

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H03565

研究課題名（和文）脳梗塞後の新生ニューロンにおける定着位置依存的な分化・成熟制御メカニズムの解析

研究課題名（英文）Positioning and differentiation of new neurons in the post-stroke brain

研究代表者

金子 奈穂子（Kaneko, Naoko）

同志社大学・脳科学研究科・教授

研究者番号：20464571

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,000,000円

研究成果の概要（和文）：成体脳内の脳室下帯で産生された新生ニューロンは、脳梗塞後の脳内を移動した後、その一部のみが分化し複数のサブタイプのニューロンへと成熟する。我々は、脳梗塞モデルマウスにおいて、分子生物学的手法やバイオマテリアルを用いた介入によって新生ニューロンの移動を促進して定着位置を操作させることで、分化・成熟・軸索形成に変化が生じること、神経機能の回復に影響を与えることを見出した。また、細胞の分化段階によって、定着位置の微小環境から受ける影響は異なることが分かった。今後の研究で、その分子メカニズムを詳細に検討する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果から、新生ニューロンが環境適応的に分化するという新たな可能性が示唆された。脳梗塞後の組織で分化する数少ない新生ニューロンの分布・分化方向を制御して、効率よく神経機能を再生することが可能であることが示唆される。今後の分子メカニズム解明により、再生能力が低い霊長類脳において、内在する再生能力を生かした新たな治療的アプローチ開発や、移植細胞を用いた再生医学的アプローチの開発においても有用な基盤的知見となる。

研究成果の概要（英文）：In the adult brain, new neurons produced in the ventricular-subventricular zone migrate toward the infarcted area after ischemic stroke. Some of these newborn neurons survive and differentiate into multiple subtypes of neurons. We have found that in a mouse model of cerebral infarction, the migration of newborn neurons can be promoted by molecular biological techniques or by transplantation of biomaterials, leading to an increase in the number of mature newborn neurons located in the vicinity of the lesion and neurological improvement. They also found that cells at different different differentiation stages are differentially affected by their microenvironment in determining their final cell fate. The molecular mechanisms will be investigated in detail in future studies.

研究分野：神経化学・神経科学

キーワード：脳室下帯 細胞移動 アストロサイト 神経再生 脳梗塞

1. 研究開始当初の背景

側脳室壁に存在する脳室下帯には神経幹細胞が存在し、成熟脳内でも持続的にニューロンやグリアを産生して脳の可塑性・再生に重要な役割を担っている。脳室下帯の神経幹細胞によって産生された新生ニューロンは、神経突起やグリアが密生した成熟脳組織の中を高速で嗅球まで移動する。この移動経路はRMSと呼ばれ、新生ニューロンは生後に発達する特徴的なアストロサイトがつくるトンネル様構造の内部を移動する。脳梗塞などの疾患によりニューロンが脱落すると、新生ニューロンの一部は梗塞部に移動する。我々は、新生ニューロンの移動を制御する分子メカニズムを明らかにしてきた(Neuron 2010; EBiomedicine 2017; J Neurosci 2018; Cell Reports 2018; Cell Stem Cell 2018; Sci Adv 2018)。脳傷害後には、その周囲の広範囲にわたって直後からアストロサイトが活性化し肥大、増生するため、新生ニューロンは密生した活性化アストロサイトの間をすり抜けて傷害部へ移動しなければならない。我々は脳切片のライブイメージングや連続断層電子顕微鏡解析を駆使して、脳梗塞後の脳内でアストロサイトと接しながら移動する新生ニューロンが拡散性ガイダンス因子 Slit1 を分泌し、受容体 Robo2 を介してアストロサイトの細胞骨格を制御して移動することを見出した (Neuron 2010; Sci Adv 2018)。脳室下帯由来の新生ニューロンに Slit1 を強制発現させて脳梗塞後の脳室下帯近傍に移植すると、移動が促進されて梗塞巣の近傍に定着位置を変化させることができた。一部の新生ニューロンは、形態的・電気生理学的に線条体の投射性ニューロンの特徴を有する細胞に分化して淡蒼球に軸索を投射し、神経機能の回復も促進された。

