

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16925

研究課題名（和文）ミクログリア含有ヒト脳オルガノイドを用いたヒト脳発生過程の解明

研究課題名（英文）The research in the human brain development by the use of microglia-containing human brain organoids

研究代表者

松井 健（Matsui, Takeshi）

島根大学・学術研究院医学・看護学系・特任講師

研究者番号：90528605

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：申請者はミクログリアがヒト脳内で神経幹細胞を制御するメカニズムの解明を目的に研究を行い、ヒトES/iPS細胞からミクログリアを有するミクログリア含有ヒト脳オルガノイドを得る手法の確立に成功した。その後、申請者はミクログリア含有ヒト脳オルガノイドを用いて、ヒト脳におけるミクログリアと神経系の相互作用の解明を目的に実験を行った。さらに、ミクログリア含有ヒト脳オルガノイドを用いて低酸素実験を行い、脳虚血時のヒト脳における遺伝子発現の変化をIn vitroで再現する実験系を立ち上げたほか、この実験で得られたデータを論文として投稿した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

申請者は、本研究においてミクログリアがヒト脳内で神経幹細胞を制御するメカニズムの解明を目的に研究を行い、ヒトES/iPS細胞からミクログリアおよび神経幹細胞を有するヒト脳オルガノイドを得る手法を確立した。この研究成果により、試験管内でミクログリアとヒト神経幹細胞の相互作用を分析することが可能になった。近年、これまで治療困難出会ったヒト脳の神経疾患・損傷が、脳内にある神経幹細胞の活性化により治療可能であることを示唆する研究成果が、相次いで発表されており、本研究成果も、神経幹細胞の制御によってヒト脳の再生を促す再生医療の開発に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We tried to reveal the mechanism in which microglial cells regulate neural stem cells in human brains. As a result, we successfully developed the method to induce microglia-containing human brain organoids from human ES/iPS cells. Afterwards, we studied the relationship between microglial and neural cells in human brains by the use of the microglia-containing human brain organoids. Additionally, to mock the ischemia in human brains in vitro, we tried oxygen-glucose deprivation on these organoids. Finally, we submitted the paper to publish the result acquired from these research.

研究分野：中枢神経発生 再生医学 幹細胞

キーワード：ヒト脳オルガノイド 神経発生 幹細胞

#### 1. 研究開始当初の背景

成体ヒトにおいて、中枢神経系の可塑性が極めて低いことは広く知られており、加齢や外傷、脳卒中によって失われた神経機能の大半は回復しない。故に、現代医学では、失われた神経機能の回復は殆ど実現できていない。しかし近年の研究から、これらの神経疾患・損傷が脳内にある神経幹細胞の活性化によって治療可能であることが示され[Villeda SA et al., *Nature* 2011]、神経幹細胞が中枢神経系再生の鍵となることがわかってきた。

成体ヒトの中枢神経系に存在する神経幹細胞の数は限られているが、外部刺激によってこれらの細胞の増殖を促すことが可能になれば、中枢神経系再生医療への道が開けることとなる。哺乳類の脳実質は主に外胚葉系の神経細胞、アストロサイト、神経幹細胞、オリゴデンドロサイトなどで構成されているが、これに加えて中胚葉由来のミクログリアも脳実質の構成要素となっている。

この細胞は今まで中枢神経系の免疫を担う細胞と認識されていた[Filiano AJ et al., *Brain Res* 2015]が、申請者は、ミクログリアが免疫機能を担うだけでなく、神経幹細胞の増殖を促進する液性因子を分泌することをマウスを用いた実験で明らかにした[Matsui et al., *BBRC* 2018]。だが、本研究の開始時点において、本現象の発生学的意義は解明されていなかった。

#### 2. 研究の目的

ミクログリアがヒト脳内で神経幹細胞を制御するメカニズムの解明。

#### 3. 研究の方法

ヒト脳はマウス脳よりもはるかに複雑な構造を有しているため、マウスを用いて得られた知見をヒトに適用するためには、ヒトサンプルを用いた検証が必要である。しかし、生体ヒト脳サンプルの確保には倫理面での問題がある。そこで、申請者は今までにマウスを用いて得られた実験結果から構築した仮説に基づき、ヒト脳の構造を試験管内で再現したヒト脳オルガノイドを用いて研究を行った。これまでに多くのヒト脳オルガノイド樹立手法が報告されているが、その多くは神経細胞、神経幹細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトなど外胚葉系の細胞のみで構成され、脳実質の構成要素である中胚葉系のミクログリアは含まれていない。

