACMではCTR由来ACMと比較して、全ての炎症関連サイトカインが有意に増加

特にインターロイキン(IL)-8はSCZ由来ACMで高濃度に検出された



結果 6 IL-8はSCZアストロサイトによる血管新生抑制をmimicした

IL-8をCTR由来ACMと一緒に投与した場合、観察された血管の数及び平均血管径はA_{scz}CMで記録されたものと同様(血管新生の本数が増加し平均血管径が減少)であった



結果まとめ

- ・ HLA-A, TLR-8, STXなどの免疫応答タンパク質はSCZアストロサイトで発現量が増加
- ・ TNF- α 刺激後のNF- κ B p65の発現は, CTRアストロサイトと比較してSCZアストロサイトでは50%程度減少
- ・ 非刺激SCZアストロサイトとTNF- α 刺激CTRアストロサイトで血管新生関連タンパクの発現量増加
- ・ SCZ由来ACM処理ではCTR由来ACM処理に比してCAM血管新生本数増加, CAM血管の平均径は約30%減少
- ・ SCZ由来ACMではCTR由来ACMと比較して全ての炎症関連サイトカインが顕著に増加。特にIL-8はSCZ由来ACMで高濃度に検出
- ・ IL-8をAconCMと共に投与すると, 血管の数及び平均血管径はSCZ由来ACMと同様の傾向

SCZアストロサイトが慢性炎症特性を示すこと、血管新生シグナルの経路に変化が見られること、**IL-8**が**SCZ**に関連する血管機能不全の主要な候補であることが明らかになった

このような**SCZ**アストロサイトの慢性的な免疫活性化は、負のフィードバック制御を通じてこれらの細胞の**NF- κ B**経路にも影響を与える可能性があると考えられた

TNF- α による刺激の有無にかかわらず、**SCZ**由来アストロサイトは**TNF- α** に曝露した**CTR**アストロサイトと非常に近いクラスターを形成していることがわかった。先行研究の結果も踏まえると、神経炎症経路の**SCZ**に関連した調節不全は、アストロサイトの遺伝子制御と本質的に関連し、発達中に何らかの起源を持つことが示唆された

SCZ由来**ACM**の方が**CTR**由来**ACM**よりも多くの血管新生が起き、一方で血管径が小さいという結果は、**SCZ**の血管新生の障害にアストロサイトが大きく関与している可能性を示唆した。**SCZ**のアストロサイトが誘導する血管新生の増加は、炎症性障害の副産物である可能性が示唆された。

IL-8は、**SCZ**アストロサイトで非常に高い発現量を示し、**SCZ**由来**ACM**で起きた変化と同様の小さい径の血管新生を引き起こしていた。更に**IL-8**は血液脳関門に作用し、リンパ球や好中球を中枢神経系に遊走させる可能性があり、**SCZ**の神経炎症と血管変化の中心的な役割を担って

脳画像研究では、**SZ**患者の前頭葉において毛細血管面積の減少が見られ、この変化は**SZ**患者の大脳皮質の厚さの減少と関連している

また、**fMRI**研究において**SZ**患者で脳の異なる領域で血流の上昇または低下が報告されている

未治療の**SZ**患者において血漿中**IL-8**の上昇が報告されている

アストロサイトに影響する内在性の神経炎症性不均衡が、統合失調症の発症を引き起こす一因であると考えられた

また、アストロサイト由来の**IL-8**は、脳血管網に影響を与え、その微小環境を破壊する可能性がある。アストロサイトの免疫制御は、統合失調症の新たな薬物療法の開発ターゲットとなり得る