2. 研究の目的

傷害部に移動した新生ニューロンのごく一部しかニューロンとして定着しないため、分化・成熟、神経突起の形態制御は神経回路の再生効率を決定する重要なステップである。我々は、脳梗塞後の脳内で新生ニューロンの定着位置と分化の関係を調べる予備的実験を行なった。同一個体でも、脳室下帯-RMS を経て嗅球へ移動した新生ニューロンは近位部の分枝が少ない特有の樹状突起を持った嗅球介在ニューロンに分化したが、梗塞巣が存在する線条体に移動・定着した新生ニューロンは多数の分枝を持った樹状突起を広範囲に広げる介在ニューロンや投射性ニューロンに分化した。これらの結果から、成体脳内で新生ニューロンの分化・成熟過程が定着位置に依存して適応的に制御されている可能性が示唆された。本研究では、脳梗塞モデルマウスを用いて、新生ニューロンの定着位置がその後の分化・成熟・機能に影響を与える現象を時空間的に詳細に解析することを目的とした。得られた知見は、神経回路の再生を増強・促進する新たな脳疾患の治療的アプローチ創出の基盤として活用する。

3. 研究の方法

(1) 野生型または、特定の細胞種やその系譜が蛍光タンパク質で標識される遺伝子改変マウスに、一過性中大脳動脈閉塞術(中大脳動脈起始部の一過性閉塞手術)を行い、線条体外側から大脳皮質にかけての領域のニューロンが脱落する脳梗塞モデルマウスを作製した。内在性の脳室下帯細胞、または脳室下帯付近に移植した別個体の脳室下帯由来細胞が傷害領域に移動する脳梗塞1~2週間後から、傷害領域で分化・成熟する2ヶ月後まで、固定した脳切片を用いて免疫染色を行い、組織学的に解析した。

(2) 同様に作製した脳梗塞モデルマウスの脳内に移植した脳室下帯由来細胞を採取して、単一細胞レベルの遺伝子発現の変化をパイオインフォマティクス解析で網羅的に調べ、細胞の分化・成熟制御メカニズムを探索した。

(3) 新生ニューロンの移動を促進するバイオマテリアルを脳梗塞後のマウス脳内に移植し、内在性の新生ニューロンの移動を促進し、分布領域、成熟、分化と神経機能の回復について解析した。

4. 研究成果

(1) 新生ニューロンの移動・定着場所と分化、成熟の組織学的解析

脳梗塞1~2週間後の脳室下帯・線条体内側に、分化段階の異なる細胞系譜を薬剤依存的に標識できる遺伝子改変マウスの脳室下帯由来細胞を移植して、1日後、1週間後、2週間後に脳切片を作成し、嗅球・線条体・大脳皮質に移動した新生ニューロンにおける各脳領域特異的な転写因子の発現を免疫染色を行なって比較した。また、5週間後・10週後に、新生ニューロンの定着位置による形態・各種成熟ニューロンマーカーの発現パターンを免疫染色を行って定量的に解析した。

脳室下帯のニューロンの産生に関わる各分化段階の細胞を FACS を用いて分取したのち脳梗塞後の脳内に移植し、それぞれの細胞集団の分化過程を解析した。

(2) 新生ニューロンのシングルセル遺伝子発現解析

脳室下帯から新生ニューロンを FACS で分取して、脳梗塞後の脳室下帯外側に移植した。2日、1週間後に線条体から蛍光標識細胞を FACS で分取し、10xGenomics 社の Chromium コントローラー

を用いて cDNA ライブラリーを作製した。対照群として、同様に脳室下帯組織から FACS で分取した未移植の新生ニューロンを用いた。次世代シーケンサーを使ってシングルセルレベルで遺伝子発現を網羅的に解析し、傷害脳内で生じる遺伝子発現のバリエーションについて解析した。これらの研究結果は未発表であるが、神経生物学的、再生医学的に発展性のある成果を得られた。

(3) 脳内で自己集合するバイオマテリアルに、新生ニューロンの足場分子としてその移動を促進する N-cadherin の細胞外ドメインを組み込んだ新たなバイオマテリアルを開発し、脳梗塞後の脳室下帯から線条体かけて移植した。バイオマテリアルに沿って線条体の傷害領域まで移動する新生ニューロン数が増加し、部分的であるが神経機能が回復した。

同様に、外傷性大脳皮質傷害モデルマウスを作製して、脳室下帯から大脳皮質にかけてバイオマテリアルを移植した。大脳皮質への新生ニューロンの移動は、介入なしではほとんど見られないが、このバイオマテリアルの移植によって大脳皮質傷害領域に新生ニューロンが移動していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Ohno Yuya, Nakajima Chikako, Ajioka Itsuki, Muraoka Takahiro, Yaguchi Atsuya, Fujioka Teppei, Akimoto Saori, Matsuo Misaki, Lotfy Ahmed, Nakamura Sayuri, Herranz-Perez Vicente, Garcia-Verdugo Jose Manuel, Matsukawa Noriyuki, Kaneko Naoko, Sawamoto Kazunobu	4. 巻 294
2. 論文標題 Amphiphilic peptide-tagged N-cadherin forms radial glial-like fibers that enhance neuronal migration in injured brain and promote sensorimotor recovery	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 122003 ~ 122003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2023.122003	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 Namiki Jun, Suzuki Sayuri, Shibata Shinsuke, Kubota Yoshiaki, Kaneko Naoko, Yoshida Kenji, Yamaguchi Ryo, Matsuzaki Yumi, Masuda Takeshi, Ishihama Yasushi, Sawamoto Kazunobu, Okano Hideyuki	4. 巻 17
2. 論文標題 Chitinase-like protein 3: A novel niche factor for mouse neural stem cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2704 ~ 2717
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2022.10.012	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 Yaguchi Atsuya, Oshikawa Mio, Watanabe Go, Hiramatsu Hirotsugu, Uchida Noriyuki, Hara Chikako, Kaneko Naoko, Sawamoto Kazunobu, Muraoka Takahiro, Ajioka Itsuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Efficient protein incorporation and release by a jigsaw-shaped self-assembling peptide hydrogel for injured brain regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 6623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-26896-3	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 Okada Masayasu, Kawagoe Yosuke, Sato Yuta, Nozumi Motohiro, Ishikawa Yuya, Tamada Atsushi, Yamazaki Hiroyuki, Sekino Yuko, Kanemura Yonehiro, Shinmyo Yohei, Kawasaki Hiroshi, Kaneko Naoko, Sawamoto Kazunobu, Fujii Yukihiko, Igarashi Michihiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Phosphorylation of GAP-43 T172 is a molecular marker of growing axons in a wide range of mammals including primates	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-021-00755-0	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 Akter M, Kaneko N, Herranz-Perez V, Nakamura S, Oishi H, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K.	4. 巻 30
2. 論文標題 Dynamic Changes in the Neurogenic Potential in the Ventricular-Subventricular Zone of Common Marmoset during Postnatal Brain Development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 4092-4109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cercor/bhaa031.	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 Kumar D, Koyanagi I, Carrier-Ruiz A, Vergara P, Srinivasan S, Sugaya Y, Kasuya M, Yu TS, Vogt KE, Muratani M, Ohnishi T, Singh S, Teixeira CM, Cherasse Y, Naoi T, Wang SH, Nondhalee P, Osman BAH, Kaneko N, Sawamoto K, Kernie SG, Sakurai T, McHugh TJ, Kano M, Yanagisawa M, Sakaguchi M.	4. 巻 107
2. 論文標題 Sparse Activity of Hippocampal Adult-Born Neurons during REM Sleep Is Necessary for Memory Consolidation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 552-565
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuron.2020.05.008.	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 該当する

