

平成 30 年 5 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18394

研究課題名(和文) 神経-免疫連関による神経幹細胞の活動制御機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism for modulation of neural stem cell activity by neuro-immune interaction

研究代表者

田辺 章悟 (Tanabe, Shogo)

大阪大学・医学系研究科・特任助教(常勤)

研究者番号：40772166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：近年、神経幹細胞の増殖、分化を制御する因子として免疫系が強く寄与していることが注目されている。しかし、その詳細な分子メカニズムは解明されていなかった。本研究では、免疫系細胞が神経幹細胞の挙動にどのような影響を及ぼすのかを解明した。発達期の脳に存在する免疫系細胞の割合を調べたところ、B-1細胞が豊富に存在していることがわかった。B-1細胞は自然抗体を産生し、オリゴデンドロサイトの発達に寄与することで、軸索の髄鞘化を制御していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：It has considered that immune system is a major contributor to proliferation and differentiation of neural stem cells during brain development. However, molecular mechanism of neural stem cell modulation by immune system remains unclear. In this study, I investigate the role of immune cells in brain development. I examined the subtype and amount of immune cells in developing brain, and found that B-1 cells are abundant in neonatal brain. B-1 cells mediate oligodendrocyte development and myelination of axons by producing natural antibody.

研究分野：神経科学

キーワード：神経発生 オリゴデンドロサイト

### 1. 研究開始当初の背景

脳は、神経細胞やグリア細胞が発生期に様々な外因性、内因性因子による厳密な制御を受けながら成熟していく。この発生制御機構が何らかの異常により障害されたとき、脳発達障害や統合失調症などの精神疾患を発症する。従って、脳の発生制御機構を理解することは、同疾患の病態機序の解明や治療法を開発するうえで極めて重要である。

オリゴデンドロサイトは軸索を取り巻く髄鞘を形成するグリア細胞であり、円滑な神経伝達をサポートする役割を持つ。脳の発生・発達期にオリゴデンドロサイトの前駆細胞 (oligodendrocyte precursor cell: OPC) が神経幹細胞から分化する。OPC は増殖、分化を経て髄鞘を形成し、成熟していく。オリゴデンドロサイトの異常は、多くの脳神経疾患の病理学的所見として観察される。このため、オリゴデンドロサイトの成熟機構を正確に理解することは、脳神経疾患の病態解明や治療法開発に繋がるため重要な研究課題である。

中枢神経系に常在する免疫系細胞であるミクログリアや免疫関連分子は神経やグリア細胞の成熟を制御して脳の発達に寄与する。また、統合失調症などの精神疾患の患者を対象とした遺伝子多型の解析で、免疫関連遺伝子が疾患の発症に強く関与していることが報告されている。このように免疫系が脳の発達を制御していることを示す知見が蓄積されつつあるが、体内を循環する免疫系細胞が脳の発達に関与しているのかは明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

免疫系が中枢神経系の発達に関与していることは明らかになっている。しかし、これまでに知られている因子は、ミクログリアや免疫関連分子など脳の実質内に存在する因子の関連だった。リンパ球などの免疫系細胞が脳の発達に寄与しているのかは明らかになっていない。本研究では、中枢神経系に常在していない体内を循環する免疫系細胞が、脳の発達にどのように寄与するのかを解明する。

### 3. 研究の方法

新生児期のマウスの脳に存在する免疫系細胞の量と種類をフローサイトメトリーで検討した。B 細胞が豊富に存在していることが確認されたため、B 細胞の機能解明に取り組んだ。B 細胞を除去する抗体や標的分子の機能阻害抗体を胎生期のマウスの脳に投与し、発生学的な変化を組織学的に解析した。

