

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15915

研究課題名（和文）脳幹聴覚回路における領域依存的ミエリン形成機構

研究課題名（英文）Region-dependent mechanisms of myelin formation in brainstem auditory circuits

研究代表者

江川 遼（Egawa, Ryo）

名古屋大学・医学系研究科・助教

研究者番号：20722226

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）：本研究により、脳幹聴覚回路におけるオリゴデンドロサイト形態の領域差を作り出すメカニズムの一端が明らかとなった。神経核近傍領域では、対側投射領域と比較してオリゴデンドロサイト系譜細胞の密度が高く、この細胞密度の領域差は軸索からの開口放出の抑制によってほぼ消失した。また、オリゴデンドロサイトにおけるBDNFシグナリングの操作は領域依存的にミエリン形態に影響を及ぼした。以上の結果は、脳幹聴覚回路の軸索から放出されたBDNFの局所濃度差がオリゴデンドロサイト形態の領域差を生み出す可能性を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オリゴデンドロサイト不均一性に関する知見は蓄積しつつある一方で、その機能的意義については十分に理解が進んでいない。本研究では、オリゴデンドロサイト不均一性がマイクロ秒レベルの両耳間時差検出に関わることを示唆される脳幹聴覚回路において、その形成メカニズムの一端を明らかにした。この成果は、神経グリア回路の情報処理基盤を理解するうえで重要な知見となると期待できる。

研究成果の概要（英文）：This study revealed part of the mechanism that produces regional differences in oligodendrocyte morphology in the brainstem auditory circuit. The density of oligodendrocyte lineage cells was higher in the region near the neuronal nucleus compared to the contralateral projection region, and this regional difference in cell density was nearly abolished by inhibition of exocytosis from the axon. Manipulation of BDNF signaling in oligodendrocytes also affected myelin morphology in a region-dependent manner. These results suggest that regional density differences in BDNF released from axons in the brainstem auditory circuit may generate regional differences in oligodendrocyte morphology.

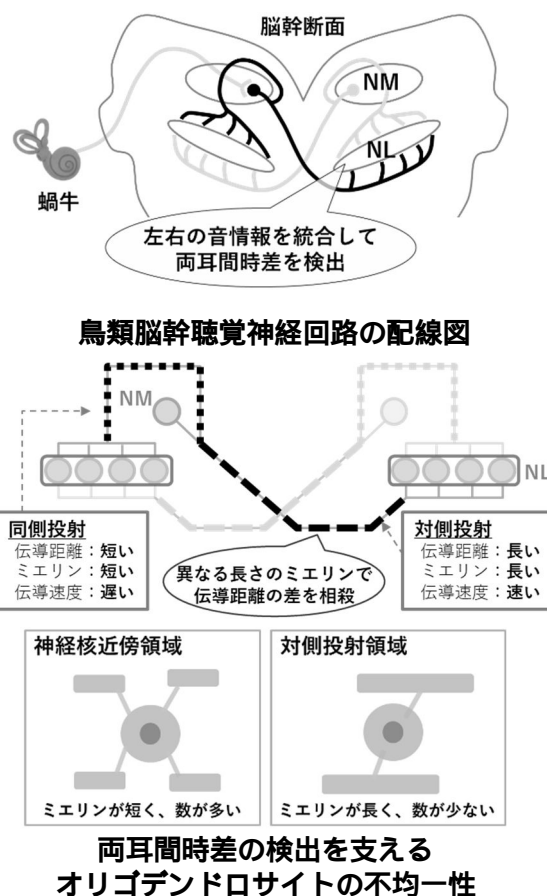
研究分野：神経科学

キーワード：オリゴデンドロサイト不均一性 両耳間時差 ニワトリ胚 髄鞘 卵内エレクトロポレーション

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内のグリア細胞の一種であり、ニューロンの軸索上にミエリンを形成することで跳躍伝導を実現し、活動電位の伝導速度の増大に寄与する。従来、オリゴデンドロサイトは均一な細胞集団だと考えられてきたが、近年では脳領域ごとに形態や遺伝子発現に差異があることが明らかとなってきた (Foerster et al, *Glia*, 2019; Ornelas et al., *J Neurosci Res*, 2016)。このオリゴデンドロサイトの不均一性 (heterogeneity) が脳内においてどのような機能的意義を持つかについてはまだ十分に研究が進んでいない。しかしながら、ミエリン形態は伝導速度に直結することから、シナプス入力タイミングの同期や神経回路における情報統合にも強く影響していると考えられる。

