

2024年8月

<海外文献紹介 2024年8月号>

## **APOE4/4 is linked to damaging lipid droplets in Alzheimer's disease microglia.**

**Michael S. Haney, et al.**

***Nature* 628: 154-161 (2024), DOI: 10.1038/s41586-024-07185-7.**

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38480892/>

温故知新という言葉がありますが、アルツハイマー病（AD）研究分野においても数年ほど前から Apolipoprotein E（ApoE）に関する注目が再び高まっている気がします。

ApoE は脳内でのコレステロール輸送・代謝に関わる重要なアポリポ蛋白質で、ヒトの場合は 112 番目と 157 番目のアミノ酸がシステインであるかアルギニンかによって E2、E3、E4 の 3 種類のアイソフォームが存在します。このうち、E4（両方ともアルギニン）が AD の発症リスク因子として知られており、E4 ホモの場合は発症リスクが約 10 倍にも増加します。また、ApoE は主にアストロサイトで発現が高いことが知られていますが、AD 患者ではミクログリアでの ApoE 発現量が増加しているという報告も存在します。

AD といえば老人班や神経原線維変化といった二大病変が有名ですが、AD の発見者である Alzheimer 博士の論文には多数の脂肪滴がグリア細胞で確認されるという特徴が記載されていました。先述の通り、ApoE は脳内の脂質代謝に必須の分子ですので、今回筆者たちは ApoE4 がミクログリアに及ぼす影響について検索を行いました。

まず、E3 ホモ健常人（age-matched control）、E3 ホモ AD 患者、E4 ホモ AD 患者の新鮮凍結脳組織を用いてシングルセル解析を行った

結果、E4 ホモ AD 患者では健常人に比べて ACSL1 という脂質代謝関連酵素が有意に発現上昇していることが明らかとなりました。ACSL1 はフリーの脂肪酸から Acyl-CoA を作る際に働く酵素で、脂肪滴の形成にも関わることが知られています。続いて、ACSL1 陽性ミクログリアをソーティングして遺伝子発現パターンを調べたところ、恒常型（いわゆる正常なミクログリア）でも疾患型（炎症性因子の発現が亢進しているミクログリア）でもない独特のパターンを示すことが判明しました。NAMPT の発現が高発現しているようで、基礎老化研究者の先生方にとっても興味深い特徴ではないでしょうか。

続いて、凍結切片を用いて脂質染色を行ったところ、老人斑の周囲に脂肪滴を多数内包するミクログリアが確認され、ACSL1 陽性ミクログリアと非常に局在が似ているとのことでした（オイルレッド O 染色と免疫染色を組み合わせることができないため共局在までは確認できていません）。筆者らはこれらのミクログリアを LDAM (lipid droplet-accumulating microglia) と名付けましたが、LDAM の存在は認知機能テストである MMSE と反比例し（LDAM が多い症例ほど認知機能が低下している）、老人斑数と比例していました。

ApoE が脂肪滴の産生に関与するか否かを明らかにするため、E3 ホモと E4 ホモの iPS 細胞からそれぞれミクログリアを分化誘導して検索したところ、E4 ホモのミクログリアで多数の脂肪滴が確認されました。また、これらミクログリアに老人斑の主要構成分子である A $\beta$  線維を処理したところ、E4 ホモのミクログリアでは脂肪滴が増加し、PLIN2 や ACSL1 といった脂肪滴産生に関与する分子の発現が上昇しました。ちなみに、ApoE をノックアウトすると A $\beta$  線維を加えても脂肪滴は増加しなかったことから、A $\beta$  による脂肪滴産生増加には ApoE の関与が必須であることが判明しました。また、この変化はヒト iPS 細胞由来のミクログリアのみならず、ラットの初代培養ミク

ログリアやヒトマクロファージの初代培養細胞、マウスのミクログリア系セルラインである BV-2 細胞でも確認されました。また、BV-2 細胞を用いて脂肪滴産生に関与する遺伝子群をスクリーニングしたところ、やはり ACSL1 の発現が最も強く、ACSL1 の阻害剤 Triacincin C を加えると A $\beta$ 線維による脂肪滴の産生増加が抑制されました。

LDAM におけるエピジェネティックな変化を検索するため、LDAM をソーティングして RNA-seq を行ったところ、NF- $\kappa$ B に関連する転写因子の発現が上昇しており、自然免疫系が賦活化されている状態に近いことが判明しました。また、A $\beta$ 線維による脂肪滴増加に関わる分子を検索するため、CRISPR-KO スクリーニングを行ったところ、PI3K の触媒ユニットである PIK3CA や TLR4 の下流で働く S100A1 などがヒットしました。過去の報告で、PI3K を阻害するとマクロファージにおける脂肪滴産生が低下するという報告があるようなのですが、iPS 細胞から分化誘導したミクログリアに PI3K 阻害剤の GNE-317 を処理すると同様の現象が生じ、さらに炎症性サイトカインの放出も抑制されたそうです。

最後に、神経細胞への影響を調べるため、LDAM と脂肪滴の少ないミクログリアからそれぞれ採取した conditioned medium を iPS 細胞から分化誘導したヒト神経細胞の培養液中に加えたところ、LDAM の conditioned medium を添加された神経細胞では細胞内に脂質の蓄積が認められ、Tau のリン酸化も上昇していました。AD 患者の神経細胞では脂肪滴が確認されるものの、脂肪滴産生に関する遺伝子の発現はほとんど変化していないとの報告があるようで、今回の結果からミクログリアの関与が示唆されました。

まとめますと、ApoE4 はミクログリアにおける脂質代謝系を変容させ、その影響が最終的に神経細胞も含めた脳組織全体の脂質代謝系を変容させて神経変性につながる可能性が示唆されました。実は

今回、この論文とどちらを紹介しようか迷った論文があるのですが、  
そちらもグリア細胞の老化と脂質代謝との関連性を示すものでした  
(Byrns et al., Nature 2024; DOI 10.1038/s41586-024-07516-8.)。中枢神  
経系における脂質代謝の重要性を改めて感じる論文です。

(文責：木村展之)