

令和 4 年 5 月 22 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07363

研究課題名(和文) 髄鞘損傷時に誘導される活性型ミクログリアによる神経幹細胞運命制御機構

研究課題名(英文) Microglia activation induces OPC generation from SVZ under focal demyelination in corpus callosum.

研究代表者

成瀬 雅衣 (Naruse, Masae)

千葉大学・大学院医学研究院・特任講師

研究者番号：60455219

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：脳室下層の成体神経幹細胞は通常は嗅球へ神経細胞を供給しているが、脳に損傷が起ると損傷部位に神経細胞やオリゴデンドロサイトを供給しようとするのは既知の事実である。しかしながら、神経幹細胞が損傷を感知し、正常の神経新生から脱髄巢の髄鞘再生へ寄与する過程の細胞動態の詳細と分子基盤はまったく不明であった。本課題では、局所白質損傷によって活性化されたミクログリアが神経幹細胞に働きかけ、神経幹細胞からオリゴデンドロサイト前駆細胞産生を誘導し髄鞘再生に寄与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内在性の神経幹細胞の活性化による髄鞘再生機構を明らかにする事は、難病である脱髄性疾患の再生医療の解明の発展へ貢献する。また、ミクログリアは脳内の免疫系を担う細胞であるが、近年、生理活性物質を放出して神経細胞やグリア細胞の生存や分化も制御している事が明らかになっている。本課題により、髄鞘再生におけるミクログリアの新しい役割と髄鞘再生過程における神経幹細胞の動態制御機構が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：When demyelination occurs, neural stem or progenitor cells in the SVZ provide newly formed oligodendrocytes to demyelinated lesions. The mechanisms, however, still remain unknown. The present study revealed that focal demyelination in the corpus callosum caused activation of microglia not only at the site of demyelination, but also in the SVZ, and dramatically increased generation of oligodendrocyte progenitor cells (OPCs) in the SVZ. Furthermore, inhibition of microglial activation decreased OPC generation in the SVZ, suggesting that activated microglia in the SVZ, induced by focal demyelination in the corpus callosum, regulate neural stem or progenitor cell lineage plasticity in situ. In contrast, inducing focal demyelination in the internal capsule did not induce either microglial activation or OPC generation in the SVZ. These results suggest that the mechanism of OPC generation in the SVZ following demyelinating lesions could be different among the demyelinated regions.

研究分野：神経発生

キーワード：神経幹細胞 オリゴデンドロサイト 脱髄 ミクログリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

オリゴデンドロサイトは、中枢神経系で神経軸索に髄鞘を形成し、跳躍伝導を可能にすることで神経伝達速度を増大させる。オリゴデンドロサイトの機能に関わる疾患として神経難病の多発性硬化症など脱髄性疾患がよく知られている。髄鞘が脱落すると神経伝達速度が遅くなり、運動麻痺、感覚麻痺、視力障害などが起きる。また脳梗塞やアルツハイマー病など様々な疾患で脱髄が生じている。

脳室下層の成体神経幹細胞は通常は嗅球へ神経細胞を供給しているが、脳に損傷が起きると損傷部位に神経細胞やオリゴデンドロサイトを供給しようとすることは既知の事実である。動物実験で、大脳皮質や線条体などに脳虚血などで障害が起き神経細胞死が誘導されると、神経幹/前駆細胞が損傷が起きた場所に新たに神経細胞を補うことが報告されている。神経細胞だけでなく、脳梁で脱髄を誘導すると、神経幹/前駆細胞がオリゴデンドロサイトを脱髄巣へ供給し髄鞘を再生する (Etxeberria et al., Nat.Neurosci. 2010)。しかし、成体神経幹細胞が正常の神経新生から白質損傷時のオリゴデンドロサイト再生へ切り替わる仕組みはまったく不明であった。

