

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10232

研究課題名（和文）オリゴデンドロ前駆細胞による脳内炎症制御からアプローチする双極性障害の病態解明

研究課題名（英文）Roles of NG2 oligodendrocyte progenitor cells in the neuroinflammation and the pathogenesis of bipolar disorder

研究代表者

田村 泰久（Tamura, Yasuhisa）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・副チームリーダー

研究者番号：60446523

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：双極性障害は躁状態とうつ状態を繰り返すことにより社会生活に多大な支障を来す精神疾患であり、現在のところ、その病因について完全には解明されていない。近年、脳内炎症が双極性障害を含む精神疾患の発症や進展に寄与することがわかってきている。脳内炎症はグリア細胞の異常な活性化により引き起こされ、周りの神経細胞の機能障害や細胞死を誘発することが知られている。本申請研究では、NG2陽性オリゴデンドロサイト前駆細胞（OPC）がグリア細胞（特に、ミクログリア）活性化制御を介して神経細胞の機能保持に関わることや、双極性障害の病因に寄与する可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、NG2陽性オリゴデンドロサイト前駆細胞が脳内炎症（ミクログリア活性化）制御を介して脳内環境保全に関わるという成体脳での新たな役割を見出すことに成功した。さらに、本細胞が双極性障害の発症に関わる可能性についても示した。これらの成果は、双極性障害の原因究明の一助となり、また、新たな治療法開発のためのターゲット情報を提供するものであると考える。

研究成果の概要（英文）：Bipolar disorder is a mental disorder that causes mood shifts that include manic episodes (extremely elevated or irritable moods) and depressive episodes. The etiology of bipolar disorder has not been completely elucidated. Recently, neuroinflammation is associated with etiology and pathophysiology of neurodegenerative diseases as well as mental disorders. Also, neuroinflammation is caused by the excessive activation of microglia and induces neuronal dysfunction and cell death. We showed that NG2 oligodendrocyte progenitor cells is related with the maintenance of neuronal function and the pathogenesis of bipolar disorder through regulating the activation of microglia.

研究分野：神経科学

キーワード：NG2グリア 脳内炎症 ミクログリア サイトカイン 抗炎症作用 双極性障害 脳室拡大

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

双極性障害は躁状態とうつ状態を繰り返すことにより社会生活に多大な支障を来す精神疾患であり、精神障害の中で最も自殺企図率が高い疾患である。現在のところ、双極性障害の原因は完全には解明されていないが、ヒトゲノム解析からオリゴデンドロサイト関連遺伝子発現の低下や、双極性障害患者の死後脳での組織学的解析から NG2 陽性オリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC) 数の減少などが明らかとなっている。これまでに、申請者は、NG2 陽性 OPC を選択的に除去することに成功しており、NG2 陽性 OPC 選択的除去が脳内炎症を誘発し、双極性障害様行動が引き起こされることを見出しつつあった。

2. 研究の目的

本申請研究では、これまでに得られていた研究成果をもとに、(1) NG2 陽性 OPC による脳内炎症制御(ミクログリアの活性化制御)に関わる分子機構の解明を介して、NG2 陽性 OPC が脳内環境保全にどのような役割を果たすのかを検証すること、そして、(2) NG2 陽性 OPC の除去により誘発される脳内炎症が双極性障害の発症に関わる可能性について探ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) NG2 陽性 OPC による脳内炎症(ミクログリア活性化)制御に関わる分子機構を解明する目的で以下の実験を実施した。

成体脳における NG2 陽性 OPC 除去が炎症性サイトおよび抗炎症性サイトカイン発現に及ぼす影響について qPCR 法により検討するとともに、各種脳内細胞(神経細胞およびグリア細胞)の動態変化について組織化学的手法により検討した。さらに、NG2 陽性 OPC による脳内炎症制御機構に関わる候補分子を探索する目的で、NG2 陽性 OPC 除去およびコントロールラットの DNA マイクロアレイ解析を実施した。また、NG2 陽性 OPC におけるサイトカインなどの種々の分子産生については組織化学的手法により検討した。

実験 から得られた成果をもとに、NG2 陽性 OPC 特異的にターゲット分子を欠損させた遺伝子改変マウスを作製した。作製した遺伝子改変マウスを用いて、NG2 陽性 OPC 特異的ターゲット分子の欠損が脳内炎症(特に、ミクログリア活性化)にどのような影響を及ぼすかについて、qPCR 法および組織化学的手法により検討した。

