

---

グリアアSEMBリによる脳機能発現の制御と病態

---

領域番号 3507

平成 25 年度～平成 29 年度

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）

（新学術領域研究（研究領域提案型））

研究成果報告書

令和元年 6 月

領域代表者 池中 一裕

生理学研究所・分子細胞生理研究領域・教授

竹林 浩秀

新潟大学大学院医歯学総合研究科・教授

## 研究組織

### 計画研究

領域代表者 池中 一裕 (生理学研究所・教授)

(総括班)

研究代表者 池中 一裕 (生理学研究所・教授)

(国際活動支援班)

研究代表者 池中 一裕

(計画研究 A01 班 グリアアセンブリによる脳機能制御)

- ・カルシウムシグナルの可視化と制御によるグリアアセンブリ動態の解明

代表：飯野正光 (日本大学・医)

分担：金丸和典 (東京大学・医)

- ・グリアアセンブリ動作原理の解明

代表：小泉修一 (山梨大学・総合研究部)

分担：伊藤啓 (東京大学・分子細胞生物学研究所)、栗崎健 (杏林大学・医)

- ・アストロサイトによる神経同期活動の制御とその機能の解明

代表：大木研一 (東京大学・医)

- ・オリゴデンドロサイトを介した神経軸索間情報伝達機構の解明

代表：池中一裕 (生理学研究所)

(計画研究 A02 班 グリアアセンブリによる脳機能成熟)

- ・グリアアセンブリによるシナプスリモデリングの制御機構

代表：岡部繁男 (東京大学・医)

分担：橋本浩一 (広島大学・医)

- ・オリゴデンドロサイト前駆細胞と神経回路の機能的相互作用

代表：竹林浩秀 (新潟大学・医歯学)

分担：榎戸靖 (愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所)

- ・神経回路の機能的成熟に与るニューロン・グリア相関ダイナミズムの時空間解析

代表：福山秀直 (京都大学・医)

分担：植木孝俊 (名古屋市立大学・医)、岡戸晴生 (東京都医学総合研究所)

植木美乃 (名古屋市立大学・医)

- ・ニューロン・ミクログリア相関による機能的神経回路形成の分子基盤の解明

代表：高坂新一（国立精神・神経センター・神経研）

分担：一戸紀孝（同）、内野茂夫（帝京大学・理工）

（計画研究 A03 班 グリア病：グリアアセンブリ破綻による精神・神経疾患）

- ・白質・ミエリン障害を病因とする統合失調症サブグループの同定

代表：尾崎紀夫（名古屋大学・医）

- ・統合失調症におけるミクログリア制御異常による白質・シナプス伝達障害の機構解明

代表：神庭重信（九州大学・医）

- ・脱髄性疾患・統合失調症における白質グリア障害の機構解明と画期的治療法の開発

代表：吉良潤一（九州大学・医）

分担：松下拓也（同）、山崎亮（同）、松瀬大（同）、真崎勝久（同）

- ・脳内ミクログリアによるシナプス制御機構と慢性疼痛

代表：井上和秀（九州大学・薬）

分担：齊藤秀俊（同）、津田誠（同）、増田隆博（同）

公募研究（前期：26-27 年、後期：28 年-29 年）

（公募研究 A01 班 グリアアセンブリによる脳機能制御）

- ・柴崎貢志（群馬大学・医）興奮を惹起する新規 Focal spot グリアアセンブリの解析（前）
- ・尾藤晴彦（東京大学・医）新規カルシウムプローブを用いたグリアと神経細胞の同時活動可視化（前）
- ・坂内博子（名古屋大学・理）グリア細胞カルシウムシグナルの進化的意義の解明（前）
- ・匂坂敏朗（神戸大学・医）細胞膜輸送と細胞骨格再構築によるミエリン形成機構（前）
- ・日浅未来（岡山大学・医歯学総合）新規小房型 D セリントランスポーターの同定とその化学伝達における生理的意義の解明（前）
- ・掛川渉（慶應大学・医）D-セリナーデルタ受容体シグナリングを介する新規グリアーニューロン相互作用の解明（前）
- ・宮田信吾（近畿大学・東洋医学研究所）髄鞘による軸索機能制御に関わる細胞内・細胞間情報伝達機構の解明（前）
- ・平瀬肇（理研・脳科学）生体内で起こる皮質回路シナプス可塑性におけるアストロサイトの役割（前）
- ・松井広（東北大学・生命科学）光操作技術を用いた記憶定着におけるアストロサイトの役割の解明（後）
- ・尾藤晴彦（東京大学・医）多色カルシウム指示遺伝子を用いたグリア・神経細胞活動相関の可視化（後）
- ・森郁恵（名古屋大学・理）グリア細胞による神経細胞・回路の機能制御
- ・木下専（名古屋大学・理）放射状グリア突起内 CDC42EP4 セプチン複合体の生理機能と凝集体残留機構の解析（後）
- ・上野太郎（東邦大学・理）グリア細胞による睡眠覚醒および体内時計の制御機能の解明（後）