2. 研究の目的

脱髄誘導後、脳室下層での神経幹細胞の運命制御(神経細胞産生 オリゴデンドロサイト前駆細胞産生)機構を明らかにする。

3. 研究の方法

リゾレシチンを脳梁に投与し脱髄を誘発させる多発性硬化症モデルマウスでは、脱髄から髄鞘再生過程を 3 週間程度で解析可能である。このマウスで脳室下層の神経幹細胞が脳梁の脱髄巣へ髄鞘を再生するオリゴデンドロサイトを供給する事は既に明らかであるが、その過程と制御機構は不明である (Etxeberria et al., Nat.Neurosci. 2010)。8 週齢の ICR マウスの脳梁へリゾレシチンを投与し、脳梁で局所的な脱髄を誘導し、組織学的に脳室下層の細胞の性質を解析する。

4. 研究成果

リゾレシチンをマウス脳梁 (cc; corpus callosum) へ投与すると速やかに脱髄が誘導され、3 日後には脱髄巣でオリゴデンドロサイト 前駆細胞の増加が観察される (Etxeberria et al., Nat.Neurosci. 2010)。そこで、リゾレシチン投与後 2 日目で、組織学的解析をおこない、脳室層 (SVZ: subventricular zone)の細胞の性質の変化を解析した。

脳梁へのリゾレシチン投与後 2 日目において、すでに局所的な脱髄が生じていることが髄鞘染色 (Luxol Fast Blue Stain)により示された (図 1)。

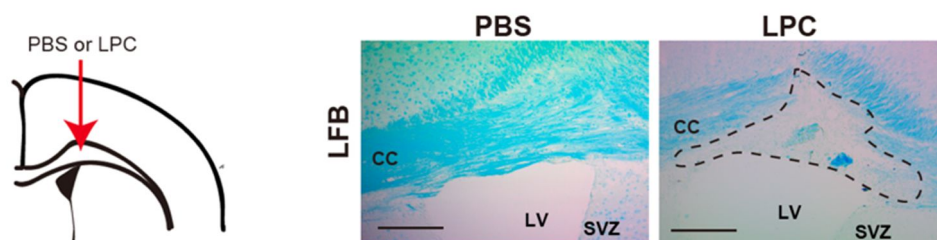


図 1

ミクログリアマーカー Iba1、活性型ミクログリアマーカー CD68 の染色をおこなったところ、リゾレシチンを投与したマウスの脳では、脱髄巣だけではなく脳室下層 (SVZ)でもミクログリ

アが活性化していることが明らかになった (図 2)。

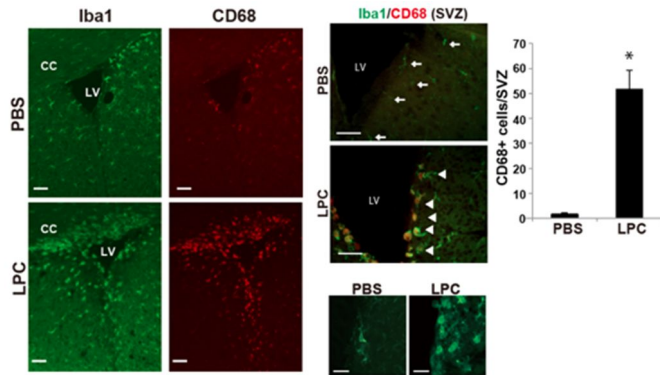


図 2

次に、オリゴデンドロサイト前駆細胞マーカー Olig2、NG2 の染色をおこなったところ、リゾレシチンを投与したマウスで、脳室下層でオリゴデンドロサイト前駆細胞の数が顕著に増加した (図 3)。一方で、神経幹細胞マーカー Sox2 を発現する細胞の数に変化は見られなかった (図 3)。以上の結果より、脳梁での脱髄の誘導により、脳室下層でオリゴデンドロサイト前駆細胞の数が増加することが示された。