(2) NG2 陽性 OPC 除去による脳内炎症惹起が神経細胞変性および細胞死を誘発するのか、さらに、NG2 陽性 OPC が双極性障害の発症に関わるのかについて検証する目的で以下の実験を実施した。

成体脳における NG2 陽性 OPC 選択的除去が脳内炎症の増悪を引き起こし、神経細胞の変性や細胞死を誘発するかについて、神経細胞の形態変化について組織化学的手法により検討した。さらに、薬剤による脳内炎症制御(抑制)が神経細胞の変性や細胞死を改善するかについても組織化学的手法により検討した。

成体脳における NG2 陽性 OPC 選択的除去による脳内炎症誘発が双極性障害様行動を引き起こすかについて行動実験により検証した。

4. 研究成果

これまでに、我々は NG2-HSVtk (Herpes simplex virus thymidine kinase) 遺伝子改変ラットを用いて、ガンシクロビル(GCV) の脳室内持続投与により脳室周辺領域での NG2 陽性 OPC を選択的に除去することに成功し、さらに、NG2 陽性 OPC 除去ラットが双極性障害様行動を示すことを見出しつつあった。

(1) -

まず、我々は NG2 陽性 OPC 選択的除去による脳内での炎症関連遺伝子発現変化について検討したところ、GCV 脳室内投与 1 日後から脳室周辺領域での炎症性サイトカイン(IL-1beta、IL-6、TNF-alpha) の発現上昇および抗炎症性サイトカイン(IL-4、IL-13) の発現低下を観察した。また、NG2 陽性 OPC 選択的除去は、炎症性サイトカイン発現上昇に伴い、活性化ミクログリアの集積を誘発した。これら活性化ミクログリアのほとんどが iNOS(inducible nitric oxide synthase) 陽性 M1 ミクログリアであることや、M1 ミクログリアの集積数が経時的に増えることも明らかとなった。一方、NG2 陽性 OPC 選択的除去領域で、arginase-1 陽性 M2 ミクログリアは全く観察されなかった。これらの結果は、NG2 陽性 OPC が抗炎症性サイトカイン産生を介して直接的または間接的に M2 (抗炎症タイプ) ミクログリアの活性化に関わる可能性を示唆した。そこで次に、生理的条件下または polyI:C 投与脳内炎症誘発条件下での NG2 陽性 OPC における抗炎症性サイトカイン産生について組織化学的手法により検討したが、今回良好な陽性所見を得ることはできなかった。

また、我々は NG2 陽性 OPC によるミクログリア活性化機構の候補分子を DNA アレイ解析により探索したところ、複数の候補分子を見出した。そこで、これらの候補分子の中から肝細胞増殖因子(HGF) に着目し、NG2 陽性 OPC における HGF 産生について検討した。その結果、一部の NG2 陽性 OPC が HGF 産生していることが明らかとなった。次に、HGF 脳内投与が NG2 陽性 OPC 除去により誘発されるミクログリア活性化に対する改善作用を示すかについて検討したところ、HGF によるミクログリア活性化の抑制効果が確認できた。

これまでに結果から、NG2 陽性 OPC が抗炎症性サイトカイン (IL-4、IL-13) 経路または HGF 産生経路を介してミクログリア活性化 (脳内炎症) を制御している可能性が示唆された。

(1)-

実験の成果をもとに、実験では、NG2 陽性 OPC 特異的にターゲット分子 (IL4/IL13、HGF) 欠損動物 (Cre-loxP システム) を作製し、より詳細な解析を行うことで NG2 陽性 OPC によるミクログリア活性化の分子メカニズムについて調べた。われわれは、NG2-Cre マウスと loxP-IL4IL13KO マウスとの交配により NG2-IL4/IL13KO マウスを作製し、polyI:C 投与により惹起した脳内炎症誘発条件下での炎症性サイトカイン (IL-1beta、IL-6、TNF-alpha) 発現変化を指標に、NG2 陽性 OPC による IL4/IL13 を介した脳内炎症制御に関わる可能性について検証した。その結果、NG2 陽性 OPC 特異的 IL4IL13 発現欠損により、polyI:C 誘発脳内炎症を増悪 (炎症性サイトカイン発現を増強) することがわかった。このことは NG2 陽性 OPC が IL4IL13 を介して、脳内炎症の増悪を抑制している可能性を示唆した。

一方、もう一つの候補分子である HGF については、NG2 陽性 OPC 選択的に発現欠損させるための遺伝子改変マウス (例えば、loxP-HGFKO) が入手できないため、現在解析が困難な状況にある。しかし、今後遺伝子改変マウスを作製し、検討していきたい。