故に、申請者は既存のヒト脳オルガノイド樹立法 [Lancaster MA et al., *Nature* 2013]を改良し、より生体脳に近いヒト脳オルガノイドの樹立を試みた。Lancaster らの手法を改良して得られたヒト脳オルガノイドに、ヒト多能性幹細胞から得られたミクログリアを移植してミクログリア含有ヒト脳オルガノイドを作製、ミクログリアがヒト脳の発生過程に及ぼす影響の解明を試みた。

#### 4. 研究成果

申請者はミクログリアがヒト脳内で神経幹細胞を制御するメカニズムの解明を目的に研究を行い、ヒト ES/iPS 細胞からミクログリアを有するミクログリア含有ヒト脳オルガノイドを得る手法の確立に成功した。また、この過程で得られた知見をもとに二つの総説論文を投稿し、Frontiers in cellular neuroscience および Stem cells 誌にアクセプトされた。

このほか、ミクログリア含有ヒト脳オルガノイドの分化誘導系を確立する過程で、発生期ヒト脳における脳幹部の構造を再現したヒト脳幹オルガノイドの分化誘導法を発見した。この分化誘導法を原著論文として投稿し、Frontiers in neuroscience 誌にアクセプトされた。

さらに、本研究で得られたミクログリア含有ヒト脳オルガノイドを虚血・低酸素状態に曝露した上で、発現量が大きく変化する遺伝子の検索を行い、これら

の成果を論文として投稿した。

このほか、日本神経学会総会等の学会においても、本研究成果の発表を行なった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsubayashi Masaya, Sakaguchi Yoshihiko M., Sahara Yoshiki, Nanaura Hitoki, Kikuchi Sotaro, Asghari Arvand, Bui Linh, Kobashigawa Shinko, Nakanishi Mari, Nagata Riko, Matsui Takeshi K et al.,	4. 巻 35
2. 論文標題 27 Hydroxycholesterol regulates human SLC22A12 gene expression through estrogen receptor action	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 online
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202002077R	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 該当する

1. 著者名 Eura Nobuyuki, Matsui Takeshi K., et al.,	4. 巻 14
2. 論文標題 Brainstem Organoids From Human Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 online
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2020.00538	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 該当する

1. 著者名 Matsui Takeshi K., Tsuru Yuichiro, Kuwako Ken-ichiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Challenges in Modeling Human Neural Circuit Formation via Brain Organoid Technology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 online
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2020.607399	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 Takeshi K Matsui, Yuichiro Tsuru, Koichi Hasegawa, Ken-Ichiro Kuwako	4. 巻 online
2. 論文標題 Vascularization of human brain organoids	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem cells	6. 最初と最後の頁 online
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 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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hitoki Nanaura, Takeshi K. Matsui, Tomo Shiota, Nobuyuki Eura, Eiichiro Mori, Kazuma Sugie
2. 発表標題 Rapid induction of midbrain-like organoids from human pluripotent stem cells
3. 学会等名 日本神経学会総会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Tomo Shiota, Takeshi K. Matsui, Nobuyuki Eura, Hitoki Nanaura, Eiichiro Mori, Kazuma Sugie,
2. 発表標題 Recapitulation of brain ischemia with human cerebral organoids
3. 学会等名 日本神経学会総会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Takeshi K. Matsui, Nobuyuki Eura, Hitoki Nanaura, Tomo Shiota, Eiichiro Mori, Kazuma Sugie
2. 発表標題 Human cerebral organoids recapitulate brain formation and genetic developmental disorders
3. 学会等名 日本神経学会総会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Takeshi K Matsui
2. 発表標題 Current and expected approaches to model blood brain barrier by human brain organoids
3. 学会等名 3rd Mini-Symposium on The Blood-Brain Barrier from Basic to Clinical Research
4. 発表年 2020年～2021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			
米国	University of California, San Diego	UTSW Medical Center		