オリゴデンドロサイト不均一性の機能的意義を示唆する先駆的な例が、聴覚情報を処理する脳幹の神経回路において報告されている。この回路は、左右の耳に入力する音の情報を正確に統合・比較することで、音源方向に伴って変化するマイクロ秒レベルの時間差 (両耳間時差) を検出して音源定位に寄与する。この両耳間時差検出の研究は鳥類で特に進んでおり、脳幹の左右に各一対存在する大細胞核 (NM) と層状核 (NL) と呼ばれる神経核が重要な働きをする。NM のニューロンは同側の蝸牛から音情報を受け取り、両側の NL へ伝える。NL では左右の NM の軸索終末から同時に入力を受け取ることで両耳間時差検出を行う。NM から NL へと投射する軸索は、同側投射と対側投射で伝導距離が大きく異なるが、ここでオリゴデンドロサイトは、NM 軸索のほぼ全長にわたってミエリンを形成しており、対側投射には長いミエリンを、同側投射には短いミエリンを形成する。このように領域ごとにミエリン形成を調節することで、同側 対側投射間の伝導距離の差を相殺して NL での両耳間時差の検出を支えている (Susuki & Kuba, *J Physiol Sci*, 2016; Seidl, *Neurosci*, 2014)。



2. 研究の目的

脳幹聴覚回路におけるオリゴデンドロサイト形態の領域差は、どのようなメカニズムによって生じるのだろうか。これまで様々な脳領域で行われてきた研究から、発生学的な由来 (発生初期の神経管での細胞位置) の違いが不均一性の起源として広く認識されている。しかし近接した脳領域間を比較した研究はまだほとんどなく、脳幹聴覚回路の中での領域差についても同様の解釈ができるかは議論の余地がある。脳幹聴覚回路では、軸索配線がほぼ完成して高頻度の聴覚入力が入るようになる胚齢 12 日 (E12) 以降にミエリン形成が進行する。化学的伝達が盛んにおこなわれる神経核近傍領域とそこから距離的に離れた対側投射領域とではオリゴデンドロサイト周囲のリガンド濃度などの細胞外環境が大きく違う可能性がある。

本研究では、トリ脳幹聴覚回路におけるオリゴデンドロサイトの発達過程を詳細かつ多角的に解析し、さらに機能的介入を行うことで脳幹聴覚回路におけるオリゴデンドロサイト形態の領域差を生み出すメカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

プラスミド混合液もしくは A3V ベクターをニワトリ 2 日胚の神経管に注入することで、NM ニューロンとオリゴデンドロサイトを可視化・操作した。オリゴデンドロサイトが成熟する孵化直前までの各段階で脳幹を摘出し、作成した厚スライスを透明化してライトシート顕微鏡もしくは二光子顕微鏡で観察することでオリゴデンドロサイトの三次元形態を領域ごとに評価した。