(2)-

実験 (1) の成果から、NG2 陽性 OPC は脳内炎症 (ミクログリア活性化) 制御に関わる可能性が示唆された。次に、NG2 陽性 OPC 除去により誘発される脳内炎症 (ミクログリア活性化) が脳内環境 (神経細胞) への影響について組織化学的手法により検討した。NG2 陽性 OPC 除去は、上述したように、除去 1 日目から脳室周辺領域での炎症性サイトカイン発現上昇および活性化ミクログリアの集積が観察され、除去後 2 日目から神経突起の変性、そして 3 日目には細胞死が誘発されることが明らかとなった。続いて、ミクログリアの活性化阻害剤であるミノサイクリンの前処置が NG2 陽性 OPC 除去により引き起こされた神経細胞の変性および細胞死を抑制するかどうかについて検討したところ、ミノサイクリンは多くの神経細胞の変性および細胞死を抑制することが明らかとなった。このことは、NG2 陽性 OPC 除去により誘発されたミクログリア活性化 (脳内炎症) が神経細胞の変性や細胞死を引き起こすことを示唆している。

これまでの結果から、NG2 陽性 OPC が IL4IL13 を介したミクログリア活性化制御により脳内環境保全 (神経細胞の保護) に関わると考えられる。

(2)-

最後に、NG2 陽性 OPC が双極性障害の発症に関わる可能性について検証する。これまでに、NG2 陽性 OPC 選択的除去ラットが双極性障害様行動 (明暗期の逆転を伴う異常活性化行動およびその後の行動抑制) が引き起こされることを見出しつつあった。そこで、NG2-HSVtk 遺伝子改変ラットを用いて、NG2 陽性 OPC 除去が双極性障害様行動を引き起こすについて行動試験により検討した。NG2 陽性 OPC 選択的除去した個体の多くは除去開始 2~3 日目より双極性障害様行動を示し、その後 4 日目に死亡することが明らかとなった。このことは、NG2 陽性 OPC が双極性障害の発症に関与する可能性を示唆した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

