

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07459

研究課題名（和文）中枢神経損傷部位において神経回路再編に許容的な場を形成する細胞群の役割解明

研究課題名（英文）Enhancement of neural circuit remodeling by non-neuronal cells after central nervous system injury

研究代表者

系数 隆秀（Itokazu, Takahide）

大阪大学・大学院医学系研究科・特任教授（常勤）

研究者番号：60750015

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：中枢神経損傷後の神経機能回復を促進するような新規メカニズムの解明を目指し、損傷を契機として病変部に集積する細胞群が協働して「神経回路再編成に許容的な場」を形成するとの仮説のもと研究を行った。脊髄損傷・脊髄炎の動物モデルを用いて脊髄中心管をとりまく上皮細胞、及び脊髄後根に存在する修復シュワン細胞につき解析したところ、これら細胞は増殖・遊走し、損傷部位に集積した。両細胞それぞれについてその増殖・遊走に関する分子メカニズムを複数同定し、実際にこれら分子への介入試験を行ったところ、神経回路の再編成が促され、さらに神経機能予後も改善することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、上皮細胞やシュワン細胞といった中枢神経の辺縁に存在する細胞が中枢神経損傷に応答して増殖し、障害部位に集積すること、また同部位で神経栄養因子の分泌等を介して神経再生にとって有利な中枢環境を構築し、神経機能回復に寄与することを見出した。さらに同現象を促進可能な分子標的を見出すことが出来た。本知見は、神経機能再生治療に新たな選択肢を与えるものである。

研究成果の概要（英文）：After central nervous tissue damage, the local environment in the injured spinal cord is inhospitable for neural recovery and regeneration. Thus, therapies that can modulate scar formation and provide a growth-permissive environment are awaited. We investigated the possible involvement of ependymal cells and repair Schwann cells, which proliferate and migrate into the lesion after spinal cord injury. We elucidated novel molecular mechanisms that enhance proliferation and migration of these cells. Further, we revealed that pharmacological/genetic manipulation of these factors effectively enhanced neural circuit remodeling and functional recovery.

研究分野：病態神経科学

キーワード：神経回路再編成 神経可塑性 脊髄損傷 機能回復

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

種々の要因によって中枢神経系が損傷を受けると、神経回路の破綻による神経機能障害が出現し、多くの場合重篤な後遺症を残す。この神経回路網を再構築することにより失われた神経機能を回復させようとする試みは臨床神経学上の最重要課題の一つであるが、未だ大きなブレークスルーは得られていない。原因の一つとして成体の中枢神経組織は神経回路の再編成に対して元来阻害的な環境となっており、損傷が加わることでさらに環境が阻害的になることが挙げられる。これまでも直接的に神経栄養因子を投与することなどにより障害部位での神経細胞・軸索の再生を助けようとする研究は行われてきたが、侵襲性等の問題で臨床応用には至っていない。

申請者らは各種中枢神経障害モデルを用いて損傷部環境につき検討を重ねてきた中で、中枢神経系の辺縁に常在する一部の細胞(脊髄においては中心管周囲の上衣細胞や、神経根に存在するシュワン細胞由来の細胞群(修復シュワン細胞))が一定の条件下で増殖・遊走して損傷部に分布することを見出し、本研究課題ではこれらの細胞が損傷後の回復過程における組織修復に有益な効果をもたらす可能性について検証することとした。

2. 研究の目的

本研究課題では、脊髄損傷動物モデルにおいて中枢神経系の辺縁に存在する細胞群、上衣細胞(中心管周囲)及び修復シュワン細胞(神経根由来)が損傷を契機に増殖・遊走して病変部に集積する現象に着目し、これらの遊走細胞が協働して「神経回路再編成に許容的な場」を形成しており、この現象を促進することで生体の持つ修復機構を最大限に引き出すような新たな治療戦略が提案できると考え、その具体的な分子メカニズムまでを明らかにすることを目指して検討を行った。

3. 研究の方法

上衣細胞及び修復シュワン細胞のそれぞれについて、その動態を制御している可能性のある因子を複数選出し、これらにつき、マウスおよびラット脊髄損傷/脊髄炎モデルを用いて実際に *in vivo* で上衣細胞/修復シュワン細胞の増殖・遊走に関わっているか検証した。介入は、候補因子の阻害剤/中和抗体/アゴニストの損傷部位への局所(持続)投与や、遺伝子改変動物を用いたコンディショナルノックアウト等によって行った。