1. 著者名 Akter M, Kaneko N, Sawamoto K.	4. 巻 S0168-0102(20)
2. 論文標題 Neurogenesis and neuronal migration in the postnatal ventricular-subventricular zone: Similarities and dissimilarities between rodents and primates.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 30379-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.06.001.	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 Kaneko N, Nakamura S, Sawamoto K.	4. 巻 13
2. 論文標題 Effects of interferon-alpha on hippocampal neurogenesis and behavior in common marmosets.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-00639-9.	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 Koyanagi I, Sonomura K, Naoi T, Ohnishi T, Kaneko N, Sawamoto K, Sato TA, Sakaguchi M.	4. 巻 14
2. 論文標題 Metabolic fingerprints of fear memory consolidation during sleep.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-021-00733-6.	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 Ito N, Riyadh MA, Ahmad SAl, Hattori S, Kanemura Y, Kiyonari H, Abe T, Furuta Y, Shinmyo Y, Kaneko N, Hirota Y, Lupo G, Hatakeyama J, Abdulhaleem M FA, Anam MB, Yamaguchi M, Takeo T, Takebayashi H, Takebayashi M, Oike Y, Nakagata N, Shimamura K, Holtzman MJ, Takahashi Y, Guillemot F, Miyakawa T, Sawamoto K, Ohta K.	4. 巻 13
2. 論文標題 Dysfunction of the proteoglycan Tsukushi causes hydrocephalus through altered neurogenesis in the subventricular zone in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 eaay7896
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scitranslmed.aay7896.	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 該当する

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 傷害脳を再生するニューロンの細胞骨格ダイナミクス制御
3. 学会等名 日本化学会第103春季年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 成体脳内の神経幹細胞の分化と傷害脳の再生
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 脳梗塞後のニューロン再生と機能回復
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 潜在する再生能力を活用した傷害脳の再生
3. 学会等名 第14回脳科学若手の会関西西部会セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 成体脳で生まれる神経細胞の挙動制御と傷害脳の再生
3. 学会等名 地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 脳を知り、再生に挑む
3. 学会等名 世界脳週間京都講演会2022年度（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 脳の再生能力を考える
3. 学会等名 脳科学サテライト教室（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoko Kaneko
2. 発表標題 Interaction between new neurons and astrocyte in the post-stroke brain
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoko Kaneko
2. 発表標題 Heterogeneous movement of chain-forming neurons for efficient migration in the adult brain.
3. 学会等名 The 45th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoko Kaneko
2. 発表標題 Swarming migration of new neurons in the adult brain for neuronal regeneration.
3. 学会等名 日本発生物学会第55回大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 成体脳内で生まれるニューロンの状況依存的な移動・分化
3. 学会等名 第18回成体脳のニューロン新生懇談会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoko Kaneko and Kazunobu Sawamoto
2. 発表標題 Adult-born neurons migrate and differentiate in response to the microenvironment in the post-stroke brain.
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naoko Kaneko, Mariyam Akter, Vicente Herranz-perez, Hisashi Oishi, Jose Manuel Garcia-verdugo, Kazunobu Sawamoto
2. 発表標題 Neurogenic potential in common marmoset ventricular-subventricular zone during postnatal brain development.
3. 学会等名 International Society for Stem Cell Research 2021 Tokyo (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金子奈穂子
2. 発表標題 成熟脳内で生まれるニューロンの移動制御と傷害の再生
3. 学会等名 第11回名古屋市立大学IBSセミナー(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金子奈穂子, 澤本和延.
2. 発表標題 動的な鎖状細胞塊を形成して脳傷害部へ移動する新生神経細胞
3. 学会等名 日本数理生物学会2021年大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金子奈穂子, 澤本和延
2. 発表標題 脳梗塞切片を移動する生きた神経細胞の挙動を記録するライブイメージング法
3. 学会等名 第11回日本脳血管・認知症学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金子奈穂子, 澤本和延
2. 発表標題 Migration of new neurons for efficient brain regeneration after stroke.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金子奈穂子, 澤本和延
2. 発表標題 脳梗塞後の新生ニューロンの移動と神経回路の再生.
3. 学会等名 第63回日本神経化学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kaneko N, Sawamoto K.
2. 発表標題 Positioning of adult neural stem cell-derived new neurons in the post stroke brain for functional regeneration.
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society.
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

同志社大学脳科学研究科HP, 神経再生機構部門 https://brainscience.doshisha.ac.jp/introduction/pat/nr.html 同志社大学大学院脳科学研究科ホームページ部門紹介 https://brainscience.doshisha.ac.jp/introduction/pat/nr.html 金子奈穂子 研究室ホームページ https://kanekolab.org/

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		
スペイン	バレンシア大学		