| | |
|---|----------------------|
| 1. 著者名 田村 泰久、片岡 洋祐 | 4. 巻 34 |
| 2. 論文標題 脳内神経炎症から神経を保護するグリア細胞 | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Dementia Japan | 6. 最初と最後の頁 8-12 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 田村 泰久 | 4. 巻 91 |
| 2. 論文標題 神経新生のPETイメージング | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 脳神経内科 | 6. 最初と最後の頁 81-86 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Takamori Y, Hirahara Y, Wakabayashi T, Mori T, Koike T, Kataoka Y, Tamura Y, Kurebayashi S, Kurokawa K, Yamada H. | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 Differential expression of nuclear lamin subtypes in the neural cells of the adult rat cerebral cortex. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 IBRO Rep. | 6. 最初と最後の頁 99-109 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ibror.2018.11.001 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Tamura Y, Takata K, Eguchi A, Kataoka Y. | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 In vivo monitoring of hair cycle stages via bioluminescence imaging of hair follicle NG2 cells. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Sci Rep. | 6. 最初と最後の頁 393 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-18763-3 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|---|------------------------|
| 1. 著者名 Tamura Y, Kataoka Y. | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 PET imaging of neurogenic activity in the adult brain: toward in vivo imaging of human neurogenesis. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Neurogenesis | 6. 最初と最後の頁 e1281861 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/23262133.2017.1281861 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 Kume S, Nishimura Y, Mizuno K, Sakimoto N, Hori H, Tamura Y, Yamato M, Mitsuhashi R, Akiba K, Koizumi JI, Watanabe Y, Kataoka Y. | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Music Improves subjective feelings leading to cardiac autonomic nervous modulation: A pilot study. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Front Neurosci. | 6. 最初と最後の頁 108 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2017.00108. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 Duong NT, Yamato M, Nakano M, Kume S, Tamura Y, Kataoka Y, Wong A, Nishiyama Y. | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Capillary-inserted rotor design for HRuMASNMR-based metabolomics on mass-limited neurospheres. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Molecules | 6. 最初と最後の頁 E1289 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules22081289. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Doi H, Kida T, Nishino K, Nakatsuji M, Sakamoto S, Shimizu S, Teraoka Y, Tamura Y, Kataoka Y, Inui T. | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Solubility-improved 10-O-substituted SN-38 derivatives with antitumor activity. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Chem Med Chem. | 6. 最初と最後の頁 1715-1722 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cmdc.201700454. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 田村泰久、片岡洋祐 | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 神経炎症制御にかかわるNG2グリア | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 実験医学 | 6. 最初と最後の頁 389-393 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Nakano M, Tamura Y, Yamato M, Kume S, Eguchi A, Takata K, Watanabe Y, Kataoka Y. | 4. 巻 7 |
| 2. 論文標題 NG2 glial cells regulate neuroimmunological responses to maintain neuronal function and survival. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Sci Rep. | 6. 最初と最後の頁 42041 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep42041. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Tamura Y, Takahashi K, Takata K, Eguchi A, Yamato M, Kume S, Nakano M, Watanabe Y, Kataoka Y. | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 Noninvasive Evaluation of Cellular Proliferative Activity in Brain Neurogenic Regions in Rats under Depression and Treatment by Enhanced [18F]FLT-PET Imaging. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 J Neurosci. | 6. 最初と最後の頁 8123-31 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.0220-16.2016. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 田村泰久 |
| 2. 発表標題 加齢に伴う組織前駆細胞の細胞動態変化について |
| 3. 学会等名 B6J Aged研究会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名 田村泰久 |
| 2. 発表標題 生え時抜き時が見える、毛包イメージング |
| 3. 学会等名 第8回CSJ化学フェスタ2018 (招待講演) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 田村泰久、高田孔美、中野正行、江口麻美、片岡洋祐 |
| 2. 発表標題 Selective ablation of NG2 progenitor cells induced neuroinflammation in adult rat brain. |
| 3. 学会等名 第40回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大和正典、田村泰久、中野正行、久米慧嗣、江口麻美、高田孔美、片岡洋祐 |
| 2. 発表標題 Production of neurospheres from adult rat cerebral cortex with atmospheric-pressure plasma irradiation. |
| 3. 学会等名 第40回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 前田光代、江口麻美、田村泰久、久米慧嗣、長谷部祐治、山口祐樹、菊池真樹、須賀三雄、片岡洋祐 |
| 2. 発表標題 Age-related changes in the adhesion and fusion of NG2 cells and neurons in rat cerebral cortex. |
| 3. 学会等名 第40回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 久米慧嗣、前田光代、江口麻美、小林紀郎、榎屋啓志、大和正典、田村泰久、高田孔美、須賀三雄、片岡洋祐 |
| 2. 発表標題 Morphomics Analysis in Rat Brain Tissues Using Scanning Electron Microscopy and Development of Metadatabase for The Microstructure Imaging Data |
| 3. 学会等名 第40回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 田村泰久、高田孔美、江口麻美、大和正典、中野正行、久米慧嗣、片岡洋祐 |
| 2. 発表標題 PET imaging for cellular proliferative activity in brain neurogenic regions of adult rats |
| 3. 学会等名 第39回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中野正行、田村泰久、江口麻美、大和正典、久米慧嗣、片岡洋祐 |
| 2. 発表標題 NG2 glial cells suppress neuroinflammation and support the survival of hippocampal neurons |
| 3. 学会等名 第39回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 前田光代、江口麻美、田村泰久、長谷部祐治、須賀三雄、片岡洋祐 |
| 2. 発表標題 Fusion of plasma membrane between NG2-expressing progenitor cells and neurons in the cerebral cortex of rats |
| 3. 学会等名 第39回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大和正典、久米慧嗣、中野正行、田村泰久、江口麻美、片岡洋祐 |
| 2. 発表標題 Deterioration of TCA cycle in the brain induced prolonged suppression of locomotor activity by involvement of neuroinflammation in rats |
| 3. 学会等名 第39回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2016年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| <p>毛包イメージングによる毛周期モニタリング - 毛髪再生研究や育毛剤のスクリーニングへの応用に期待 - http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180110_2/digest/ 毛包イメージングによる毛周期モニタリング https://www.sankeibiz.jp/smp/compliance/news/180214/cpc1802142244001-s1.htm 炎症から脳神経を保護するグリア細胞 - 中枢神経疾患の予防・治療法の開発に期待 - https://www.riken.jp/press/2017/20170214_2/ 神経新生の生体イメージングに成功 - うつ病診断および抗うつ薬の効果判定への応用に期待 - https://www.riken.jp/press/2016/20160830_1/index.html</p> |
|---|

| | | |
|---------------------------|-----------------------|----|
| 6. 研究組織 | | |
| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |