

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14823

研究課題名（和文）ミクログリアによる死細胞の貪食が促進する感覚入力依存的ニューロン再生

研究課題名（英文）Role of microglial phagocytosis of dead cells in neurogenesis in the adult brain

研究代表者

澤田 雅人（Sawada, Masato）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：20645288

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）：(1)ニューロン再生が生じる微小環境および嗅覚入力の役割：嗅球ミクログリアの微細形態やその貪食嚢、死んだニューロン及び周囲の微小環境を明らかにした。(2)ミクログリアの貪食の動態及びニューロン再生における役割：嗅球ミクログリアの動態および新生ニューロンとの相互作用を明らかにした。さらに、新生ニューロンの成熟過程とミクログリアによる死細胞貪食の関係を示唆する手がかりを得た。(3)ニューロン再生制御機構：機能障害実験等により、嗅球におけるニューロン再生制御機構の一端を明らかにした。(4)嗅覚機能：匂いの嗅ぎ分けや記憶などの嗅覚機能を評価した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成体嗅球では、感覚入力依存的にニューロンがターンオーバーすることが分かっていたが、その制御機構については不明であった。本研究で得られた結果は、成体嗅球において、ニューロンのターンオーバーによるダイナミックな神経回路再編成の新たなしくみを明らかにしたものであり、感覚入力依存的な可塑性の重要な知見となる。

研究成果の概要（英文）：In the adult olfactory bulb, olfactory interneurons are constantly replaced throughout life. However, the cellular and molecular mechanisms for neuronal turnover in the adult olfactory bulb remain largely unknown. We have studied 1) the ultrastructural features of dead cells and microglia in the adult olfactory bulb, 2) the dynamics of microglia-new neuron interaction in vivo, 3) the molecular mechanisms for survival and differentiation processes of new neurons in the adult olfactory bulb, and 4) olfactory behaviors.

研究分野：神経発生・再生医学

キーワード：成体脳のニューロン新生 嗅球 脳室下帯 ニューロン再生 ミクログリア

## 1. 研究開始当初の背景

感覚入力依存的な可塑性は、成体脳のもっとも重要な機能の1つである。脳のほとんどの領域とは異なり、嗅覚の一次中枢である嗅球では、ニューロンを入れ替えることによるダイナミックな神経回路の再編成が生じている。

嗅球では、脳室下帯に存在する神経幹細胞から生涯にわたって新生ニューロンが供給される一方、古いニューロンは細胞死によって除去されている。近年の研究では、新生ニューロンが匂いの嗅ぎ分けを始めとする様々な嗅覚機能に重要な役割を果たすことが報告されている。したがって、嗅球においては、ニューロンが再生することによる細胞レベルでの神経回路の再編成が、嗅覚機能の発現基盤になると考えられている。しかし、ニューロンの再生を制御するメカニズムについては十分に研究されていない。

応募者はこれまでに、脳室下帯で産生された新生ニューロンの移動・成熟メカニズム及び嗅覚入力役割を研究してきた (Nat Commun 2014; EMBO J 2018; J Neurosci 2011, 2018, 2019; PLoS One 2012 など)。特に、2光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンの長期 in vivo イメージング法を確立し、ニューロンが細胞死によって除去され、同じ場所に同じ種類の新生ニューロンが組み込まれるという感覚入力依存的なニューロン再生メカニズムを明らかにした (J Neurosci 2011)。さらに最近、嗅球でミクログリアが死んだ細胞を貪食によって除去することを示唆するデータを得た。これらの結果から、ミクログリアによる死んだニューロンの貪食が新生ニューロンの再生を調節する可能性が考えられる。しかし、そのメカニズムの全貌は不明である。

## 2. 研究の目的

本研究では、成体嗅球のニューロン再生において、ミクログリアによる死んだニューロンの貪食が果たす役割を明らかにすることを目的とする。これまでに、脳傷害後の固定組織を用いてミクログリアによる死細胞の貪食を評価する研究が数多く報告されているが、正常脳におけるミクログリアによる死細胞貪食の動態及びその役割はほとんど分かっていない。固定組織や in vivo イメージング等を用いて、ミクログリアによる死細胞貪食の生物学的意義を多角的に解析する。

## 3. 研究の方法

- 1) ニューロン再生が生じる微小環境および嗅覚入力役割: ミクログリアの微細形態を解析するために、電子顕微鏡を用いた。嗅覚入力の遮断および刺激には、研究代表者がすでに確立した手法を用いた (J Neurosci 2011; PLoS One 2012)。
- 2) ミクログリアの貪食の動態及びニューロンとの関係: ミクログリアの動態を解析するために、二光子顕微鏡を用いた in vivo イメージングを用いた。また、ミクログリアの貪食とニューロン再生の関係を組織学的に解析した。
- 3) ニューロン再生制御機構: レンチウイルスベクターを用いた in vivo 機能阻害実験もしくは in vitro における分子機構解析実験等を行った。
- 4) 嗅覚機能: 嗅覚機能を評価するために、応募者がすでに確立した嗅覚行動実験手法 (PLoS One 2012; EMBO J 2018) を用いた。

## 4. 研究成果

- 1) ニューロン再生が生じる微小環境および嗅覚入力役割 (H30年度): 電子顕微鏡を用いて、

嗅球ミクログリアの微細形態やその貪食嚢、死んだニューロン及び周囲の微小環境を明らかにした。また、嗅覚入力がミクログリアに与える影響を明らかにした。

- 2) ミクログリアの貪食の動態及びニューロン再生における役割 (H30・R1・R2年度): 二光子イメージングを用いて、嗅球ミクログリアの動態および新生ニューロンとの相互作用について定量的に解析した。さらに、新生ニューロンを標識するためにマウスに BrdU を投与し、新生ニューロンの成熟過程とミクログリアによる死細胞貪食の関係を示唆する手がかりを得た。
- 3) ニューロン再生制御機構 (R1・R2年度): 制御候補因子についての *in vivo* および *in vitro* における機能阻害実験等を実施した結果、嗅球におけるニューロン再生制御機構の一端を明らかにした。
- 4) 嗅覚機能 (R1・R2年度): 成体マウスを用いた嗅覚行動実験手法により、匂いの嗅ぎ分けや記憶などの嗅覚機能を評価した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsumoto M, Sawada M, Garcia-Gonzalez D, Herranz-Perez V, Ogino T, Bang Nguyen H, Quynh Thai T, Narita K, Kumamoto N, Ugawa S, Saito Y, Takeda S, Kaneko N, Khodosevich K, Monyer H, Manuel Garcia-Verdugo J, Ohno N, Sawamoto K	4. 巻 39
2. 論文標題 Dynamic changes in ultrastructure of the primary cilium in migrating neuroblasts in the postnatal brain.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 9967-9988
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1503-19.2019	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 澤田雅人、澤本和延	4. 巻 91
2. 論文標題 生後脳におけるニューロン移動の調節機構	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 178-190
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 -
1. 著者名 Sawada Masato, Matsumoto Mami, Narita Keishi, Kumamoto Natsuko, Ugawa Shinya, Takeda Sen, Sawamoto Kazunobu	4. 巻 10
2. 論文標題 In vitro Time-lapse Imaging of Primary Cilium in Migrating Neuroblasts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.3823	査読の有無 無
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 Nakajima Chikako, Sawada Masato, Sawamoto Kazunobu	4. 巻 66
2. 論文標題 Postnatal neuronal migration in health and disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Neurobiology	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.conb.2020.06.001	査読の有無 無
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6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 澤田雅人
2. 発表標題 基礎研究者が患者として経験した 新生児脳疾患医療から得たもの
3. 学会等名 第61回 日本小児神経学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masato Sawada, Kazunobu Sawamoto
2. 発表標題 Mechanisms for proper migration and positioning of newborn neurons in the postnatal brain circuits.
3. 学会等名 The 21st Annual Meeting of the Korean Society for Brain and Neural Sciences（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuri Ishido, Masato Sawada, Chihiro Kurematsu, Hisashi Oishi, Masaki Ohmuraya, Shigekazu Nagata, Kenichi Asano, Masato Tanaka, Kazunobu Sawamoto
2. 発表標題 Microglial phagocytosis of dying neurons maintains neuronal turnover in the adult olfactory bulb
3. 学会等名 The 63rd Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Masato Sawada, Kazunobu Sawamoto	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 618
3. 書名 Neuronal migration in the postnatal brain. In: Rubenstein J et al (eds.) Comprehensive Developmental Neuroscience: Cellular migration and formation of axons and dendrites. (Second edition)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

澤本和延研究室ホームページ  
http://k-sawamoto.com

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			