

奨励金No.1629

新規老齡脳特異的マイクログリアの同定とその機能解析

岸 雄介

東京大学 准教授

Identification and Functional Analysis of Novel Aged Brain-Specific Microglia

Yusuke Kishi

The University of Tokyo, Associate Professor



老齡脳に特異的に出現するマイクログリア（AAM）を同定し、脳老化への貢献を明らかにすることを目的として、複数のシングルセル RNA-seq 公共データを統合解析した。Pseudotime 解析から AAM 出現のきっかけとして ribosomal 遺伝子の発現上昇が示唆され、炎症性 AAM の出現には $A\beta$ 蓄積や脳内炎症が寄与することが明らかになった。また、食事制限により炎症性 AAM が減少する一方、運動やパラバイオーシスは AAM 数に影響しなかった。

To identify age-associated microglia (AAM) specific to the aging brain and elucidate their contribution to brain aging, we performed integrative analysis of multiple public single-cell RNA-seq datasets. Pseudotime analysis suggests that upregulation of ribosomal genes represents the earliest transcriptional event triggering AAM emergence. Inflammatory AAM appearance was associated with $A\beta$ accumulation and neuroinflammation. Caloric restriction reduced the number of inflammatory AAM, whereas exercise and parabiosis had no significant effect on AAM abundance.

1. 研究内容

超高齢化社会を迎えた現代において、脳の老化に伴う認知機能・記憶力の低下は喫緊の社会的課題である。脳内で免疫機能をつかさどるマイクログリアは、シナプス刈り込みや細胞 debris の除去、神経炎症の調節など多様な脳機能に不可欠な役割を担っており、脳老化にも深く関与することが明らかになっている。実際に、脳内の細胞種の中でマイクログリアは加齢に伴う遺伝子発現変化が最も顕著な細胞種の一つであり、炎症性サイトカインの産生増加、抗炎症性サイトカイン TGF- β の産生減少、活性酸素種（ROS）の増加、機能不全リソソームの蓄積による貪食能の低下など、多面的な機能変化が報告されている。こうした背景から、マイクログリアは脳老化の予防・治療にお

ける有力な細胞標的として注目されている。

しかしながら、これらの加齢に伴う変化がすべてのマイクログリアに均一に生じるのか、あるいは特定のサブポピュレーションに局限するのかは明らかでなかった。この問いに答えることは、効果的なマイクログリアを標的とした治療法を開発する上で重要である。近年、若齢・老齡マウス脳を用いたシングルセル RNA-seq (scRNA-seq) 解析が複数のグループによって実施され、老齡脳特異的マイクログリア集団（age-associated microglia: AAM）の同定が試みられてきた。しかし、同定された AAM の遺伝子発現の特徴や脳内分布は報告ごとに大きく異なっており、また多くの場合ヒト脳を用いた解析では同様の集団が見出されないという問題もあった。こうした不一致は、実験グ

ループごとの条件の差異（組織解離プロトコル、シーケンシングプラットフォーム、解析パイプラインなど）に起因すると考えられる。

本研究では、こうした課題を克服するため、複数の独立した公共 scRNA-seq データを大規模に統合解析することで、実験条件に依存しない「頑健性の高い」AAM を同定し、その老齢脳における出現機序および脳老化への寄与を明らかにすることを目的とした。具体的には、①あらゆるデータで共通して出現する AAM の同定、②AAM 出現に関わる脳内環境変化の解明、③ヒト老齢脳での AAM 出現の検証、④AAM の選択的除去による脳老化表現型の改善効果の実験的検証、の 4 点を研究課題として設定した。

頑健性の高い AAM を同定するため、若齢・老齢マウス脳を用いた 7 つの scRNA-seq データ（Keren-Shaul 2017; Ximerakis 2019, 2023; Hammond 2019; Ogrodnik 2020; Li 2023; Buckley 2023）と 4 つのシングル核 RNA-seq データ（snRNA-seq; Ogrodnik 2020; Zhang 2022; Hahn 2023; Allen 2023）を統合した大規模解析を実施した。これらは互いに独立した研究グループが異なるプラットフォームで実施したデータであり、すべてに共通して出現するマイクログリア集団を同定することで、単一実験条件のアーティファクトを排除した。