(公募研究 A02 班 グリアアセンブリによる脳機能成熟)

- ・今吉格 (京都大学・白眉センター) 新規光遺伝子を用いたオリゴデンドロサイト前駆細胞の分化制御と再生医療への応用 (前)
- ・馬場広子 (東京薬科大学・薬) 神経回路発達におけるミクログリアの機能解明 (前)
- ・小山隆太 (東京大学・薬) 自閉症におけるミクログリア依存的シナプス除去機構の破綻と BDNF による回復 (後)
- ・大海雄介 (中部大学・生命健康科学) グリアネットワークにおける細胞膜マイクロドメインの役割 (後)
- ・今井啓雄 (京都大学・霊長類研) ターゲット遺伝子法によるグリアネットモデルサルの同定と繁殖の試み (後)
- ・竹居光太郎 (横浜市立大学・生命医科学) 神経細胞とオリゴデンドロサイト間の相互作用制御による軸索伸長機構の解明 (後)
- ・和氣弘明 (神戸大学・医) ミクログリアによるシナプス活動修飾と神経回路の空間的活動制御 (後)

(公募研究 A03 班 グリア病：グリアアセンブリ破綻による精神・神経疾患)

- ・松井広 (東北大学・医) グリア光操作による虚血性脳障害回避法の開発 (前)
- ・小山隆太 (東京大学・薬) 自閉症におけるミクログリア依存的シナプス除去機構の破綻と BDNF による回復 (前)
- ・池内健 (新潟大学・脳研) 一次性ミクログリア病：CSF-1R 変異関連 HDLS におけるミクログリアの機能異常 (前)
- ・宝田剛志 (金沢大学・医薬保健総合) 体内時計によるグリアネットワーク調節に注目した「精神-疼痛」関連メカニズムの解明 (前)
- ・今井啓雄 (京都大学・霊長類研) ターゲット遺伝子法によるグリアネットモデルサルの同定と繁殖の試み (前)
- ・安井正人 (慶應大学・医) 脊髄および後根神経節グリアにおけるアクアポリン 4 の役割と神経性疼痛の病態生理 (前)
- ・池田匡志 (藤田保健衛生大学・医) 全ゲノム SNP データを基盤としたグリア遺伝子と統合失調症の関連解析 (前)
- ・北爪しのぶ (理化学研究所) 脳特異的な分岐型 O マンノース糖鎖がグリアアセンブリに果たす役割 (前)
- ・山内淳司 (国立成育医療研究センター) 脱ミエリン病で特異的に活性化される分子経路を抑制することで、病態を改善する試み (前)
- ・立川正憲 (東北大学・薬) てんかん病態における脳血管-アストロサイト機能関連 (後)
- ・池内健 (新潟大学・脳研) CSF-1 受容体異常によるミクログリア機能破綻と一次性ミクログリア病の病態 (後)
- ・宝田剛志 (岡山大学・医歯薬学総合) 体内時計制御グリアネットワークによる「精神-疼痛」関連メカニズムの解明 (後)

- ・山中宏二（名古屋大学・環境医学研究所）グリア・末梢免疫関連の制御を通じた神経変性機序の解明と治療標的の同定（後）
- ・中西博（九州大学・歯）ミクログリアのナイトライフの解析から捉える概日リズム障害発症メカニズム（後）
- ・西山正章（金沢大学・医薬保健）新規自閉症モデルマウスにおけるグリア機能制御の解明と治療への応用（後）
- ・宮田麻理子（東京女子医科大学・医）神経損傷によって誘導される上位中枢神経回路の改編におけるミクログリアの制御機構
- ・貫名信行（同志社大学・脳科学）無髄神経におけるオリゴデンドログリアアセンブリの解析（後）

### 交付決定額（配分額）

		H25	H26	H27	H28	H29	H30 (終了領域)	合計
総括班 25117001	直接経費	54,400,000	8,600,000	10,500,000	8,600,000	10,500,000	0	92,600,000
	間接経費	16,320,000	2,580,000	3,150,000	2,580,000	3,150,000	0	27,780,000
	合計	70,720,000	11,180,000	13,650,000	11,180,000	13,650,000	0	120,380,000
計画班 25117005	直接経費	19,900,000	23,200,000	22,400,000	21,100,000	21,000,000	0	107,600,000
	間接経費	5,970,000	6,960,000	6,720,000	6,330,000	6,300,000	0	32,280,000
	合計	25,870,000	30,160,000	29,120,000	27,430,000	27,300,000	0	139,880,000
国際活動支援班 15K21729	直接経費	0	0	7,600,000	9,800,000	10,300,000	0	27,700,000
	間接経費	0	0	2,280,000	2,940,000	3,090,000	0	8,310,000
	合計	0	0	9,880,000	12,740,000	13,390,000	0	36,010,000
終了領域 18H05199	直接経費	0	0	0	0	0	1,914,685	1,914,685
	間接経費	0	0	0	0	0	774,000	774,000
	合計	0	0	0	0	0	2,688,685	2,688,685

### 研究発表

- ・主な論文

#### A01: 計画研究

1. Shigetomi E, Hirayama Y, Ikenaka K, Tanaka KF, \*Koizumi S. (2018) Role of Purinergic Receptor P2Y1 in spatiotemporal Ca<sup>2+</sup> dynamics in astrocytes. **J Neurosci** 38: 1383-1395. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2625-17.2017. (査読有)
2. Shimizu T, Wisessmith W, Li J, Abe M, Sakimura K, Chetsawang B, Sahara Y, Tohyama K, Tanaka KF, \*Ikenaka K. (2017) The balance between cathepsin C and cystatin F controls remyelination in the brain of Plp1-overexpressing mouse, a chronic demyelinating disease model. **GLIA** 65: 917-930. doi: 10.1002/glia.23134. (査読有)
3. \*Shimizu T, Osanai Y, Tanaka KF, Abe M, Natsume R, Sakimura K, Ikenaka K. (2017) YAP functions as a mechanotransducer in oligodendrocyte morphogenesis and maturation. **GLIA** 65: 360-374. doi: 10.1002/glia.23096. (査読有)
4. Osanai Y, \*Shimizu T, Mori T, Yoshimura Y, Hatanaka N, Nambu A, Kimori Y, Koyama S, Kobayashi K, Ikenaka K. (2017) Rabies virus-mediated oligodendrocyte labeling reveals a single oligodendrocyte myelinates axons from distinct brain regions. **GLIA** 65: 93-105. doi: 10.1002/glia.23076. (査読有)
5. Tsutsui-Kimura I, Takiue H, Yoshida K, Xu M, Yano R, Ohta H, Nishida H, Bouchekioua Y, Okano H, Uchigashima M, Watanabe M, Takata N, Drew MR, Sano H, Mimura M, \*Tanaka KF. (2017) Dysfunction of ventrolateral striatal dopamine receptor type 2-expressing medium spiny neurons impairs instrumental

motivation. **Nat Commun** 8: 14304. doi: 10.1038/ncomms14304. (査読有)