4. 研究成果

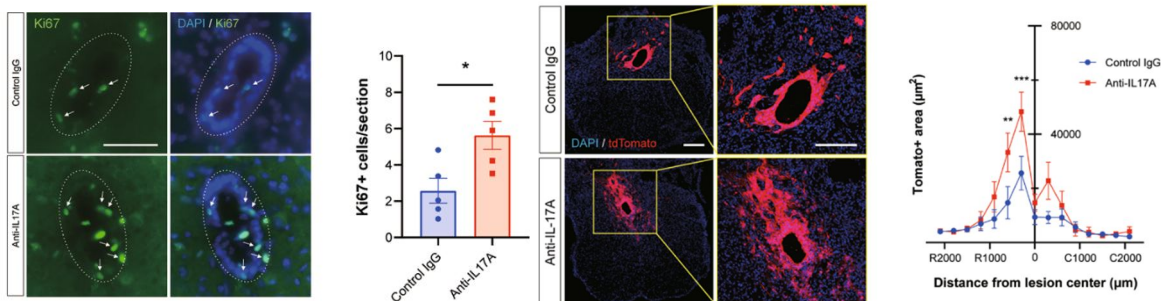
【上衣細胞による神経回路修復機構】

上衣細胞について、マウス脊髄圧挫損傷モデルを用いて、脊髄損傷後の上衣細胞の挙動を詳細に解析した。

脊髄損傷をきっかけとした上衣細胞の増殖・分化を制御する分子メカニズムを探索し、IL-17シグナルが中心的役割を果たすことを見出した。

脊髄損傷後に抗 IL-17A 中和抗体を投与したところ、皮質脊髄路の再編促進と神経機能の回復が見られた。この脊髄組織において脊髄中心管周囲の細胞増殖が亢進していること(図1左)を見出したため、上衣細胞を標識可能なマウスを用いてより詳細な評価を行い、これらの細胞が上衣細胞であることを確認した(図1右)。

【図1】

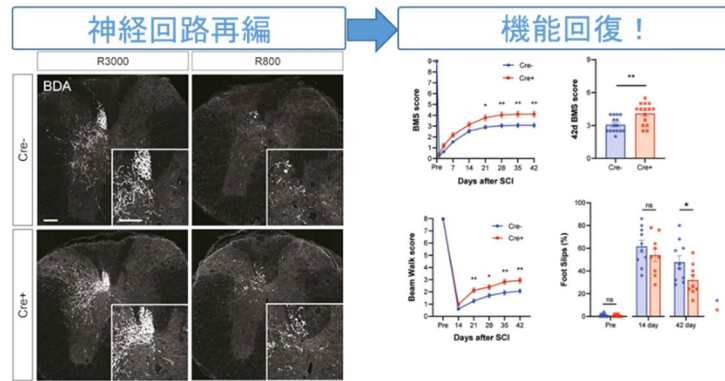


そこで、Foxj1-CreER-IL-17RA flox マウスを作成し、上衣細胞でのみ IL-17A シグナルをブロックすることで神経機能が修復されるかを検証することとした。

その結果、本処置によっても神経回路再編が促進され、運動機能障害が改善することが示され

た(図2)。また、その治療効果の一端として、増殖した上衣細胞がCNTFやGDNFなどの神経栄養因子を放出して神経回路再編を促進していることが示唆された。

【図2】

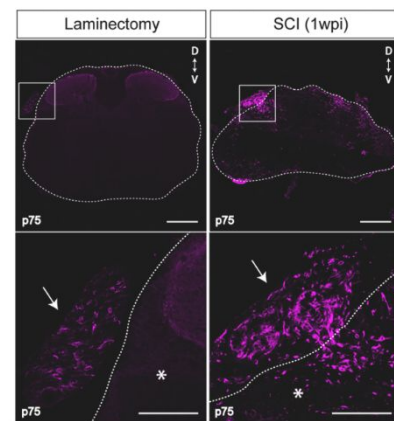


これらの結果から、上衣細胞は本来、損傷に反応して盛んに増殖し、神経回路保護的な作用を持つものの、病態下で浸潤してくる免疫細胞によってIL-17シグナルが活性化することでその増殖が抑制されてしまうことが明らかとなった。本知見は新たな視点からの脊髄損傷の治療法創出に寄与するものである。

【修復シュワン細胞による神経回路修復機構】

【図3】

脊髄損傷モデルを用いて、脊髄障害後に脊髄後角の神経根(末梢神経)から中枢神経内に侵入してくるシュワン細胞由来細胞(修復シュワン細胞)に着目した研究を行った。

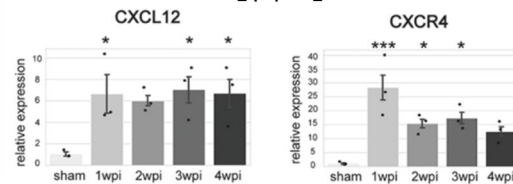


上述の上衣細胞と同様、増殖・遊走した修復シュワン細胞が脊髄損傷後の中枢神経環境を改善し、軸索の保護・再生に有益に働くとの仮説の下、その挙動を詳細に解析した。

脊髄損傷後1週間の時点で観察したところ、神経根に存在するp75陽性の修復シュワン細胞が盛んに増殖し、脊髄組織内に侵入していた(図3)。

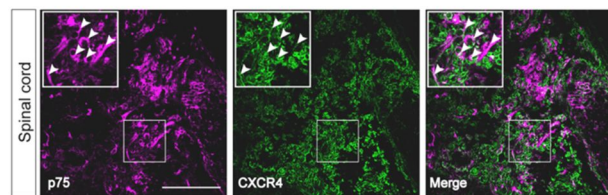
この現象を制御している分子メカニズムを見出すべく、関与が想定される因子群について、損傷後の脊髄における発現変動(qPCR)の検証と免疫染色を実施し、修復シュワン細胞がCXCR4を発現していること、また脊髄損傷後にそのリガンドであるCXCL12の発現が脊髄内で上昇していることを見出した(図4)。

【図4】



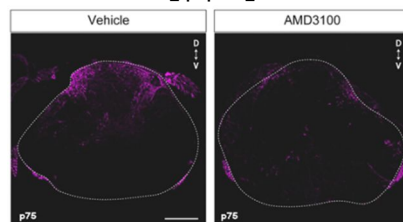
そこで、CXCR4アンタゴニストを投与したところ、実際に修復シュワン細胞の遊走が抑制された(図5)。

逆に、CXCR4アゴニストを投与したところ、修復シュワン細胞の遊走が大幅に促進された。このとき、脊髄における神経栄養因子の発現は上昇しており、運動機能の回復も促進されることが明らかになった。

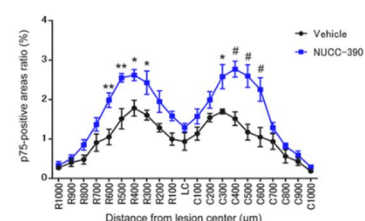
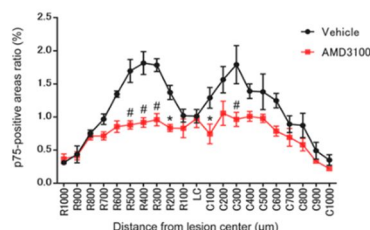
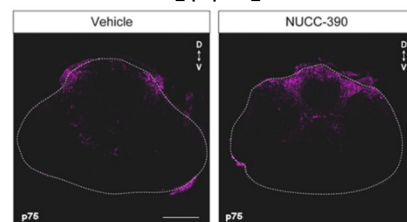


これらの結果から、修復シュワン細胞の損傷脊髄内への遊走を促進することにより、脊髄損傷後の機能回復が促進できる可能性があることが明らかになった。

【図5】



【図6】



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Furumiya Takeru, Itokazu Takahide, Nakanishi Toru, Yamashita Toshihide	4. 巻 22
2. 論文標題 CXCR4 signaling regulates repair Schwann cell infiltration into the spinal cord after spinal cord injury in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 323-326
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2022.12.022	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 Miyajima Hisao, Itokazu Takahide, Tanabe Shogo, Yamashita Toshihide	4. 巻 12
2. 論文標題 Interleukin-17A regulates ependymal cell proliferation and functional recovery after spinal cord injury in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 766
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41419-021-04064-1	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Ashikawa, Y., Itokazu, T., Yamashita, T
2. 発表標題 Promotion of Astrocyte Regeneration after Extensive Astrocyte Loss Leads to Functional Recovery in Neuromyelitis Optica.
3. 学会等名 第27回グリア研究会
4. 発表年 2023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
---------	---------