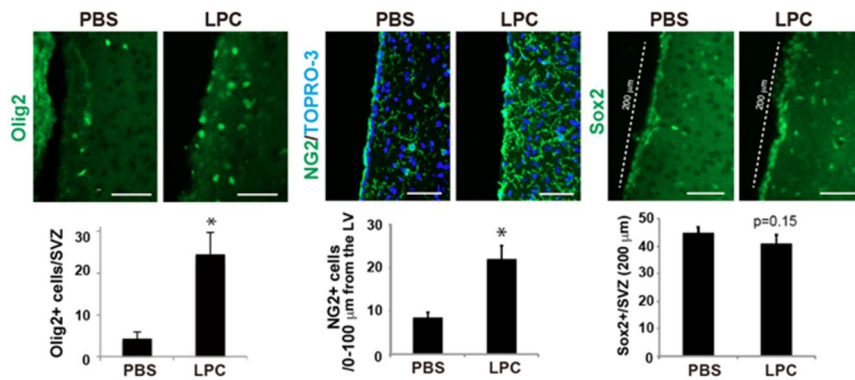


図 3

さらに、細胞増殖マーカー Ki67 と Olig2 の二重染色により、リゾレシチンを投与し脱髄を誘導したマウスの脳室下層では Olig2 陽性細胞は分裂をしていないことが明らかになり、脱髄により、脳室下層のオリゴデンドロサイト 前駆細胞が増殖するのではなく、神経幹細胞がオリゴデンドロサイトへ分化したことが示唆された (図 4)。

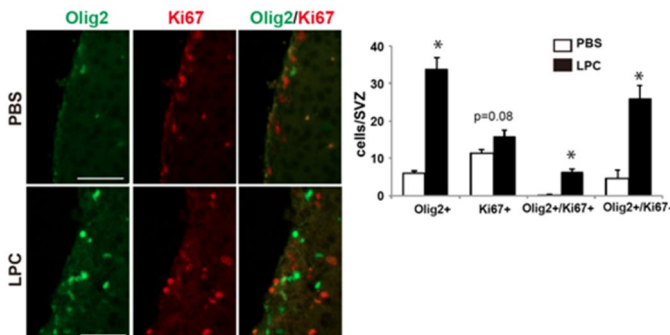


図 4

次に、脱髄が生じた時に誘導される脳室下層でのオリゴデンドロサイト前駆細胞の産生にミク

ログリアの活性化が関与しているか否かを、ミクログリアの活性化を抑制するミノサイクリンの投与をすることにより解析した。ミノサイクリンの投与によりミクログリアの活性化が抑制され、オリゴデンドロサイト前駆細胞の産生も抑制された。このことより、脱髄によるミクログリアの活性化が神経幹細胞からオリゴデンドロサイト前駆細胞への分化を誘導する一因であることが示された。

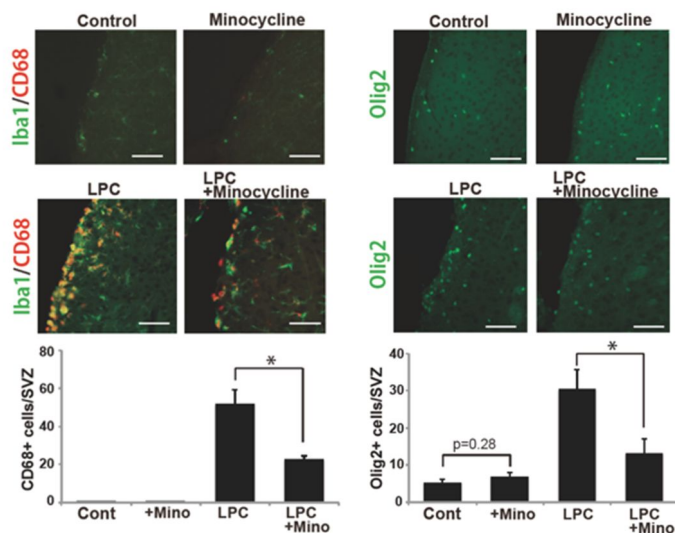


図 5

次に脳室下層より離れた内包 (IC: internal capsule) で脱髄が生じた時に、脳室下層でのミクログリアの活性化とオリゴデンドロサイト前駆細胞の産生が誘導されるか検討を行なった。脳梁とは異なり、内包 (IC) での脱髄では脳室下層の細胞に変化は見られず、脱髄巣の場所により神経幹細胞の反応が異なることが示唆された (図 6)。