統合解析の結果、老齢脳で特異的に出現する 3 つの AAM をすべてのデータに共通して同定した。各 AAM のマーカー遺伝子を解析すると、炎症性サイトカイン関連遺伝子を高発現する「炎症性 AAM」、インターフェロン関連遺伝子を高発現する「IFN-AAM」、リボソーム遺伝子を高発現し翻訳活性の高い「ribosome-AAM」の 3 種類であることが明らかになった。7 つ以上の独立したデータセットすべてで共通して同定されたことから、これらは生物学的に実体のある頑健な AAM 集団であると考えられる。

Pseudotime 解析による AAM 出現機序の解析

AAM がマイクログリアの分化・状態遷移の中でどのような軌跡をたどって出現するかを明らかにするため、統合データを用いた pseudotime 解析を実施した。Pseudotime 解析は、転写状態の類似性に基づいて細胞状態の連続的な変化を再構成する手法であり、各転写プログラムが活性化される時間的順序を推定することができる。解析の結果、ribosome-AAM の特徴であるリボソーム遺伝子群の発現上昇が、それ以外の AAM 出現に先立つ最初の転写イベントである可能性が示唆された。この知見は、翻訳活性の亢進が炎症性やインターフェロン関連の転写プログラムの活性化に先行するトリガーとなっている可能性を示すものであり、老齢脳におけるマイクログリア状態遷移の分子的起点を明らかにする上で重要な手がかりとなる。

A β 蓄積および脳内炎症による炎症性 AAM の誘導

AAM 出現に関わる脳内環境を同定するため、各種疾患・介入モデルの scRNA-seq データを統合参照データに投影して解析した。家族性アルツハイマー病患者と同じ変異を持つ App を発現する 5xFAD マウスのデータを投影した結果、野生型コントロールと比較して炎症性 AAM が特異的かつ顕著に増加していることが明らかになった。この結果は、A β 蓄積が炎症性 AAM の出現を選択的に促進することを示しており、このマイクログリア状態がアルツハイマー病をはじめとするアミロイドパシの病態に関与する可能性を示唆している。さらに、LPS 投与モデル・脱髄モデル・脳卒中モデルなど脳内炎症を惹起するモデルのデータを用いた解析でも、同様に炎症性 AAM の増加が確認された。これらの結果から、A β 蓄積と神経炎症という加齢脳における 2 大病理的变化が、いずれも炎症性 AAM の誘導に関わることが明らかになった。

老化介入による AAM 数への影響

食事制限・強制運動・パラバイオーシスを行ったマウスの scRNA-seq データを用いて、老化抑制介入が AAM 数に与える影響を解析した。その結果、多くの生物種で寿命延伸効果が保存されている食事制限により、炎症性 AAM の数が有意に減少することが明らかになった。一方、認知機能・記憶力の改善効果が知られる強制運動、および若齢マウスとの循環因子の共有により老齢マウスが若返ることが知られるパラバイオーシスについては、いずれも AAM 数に有意な変化は認められなかった。

2. 発表（研究成果の発表）

Sugai A, Moridono H, Bilgic M, Gotoh Y & Kishi Y*. (2025) Age-associated microglia populations identified from several single cell transcriptome data. bioRxiv, 10.1101/2025.07.28.665226

Moridono H, Sugai A, Bilgic M, Gotoh Y, Kishi Y, 遺伝研研究会「哺乳類脳における神経回路の構築」、三島、2025 年 12 月

Moridono H, Sugai A, Bilgic M, Gotoh Y, Kishi Y, 第 48 回日本分子生物学会年会、横浜、2025 年 12 月

Moridono H, Sugai A, Bilgic M, Gotoh Y, Kishi Y, 東京理科大学生命医科学研究所 老化生物学部門 公開シンポジウム 2025、千葉、2025 年 8 月