6. Morizawa Y, Hirayama Y, Ohno N, Shibata S, Shigetomi E, Sui Y, Nabekura J, Sato K, Okajima F, Takebayashi H, Okano H, \*Koizumi S. (2017) Reactive astrocytes function as phagocytes after brain ischemia via ABCA1-mediated pathway. **Nat Commun** 8: 28. doi: 10.1038/s41467-017-00037-1. (査読有)
7. Murakami T, Matsui T, \*Ohki K. (2017) Functional Segregation and Development of Mouse Higher Visual Areas. **J Neurosci** 37: 9424-9437. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0731-17.2017. (査読有)
8. Kondo S, Yoshida T, \*Ohki K. (2016) Mixed functional microarchitectures for orientation selectivity in the mouse primary visual cortex. **Nat Commun** 7: 13210. doi: 10.1038/ncomms13210. (査読有)
9. Kondo S, \*Ohki K. (2016) Laminar differences in the orientation selectivity of geniculate afferents in mouse primary visual cortex. **Nat Neurosci** 19: 316-319. doi: 10.1038/nn.4215. (査読有)
10. Shimizu T, Smits R, \*Ikenaka K. (2016) Microglia-induced activation of non-canonical Wnt signaling aggravates neurodegeneration in demyelinating disorders. **Mol Cell Biol** 36: 2728-2741. doi: 10.1128/MCB.00139-16. (査読有)
11. Hagihara KM, Murakami T, Yoshida T, \*Tagawa Y, \*Ohki K. (2015) Neuronal activity is not required for the initial formation and maturation of visual selectivity. **Nat Neurosci** 18: 1780-1788. doi: 10.1038/nn.4155. (査読有)
12. Kanemaru K, Sekiya H, Xu M, Satoh K, Kitajima N, Yoshida K, Okubo Y, Sasaki T, Moritoh S, Hasuwa H, Mimura M, Horikawa K, Matsui K, Nagai T, \*Iino M, \*Tanaka KF. (2014) In vivo visualization of subtle, transient, and local activity of astrocytes using an ultrasensitive Ca<sup>2+</sup> indicator. **Cell Rep** 10: 311-318. doi: 10.1016/j.celrep.2014.05.056. (査読有)
13. Suzuki J, Kanemaru K, Ishii K, Ohkura M, Okubo Y, \*Iino M. (2014) Imaging intraorganellar Ca<sup>2+</sup> at subcellular resolution using CEPIA. **Nat Commun** 5: 4153. doi: 10.1038/ncomms5153. (査読有)
14. Awasaki T, Kao CF, Lee YJ, Yang CP, Huang Y, Pfeiffer BD, Luan H, Jing X, Huang YF, He Y, Schroeder MD, Kuzin A, Brody T, Zugates CT, Odenwald WF, \*Lee T. (2014) Making Drosophila lineage-restricted drivers via patterned recombination in neuroblasts. **Nat Neurosci** 17: 631-637. doi: 10.1038/nn.3654. (査読有)
15. \*Yamazaki Y, Fujiwara H, Kaneko K, Hozumi Y, Xu M, Ikenaka K, Fujii S, Tanaka KF. (2014) Short- and long-term functional plasticity of white matter induced by oligodendrocyte depolarization in the hippocampus. **GLIA** 62: 1299-1312. doi: 10.1002/glia.22681. (査読有)
16. Kanemaru K, Kubota J, Sekiya H, Hirose K, Okubo Y, \*Iino M. (2013) Calcium-dependent N-cadherin up-regulation mediates reactive astrogliosis and neuroprotection after brain injury. **Proc Natl Acad Sci U S A** 110: 11612-11617. doi: 10.1073/pnas.1300378110. (査読有)

#### A01: 公募研究

17. Monai H, Ohkura M, Tanaka M, Oe Y, Konno A, Hirai H, Mikoshiba K, Itohara S, Nakai J, Iwai Y, \*Hirase H. (2016) Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain. **Nat Commun** 7: 11100. doi: 10.1038/ncomms11100. (査読有)
18. Inoue M, Takeuchi A, Horigane S, Ohkura M, Gengyo-Ando K, Fujii H, Kamijo S, Takemoto-Kimura S, Kano M, \*Nakai J, \*Kitamura K, \*Bito H. (2015) Rational design of a high-affinity, fast, red calcium indicator R-CaMP2. **Nat Methods** 12: 64-70. doi: 10.1038/nmeth.3185. (査読有)
19. Bannai H, Niwa F, Sherwood MW, Shrivastava AN, Arizono M, Miyamoto A, Sugiura K, Lévi S, \*Triller A, \*Mikoshiba K. (2015) Bidirectional Control of Synaptic GABAAR Clustering by Glutamate and Calcium. **Cell Rep** 13: 2768-2780. doi: 10.1016/j.celrep.2015.12.002. (査読有)