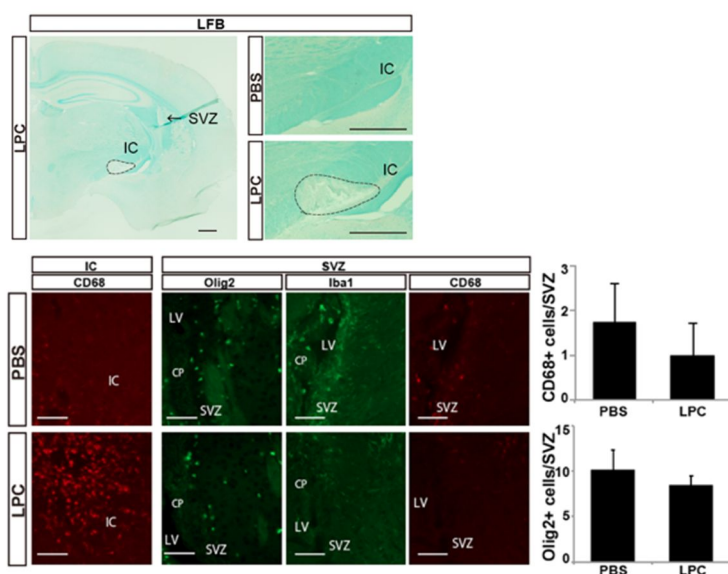


図 6

以上の結果より、局所白質損傷によって活性化されたミクログリアが神経幹細胞に働きかけ、神経幹細胞からオリゴデンドロサイト前駆細胞産生を誘導し髄鞘再生に寄与することを明らかにした。さらに、脳梁と内包の脱髄では神経幹/前駆細胞による髄鞘再生過程が異

なることを示唆した。次の課題として、白質損傷/再生過程の神経幹細胞からオリゴデンドロサイト前駆細胞への分化誘導シグナルについて解析をおこなっている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sato-Hashimoto M, Nozu T, Toriba R, Horikoshi A, Akaike M, Kawamoto K, Hirose A, Hayashi H, Nagai H, Shimizu W, Saiki A., Ishikawa T, Elhanbaly R, Kotani T, Murata Y, Saito Y, Naruse M, Shibasaki K, Oldenborg P.-A, Jung S, Matozaki T, Fukazawa Y, Ohnishi H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Microglial SIRP regulates the emergence of CD11c+ microglia and demyelination damage in white matter.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.42025	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 Shimauchi-Ohtaki H, Kurachi M, Naruse M, Shibasaki K, Sugio S, Matsumoto K, Ema M Yoshimoto Y, Ishizaki Y	4. 巻 692
2. 論文標題 The dynamics of revascularization after white matter infraction monitored in Flt1-tdsRed and Flk1-GFP mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurosci Lett	6. 最初と最後の頁 70-76
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2018.10.057	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 Naruse M, Shibasaki K, Shimauchi-Otaki H, Ishizaki Y.	4. 巻 40
2. 論文標題 Microglial activation induces generation of oligodendrocyte progenitor cells from the subventricular zone after focal demyelination in the corpus callosum.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Dev. Neurosci	6. 最初と最後の頁 54-68
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000486332	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 成瀬雅衣
2. 発表標題 髄鞘損傷時に誘導される活性化ミクログリアによる神経幹細胞運命制御
3. 学会等名 第15回 Chiba neuroresearch meeting
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 成瀬雅衣、柴崎貢志、島内寛也、石崎泰樹
2. 発表標題 Microglial activation induces generation of oligodendrocyte progenitor cells from the subventricular zone after focal demyelination in the corpus callosum.
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関