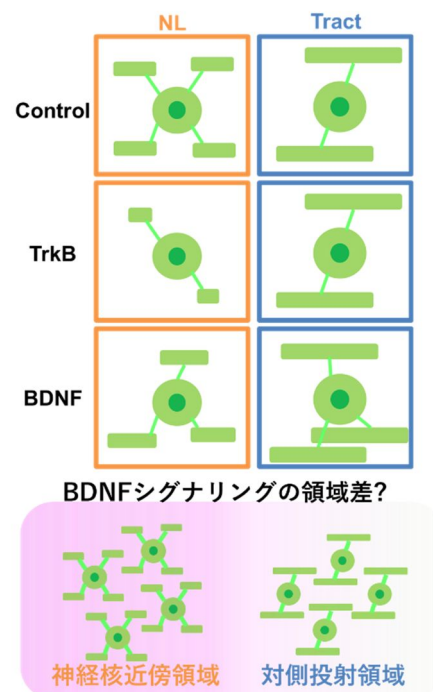
4. 研究成果

オリゴデンドロサイト密度の領域差と神経活動依存性

NM 軸索はほぼ全長にわたってミエリン化されることから、オリゴデンドロサイトの密度は個々のオリゴデンドロサイト形態に重大な影響を及ぼす因子であると考えられる。対側投射領域と神経核近傍領域の間でオリゴデンドロサイトマーカー陽性細胞および BrdU 陽性の新生細胞の密度を比較したところ、神経核近傍領域では 1.2-1.5 倍密度が高かった。この結果はミエリン間の競合によって短縮化が生じる可能性を支持する。さらにこの密度差は、大細胞核ニューロンの開口放出の抑制によってほぼ消失したことから、軸索終末から放出される伝達物質がオリゴデンドロサイト産生を促していることが示唆された。

BDNF シグナリングの領域依存的効果

NM 軸索から放出されると考えられる細胞外リガンドを探索するために、オリゴデンドロサイトに蛍光タンパク質とともに機能的分子を強制発現させ、その形態的变化を評価した結果、BDNF シグナリングの関与が示唆された。ドミナントネガティブ型の TrkB を発現させると、不完全な形状のオリゴデンドロサイトが出現した。BDNF とその受容体の TrkB をそれぞれオリゴデンドロサイトに強制発現をさせると、神経核近傍領域では TrkB 発現オリゴデンドロサイトのみが、対側投射領域では BDNF 発現オリゴデンドロサイトのみが特徴的な形態異常を示した。強制発現による BDNF 自己分泌の効果や TrkB シグナリングの活性化の程度は、細胞周辺に存在する BDNF の濃度によって変動し得ることから、領域特異的に生じたオリゴデンドロサイト形態への影響は、細胞外 BDNF 濃度が神経核近傍領域で高く対側投射領域で低いという領域差を反映している可能性が示唆された。



脳幹聴覚回路の遺伝子工学的な操作を効率化する要素技術の確立

本研究ではまた、脳幹聴覚回路の研究を進めるうえでボトルネックとなっていた技術的課題の解決に着手し、トランスポゾンの最適化によるグリア標識の効率化、オリゴデンドロサイト前駆細胞の標識、A3V による大細胞核ニューロンの感染効率向上、免疫染色した 200um スライスでの高解像度 3D イメージング法、脳幹聴覚回路の発達過程を再現可能な後脳の器官培養法といった技術を確立した。このような要素技術は、両時間時差検出を支える神経グリア回路のさらなる解明に向けた今後の研究の発展に非常に重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Israt Jahan, Ryota Adachi, Ryo Egawa, Haruka Nomura, Hiroshi Kuba	4. 巻 43
2. 論文標題 CDK5/p35-Dependent Microtubule Reorganization Contributes to Homeostatic Shortening of the Axon Initial Segment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Neurosci	6. 最初と最後の頁 359-372
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.0917-22.2022	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5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 古道万喜, 宮田花梨, 江川 遼, 久場 博司
2. 発表標題 両耳間時差検出の基盤となる軸索分岐パターンの形成に関わる分子スクリーニング
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 古道万喜, 宮田花梨, 江川 遼, 久場 博司
2. 発表標題 両耳間時差検出の基盤となる軸索分岐パターンの形成に関わる分子スクリーニング
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮田花梨, 古道万喜, 江川 遼, 久場 博司
2. 発表標題 両耳間時差検出を担う軸索配線パターンの発達期形態解析
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 本原健太、江川遼、久場博司
2. 発表標題 トリ脳幹聴覚回路における軸索起始部可塑性のためのKOスクリーニング系の構築
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江川遼
2. 発表標題 透明化組織観察の実際と成功のコツ
3. 学会等名 第43回 日本神経科学大会 カールツァイス企業セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>2023年3月 日本生理学会 第100回記念大会 最優秀学部生ポスター賞（発表者：古道 万喜） https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_J/news/award/2023/03/16114315.html</p> <p>2021年8月 第44回日本神経科学大会 ジュニア研究者ポスター育成賞（発表者：本原 健太）</p> <p>NIKON JOICO AWARD 2019 特別賞 「両耳間時差を検出する脳幹聴覚神経回路」 https://www.healthcare.nikon.com/ja/ss/joicoaward/award/award3/</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

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
---------	---------