#### A02: 計画研究

20. Higashi T, Tanaka S, Iida T, \*Okabe S. (2018) Synapse Elimination Triggered by BMP4 Exocytosis and Presynaptic BMP Receptor Activation. **Cell Rep** 22: 919-929. doi: 10.1016/j.celrep.2017.12.101. (査読有)

21. Morimoto M, Tanaka S, Mizutani S, Urata S, Kobayashi K, \*Okabe S. (2018) In vivo observation of structural changes in neocortical catecholaminergic projections in response to drugs of abuse. **eNeuro** 5: e0071-17. doi: 10.1523/ENEURO.0071-17.2018. (査読有)
22. Hossain MI, Horie M, \*Takebayashi H. (2018) Reduced proliferation of oligodendrocyte progenitor cells in the postnatal brain of dystonia musculorum mice. **Neurochem Res** 43: 92-100. doi: 10.1007/s11064-017-2342-5. (査読有)
23. Koeberle SC, Tanaka S, Kuriu T, Iwasaki H, Koeberle A, Schulz A, Helbing D, Yamagata Y, Morrison H, \*Okabe S. (2017) Developmental stage-dependent regulation of spine formation by calcium-calmodulin dependent protein kinase II $\alpha$  and Rap1. **Sci Rep** 7: 13409. doi: 10.1038/s41598-017-13728-y. (査読有)
24. Miyazaki J, Tadatsune I, Tanaka S, Hayashi-Takagi A, Kasai H, Okabe S, \*Kobayashi T. (2016) Fast 3D visualization of endogenous brain signals with high-sensitivity laser scanning photothermal microscopy. **Biomedical Optics Express** 7: 1702-1710. doi: 10.1364/BOE.7.001702. (査読有)
25. Inoue K, Sakuma E, Morimoto H, Asai H, Koide Y, Leng T, Wada I, Xiong ZG, \*Ueki T. (2016) Serum- and glucocorticoid-inducible kinases in microglia. **Biochem Biophys Res Commun** 478: 53-59. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.07.094. (査読有)
26. Horie M, Mekada K, Sano H, Kikkawa Y, Chiken S, Someya T, Saito K, Hossain MD, Nameta M, Abe K, Sakimura K, Ono K, Nambu A, Yoshiki A, \*Takebayashi H. (2016) Characterization of novel dystonia musculorum mutant mice: implications for central nervous system abnormality. **Neurobiol Dis** 96: 271-283. doi: 10.1016/j.nbd.2016.09.016. (査読有)
27. Ageta-Ishihara N, Yamazaki M, Konno K, Nakayama H, Abe M, Hashimoto K, Nishioka T, Kaibuchi K, Hattori S, Miyakawa T, Tanaka K, Huda F, Hirai H, Hashimoto K, Watanabe M, Sakimura K, \*Kinoshita M. (2015) A CDC42EP4/septin-based perisynaptic glial scaffold facilitates glutamate clearance. **Nat Commun** 6: 10090. doi: 10.1038/ncomms10090. (査読有)
28. Chen S, Weitemier AZ, Zeng X, He L, Wang X, Tao Y, Huang AJY, Hashimoto Y, Kano M, Iwasaki H, Parajuli LK, Okabe S, Teh DBL, All AH, Tsutsui-Kimura I, Tanaka KF, Liu X, \*McHugh TJ. (2018) Near-infrared deep brain stimulation via upconversion nanoparticle-mediated optogenetics. **Science** 359: 679-684. doi: 10.1126/science.aag1144. (査読有)
29. Isshiki M, Tanaka S, Kuriu T, Tabuchi K, Takumi T, \*Okabe S. (2014) Enhanced synapse remodelling as a common phenotype in mouse models of autism. **Nat Commun** 5: 4742. doi: 10.1038/ncomms5742. (査読有)
30. Piochon C, Kloth AD, Grasselli G, Titley HK, Nakayama H, Hashimoto K, Wan V, Simmons DH, Eissa T, Nakatani J, Cherskov A, Miyazaki T, Watanabe M, Takumi T, Kano M, Wang SS, \*Hansel C. (2014) Cerebellar plasticity and motor learning deficits in a copy-number variation mouse model of autism. **Nat Commun** 5: 5586. doi: 10.1038/ncomms6586. (査読有)
31. Shin E, Kashiwagi Y, Kuriu T, Iwasaki H, Tanaka T, Koizumi H, Gleeson JG, \*Okabe S. (2013) Doublecortin-like kinase enhances dendritic remodeling and negatively regulates synapse maturation. **Nat Commun** 4: 1440. doi: 10.1038/ncomms2443. (査読有)
32. Kawamura Y, Nakayama H, Hashimoto K, Sakimura K, Kitamura K, \*Kano M. (2013) Spike timing-dependent selective strengthening of single climbing fibre inputs to Purkinje cells during cerebellar development. **Nat Commun** 4: 2732. doi: 10.1038/ncomms3732. (査読有)
33. Horie M, Watanabe K, Bepari A K, Nashimoto J, Araki K, Sano H, Chiken S, Nambu A, Ono K, Ikenaka K, Kakita A, Yamamura K, \*Takebayashi H. (2014) Disruption of actin-binding domain-containing dystonin protein causes dystonia musculorum in mice. **Eur J Neurosci** 40: 3458-3471. doi: 10.1111/ejn.12711. (査読有)