### 4. 研究成果

(1) 発達期の脳に存在する免疫系細胞の種類と量の同定

胎生期や新生児期のマウスの脳に存在する免疫系細胞の数と種類を同定した。その結

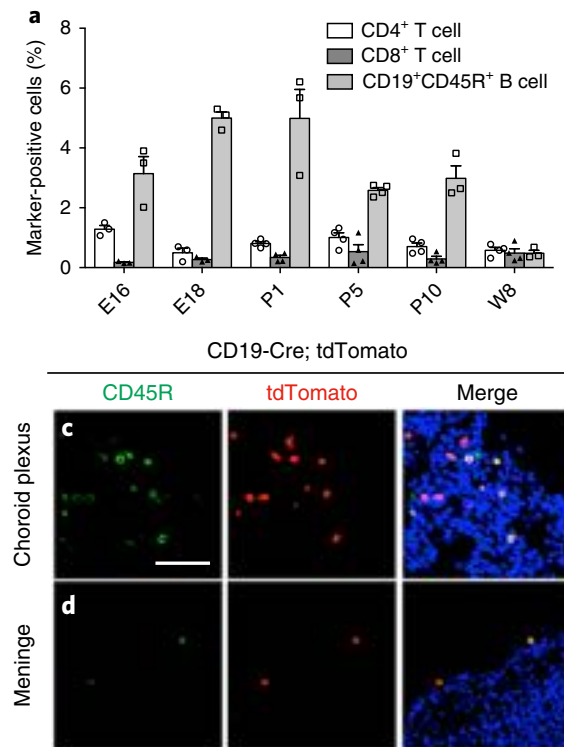


図 1. (上図) 各発達段階の脳における免疫系細胞の割合。発達期には B 細胞が最も多く存在し、成長に伴って減少する。(下図) B 細胞が赤く標識される CD19-Cre; tdTomato マウスの脳 (生後 1 日目) を CD45R 抗体 (緑) で染色した。脈絡叢 (Choroid Plexus) と髄膜 (Meninge) に多く局在している。

果、新生児期では B 細胞が多く存在し、成長に伴って減少していくことが明らかとなった (図 1 上図)。CD19-Cre; tdTomato マウス (B 細胞が赤く標識される遺伝子組み換えマウス) を用いて B 細胞の局在を検討したところ、tdTomato と CD45R 抗体で染色された B 細胞が脈絡叢や髄膜に局在している様子が確認された (図 1 下図)。B 細胞にはいくつかのサブタイプがある。フローサイトメトリーを用いた更なる解析により、新生児期の脳に存在する B 細胞は B-1a と呼ばれる B 細胞であることを見出した。

### (2) B 細胞の脳内浸潤機構の解明

B 細胞の遊走に関わる因子として CXCL13 がある。B 細胞が脳へ移行するメカニズムを特定するため、末梢血と脳の B 細胞が CXCL13 の受容体である CXCR5 を発現しているのかを検討した。その結果、末梢血、脳のいずれの B 細胞においても CXCR5 の発現が認められた。また、*in situ* hybridization により新生児期の脳における CXCL13 の発現分布を調べたところ、側脳室の脈絡叢に多く発現していた。更に、CXCL13 の機能阻害抗体を胎生 16 日目のマウスの脳に投与したところ、新生児期の脳で B 細胞数が減少した。これらの結果から、末梢血中の B 細胞は、脈絡叢から分泌される CXCL13 に誘引されて脳へ移行することが示

唆される。B-1a 細胞は活性化に抗原提示を必要としない自然免疫系に寄与する B 細胞である。成体では腹腔に多く存在し、迅速な免疫応答を行う。脳での機能は不明であるため、B-1a 細胞の機能解明を目的に研究を行った。

### (3) 脳発達期における B 細胞の機能解明

B 細胞を除去する機能を持つ抗体 (anti-BAFF-R) を胎生期の脳室に投与し、新生児期におけるグリア細胞の数を組織学的に解析した。B 細胞を除去すると、脳梁におけるオリゴデンドロサイト数が減少するとともに、増殖性の OPC が減少した (図 2)。更に、B 細胞除去後に B-1a 細胞を脳に移植するとその効果が消失した。以上の結果から、B-1a 細胞は OPC の増殖を促進させ、オリゴデンドロサイトの成熟を促していると考えられる。

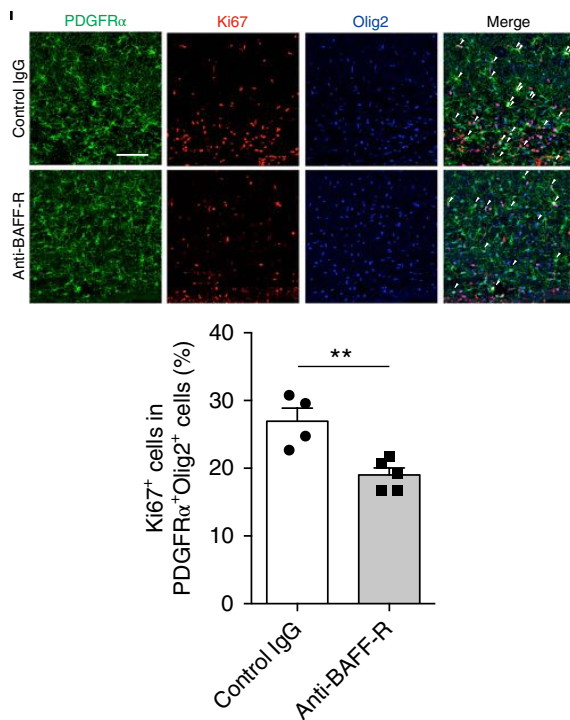


図 2. B 細胞を除去した新生児期の脳を PDGFR $\alpha$  (OPC に発現) と Ki67 (増殖性細胞に発現)、Olig2 (オリゴデンドロサイト系列細胞に発現) で染色した。B 細胞の除去により、増殖性の OPC が減少した。

### (4) オリゴデンドロサイトの発達を制御する分子メカニズムの解明

B-1a 細胞は特異性の低い自然抗体と呼ばれる抗体を産生して生体防御に働く。脳における B-1a 細胞も同様に自然抗体を産生していることが確認された。自然抗体が OPC の増殖促進に働く可能性を検証するため、自然抗体の Fc 部に対する受容体 (Fc $\alpha/\mu$ R) の発現を調べた。その結果、Fc $\alpha/\mu$ R は OPC に特異的に発現していることが確認された。Fc $\alpha/\mu$ R に対する機能阻害抗体を新生児期の脳室に投与したところ、OPC の増殖が抑制

され、オリゴデンドロサイト数が減少した (図 3)。さらに、Fc $\alpha/\mu$ R の阻害によるオリゴデンドロサイト成熟不全が、成長後にどのような影響を及ぼすのかを調べるため、新生児期に Fc $\alpha/\mu$ R の機能阻害抗体を投与し、生後 21 日目における髄鞘の形態を電子顕微鏡で観察した。髄鞘の厚さに影響することはなかったが、髄鞘化している軸索の数が減少していた。しかし、生後 58 日目ではその効果は消失しており、髄鞘化している軸索数に変化は見られなくなった。以上の結果から、B-1a 細胞は自然抗体を産生し、Fc $\alpha/\mu$ R を通して OPC の増殖が促進させていることが示唆される。

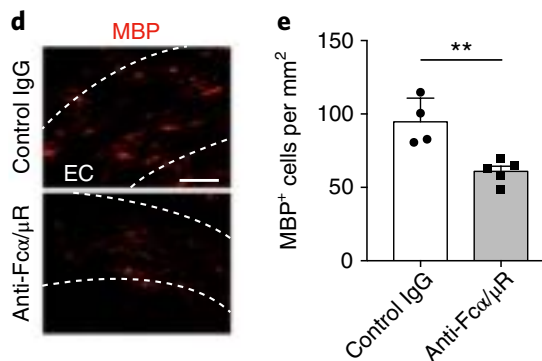


図 3. Fc $\alpha/\mu$ R に対する機能阻害抗体を新生児期に投与し、組織学的な解析を行った。Fc $\alpha/\mu$ R の阻害により、MBP で染色されるオリゴデンドロサイトの数が減少した。EC: external capsule (外包)。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Shogo Tanabe, and Toshihide Yamashita. B-1a lymphocytes promote oligodendrogenesis during brain development. *Nat. Neurosci.*, 2018. 21, 506-516 (査読有).  
doi: 10.1038/s41593-018-0106-4.

[学会発表] (計 4 件)

田辺章悟、山下俊英 脳発達期のオリゴデンドロサイト発生過程におけるリンパ球の役割 第 40 回日本神経科学学会大会 千葉 (2017. 7. 22)

田辺章悟、山下俊英 B-1a 細胞によるオリゴデンドロサイトの発達機構、第 6 回神経難病フォーラム 大阪 (2017. 8. 19)

田辺章悟、山下俊英 B-1 細胞によるオリゴデンドロサイトの発生制御機構、第 90 回日本薬理学会、長崎 (2017. 3. 16)

田辺章悟、山下俊英 脳発達期のリンパ球

によるオリゴデンドロサイトの分化制御機構、第 39 回日本神経科学学会大会、横浜 (2016. 7. 21)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molneu/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田辺 章悟 (Shogo Tanabe)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任助教

研究者番号：40772166

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )