

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25514002

研究課題名(和文) 宇宙放射線被ばくによる中枢神経傷害を除去するミクログリアの役割

研究課題名(英文) Embryonic medaka model of microglia in the developing CNS allowing in vivo analysis of their spatiotemporal recruitment in response to cosmic radiation

研究代表者

保田 隆子 (Yasuda, Takako)

東京大学・新領域創成科学研究科・特任研究員

研究者番号：40450431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は胚が透明で脳を可視化できるメダカ胚を利用して、中脳視蓋においてミクログリアが放射線損傷によりアポトーシスを起こした神経細胞を取り込み、消化して除去する一連の貪食プロセスを詳細に調べそれらの分布を3次元立体構築により空間的に明らかにした。この中で、p53遺伝子が欠損して放射線による神経細胞のアポトーシスが極めて少ないメダカ胚でも、多くのアポトーシスが誘導される野生型メダカ胚とほぼ同数のミクログリアが脳全体で一斉に活性化されることを見出した。この結果は、発達途上にある脳が放射線に被ばくした際、その損傷の程度に関わらず脳中のミクログリアが活性化する機構の存在を強く示唆するものであった。

研究成果の概要(英文)：Here, we investigated the spatiotemporal dynamics of microglia during tissue repair in the irradiated embryonic medaka brain by whole-mount in situ hybridization using a probe for Apolipoprotein E (ApoE), a marker for activated microglia in teleosts. Three-dimensional imaging of ApoE-expressing microglia in the irradiated embryonic brain clearly showed that ApoE-expressing microglia were abundant only in the late phase of phagocytosis during tissue repair after irradiation, while few microglia expressed ApoE in the initial phase of phagocytosis. This strongly suggests that ApoE has a significant function in the late phase of phagocytosis by microglia in the medaka brain. In addition, the distribution of microglia in p53-deficient embryos at the late phase of phagocytosis was almost the same as in wild-type embryos, despite the low numbers of irradiation-induced apoptotic neurons, suggesting that constant numbers of activated microglia were recruited at the late phase of phagocytosis.

研究分野：発達神経毒性

キーワード：ミクログリア 貪食 アポトーシス メダカ胚 脳内免疫 放射線損傷

1. 研究開始当初の背景

脳が飛躍的に大きくなる発達期に放射線に被ばくすると、小頭症などの悪影響が現れることは、広島・長崎の原爆による疫学研究から明らかになっている。脳の一部が物理的な損傷を受けたり細菌に感染した時、ミクログリアが損傷を受けた脳の傷害部位へ移動し、損傷を受けた神経細胞を除去するために活躍することがこれまで報告されていた。しかし、放射線により損傷を受けた発達期の脳において、ミクログリア細胞が損傷した神経細胞を除去する詳細な過程はこれまで明らかにされていない。

メダカと同じ小型魚類のモデル生物として多用されているゼブラフィッシュ胚の脳が損傷を受けた時のミクログリア細胞の働きを調べた研究はあるが、ゼブラフィッシュ胚はメダカ胚と比較してその発生が大変早いこと、神経細胞の取り込みから除去に至るミクログリア細胞の一連の過程を詳細に観察することは困難である。そこで本研究では、胚の脳が透明で可視化できるメダカ胚を利用して、放射線被ばくした発達期の脳で誘導された神経細胞の損傷を、ミクログリア細胞が取り込み、それらを消化し除去する一連の過程を明らかにすることを試みた。

2. 研究の目的

本研究では、胚の脳が透明で可視化できるメダカ胚を利用して、放射線被ばくした発達期の脳で誘導された神経細胞の損傷を、ミクログリア細胞が取り込み、それらを消化し除去する一連の過程を観察し、脳全体でのミクログリア細胞の動態を3次元空間的に明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

胚が透明で脳を可視化できるメダカ胚を利用して、中脳視蓋においてミクログリアが放射線損傷によりアポトーシスを起こした神経細胞を取り込み、消化して除去する一連の貪食プロセスを電子顕微鏡による形態的解析から詳細に調べた。さらに ApolipoproteinE (ApoE) プローブによる in situ ハイブリダイゼーションを行い、放射線損傷後の時間経過に伴うミクログリアの分布を3次元立体構築により空間的に明らかにした。

4. 研究成果

ゼブラフィッシュ胚の研究において、脳が損傷した際のミクログリア細胞を調べるの

に利用されてきた ApolipoproteinE (ApoE) タンパク質は、ミクログリア細胞がアポトーシスした神経細胞を取り込み、消化した後のプロセスにおいて重要な機能を有することを新たに見出した。さらに p53 遺伝子が欠損して放射線による神経細胞のアポトーシスが極めて少ないメダカ胚でも、多くのアポトーシスが誘導される野生型メダカ胚とほぼ同数のミクログリアが脳全体で一斉に活性化されることを見出した。この結果は、発達途上にある脳が放射線に被ばくした際、その損傷の程度に関わらず脳中のミクログリアが活性化する機構の存在を強く示唆するものであった。また、貪食が終了した後もしばらくミクログリアの活性化が継続することも示された。

マウスの成熟した脳では、放射線による損傷の程度に比例したミクログリア細胞の活性化が報告されており、本研究成果は、発達途上にある脳が損傷すると成熟した脳の損傷時とは異なるシステムが発動する可能性を示唆するものであった。

このように、メダカ胚は、卵殻と体躯が透明であるので脳内を容易に観察できるうえ、メダカ胚の脳のサイズは哺乳類と比較して大変小さく脳全体を俯瞰的に観察することが可能なモデル生物である。申請者はこれらの利点を活かして神経組織の損傷を除去するミクログリアの一連の応答反応を3次元空間的に明らかにすることに成功した。発達期にある脳が放射線による損傷を受けた後のミクログリア細胞の働きを明らかにすることは、今後、発達期の脳を放射線の損傷から守る放射線防護剤の開発、さらに脳腫瘍などの放射線治療における小児の医療被ばく影響を回避する研究などに役立つことが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

Yasuda T., Oda S., Hibi Y., Satoh S., Nagata K., Hirakawa K., Kutsuna N., Sagara H., Mitani H. Embryonic medaka model of microglia in the developing CNS allowing in vivo analysis of their spatiotemporal recruitment in response to irradiation. Plos one. 10(6): e0127325 (2015). 査読有

Yasuda T., Kimori Y., Nagata K.,

Igarashi K., Watanabe-Asaka T., Oda S. and Mitani H. Irradiation-injured brain tissues can self-renew in the absence of the pivotal tumor suppressor p53 in the medaka (*Oryzias latipes*) embryo. *J. Radiat. Res.* pp. 1-7 doi: 10.1093/jrr/rrv054. (2015). 査読有

〔学会発表〕(計 8件)

2015年度(平成27年度)

2016.2.12-2016.2.13 第6回国際放射線神経生物学会大会 長崎大学良順会館 招待講演 Takako Yasuda: Embryonic medaka model unveiling efficient apoptotic cell clearance by specific microglial recruitment in response to irradiation

2015.12.1-2015.12.4 日本分子生物学会 神戸ポートピアホテル p53 タンパクは胞胚期の細胞損傷を修復し正常な形態形成を進行させるのに必須である:

保田隆子、永田健斗、尾田正二、浅香智美、鈴木芳代、舟山知夫、小林泰彦、三谷啓志

2015.9.17-2015.9.19 日本動物学会第86回大会 新潟朱鷺メッセ メダカ胚網膜をモデルとした脳の層構造が傷害から修復する過程の解明: 保田隆子、平川慶、尾田正二、三谷啓志

2015.5.25-2015.5.29 ICRR 京都国際学会 国立京都国際会館招待講演 Takako Yasuda: Efficient elimination of radiation-induced apoptotic cells by microglia during tissue repair in developing medaka brain

2015.5.25-2015.5.29 ICRR 京都国際学会 国立京都国際会館 ポスター発表: The recovering process of zonal differentiation in brain from radiation injury using a fish retina as a vertebrate brain model; Takako Yasuda, Kei Hirakawa, Shoji Oda, and Hiroshi Mitani

2014年度(平成26年度)

2014.9.30-2014.10.3 日本放射線影響学会第57回大会 鹿児島県民交流センター
メダカ胚を用いた眼で起こる放射線誘発ア

ポトースとそれらの修復: 保田隆子、平川慶、尾田正二、三谷啓志

2014.9.20-2014.9.21 小型魚類研究会 慶応大学薬学部

Medaka blastoderm cells can compensate for the injured cells by carbon-ion micro-beam irradiation; Takako Yasuda, Shoji Oda, Kento Nagata, Tomomi Watanabe-Asaka, Tomoo Funayama, Yuichiro Yokota, Michiyo Suzuki, Hiroko Ikeda, Yasuhiko Kobayashi and Hiroshi Mitani

2013年度(平成25年度)

2015.12.3-2015.12.6 日本分子生物学会 神戸ポートピアホテル
放射線による神経細胞傷害を起こしたメダカ胚の脳内で観察される ApoE 遺伝子発現細胞の挙動: 保田隆子、佐藤聡海、朽名夏麿、尾田正二、三谷啓志

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

東 京 大 学 HP:
http://www.k.u-tokyo.ac.jp/info/entry/22_entry407/

日経サイエンス電子版:
<http://release.nikkei.co.jp/detail.cfm?relID=388801&lindID=5>

放射線影響学会女性科学者顕彰岩崎賞受賞

6. 研究組織

(1)研究代表者

保田隆子 (Takako Yasuda)
東京大学新領域創成科学研究科
特任研究員
研究者番号: 40450431

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者

尾田正二 (Shoji Oda)
東京大学新領域創成科学研究科
准教授
研究者番号: 50266714

舟山 知夫 (Tomoo Funayama)
量子科学技術研究開発機構 量子ビーム科学
研究部門
主任研究員
研究者番号 : 40354956

朽名 夏磨 (Natsumaro Kutsuna)
東京大学新領域創成科学研究科
特任准教授
研究者番号 : 70578559