#### A02: 公募研究

34. Kawakami Y, Kurihara Y, Saito Y, Fujita Y, Yamashita T, \*Takei K. (2018) The soluble form of LOTUS inhibits Nogo receptor-mediated signaling by interfering with the interaction between Nogo receptor type 1

and p75 neurotrophin receptor. **J Neurosci** 38: 2589-2604. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0953-17.2018. (査読有)

35. Kato D, Eto K, Nabekura J, \*Wake H. (2018) Activity-dependent functions of non-electrical glial cells. **J Biochem** 163:457-464. doi: 10.1093/jb/mvy023. (査読有)
36. Katayama K, Nonaka Y, Tsutsui K, Imai H, \*Kandori H. (2017) Spectral Tuning Mechanism of Primate Blue-Sensitive Visual Pigment Elucidated by FTIR Spectroscopy. **Sci Rep** 7: 4904. doi: 10.1038/s41598-017-05177-4. (査読有)
37. Hirokawa T, Zou Y, Kurihara Y, Jiang Z, Sakakibara Y, Ito H, Funakoshi K, Kawahara N, Goshima Y, Strittmatter SM, \*Takei K. (2017) Regulation of axonal regeneration by the level of function of endogenous Nogo receptor antagonist LOTUS. **Sci Rep** 7: 12119. doi: 10.1038/s41598-017-12449-6. (査読有)
38. Chiba T, Otani Y, Yamaguchi Y, Ishibashi T, Hayashi A, Tanaka KF, Yamazaki M, Sakimura K, \*Baba H. (2016) Microglial phospholipase D4 deficiency influences myelination during brain development. **Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci** 92: 237-254. doi: 10.2183/pjab.92.237. (査読有)
39. Luo C, \*Koyama R, Ikegaya Y. (2016) Microglia engulf viable newborn cells in the epileptic dentate gyrus. **GLIA** 64: 1508-1517. doi: 10.1002/glia.23018. (査読有)
40. Miyamoto A, Wake H, Ishikawa AW, Eto K, Shibata K, Murakoshi H, Koizumi S, Moorhouse AJ, Yoshimura Y, \*Nabekura J. (2016) Microglia contact induces synapse formation in developing somatosensory cortex. **Nat Commun** 7: 12540. doi: 10.1038/ncomms12540. (査読有)

### A03: 計画研究

41. Li G, Yamasaki R, Fang M, Masaki K, Ochi H, Matsushita T, \*Kira JI. (2018) Novel disease-modifying anti-rheumatic drug iguratimod suppresses chronic experimental autoimmune encephalomyelitis by down-regulating activation of macrophages/microglia through an NF- $\kappa$ B pathway. **Sci Rep** 8: 1933. doi: 10.1038/s41598-018-20390-5. (査読有)
42. \*Inoue K, \*Tsuda M. (2018) Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential. **Nat Rev Neurosci** 19: 138-152. doi: 10.1038/nrn.2018.2. (査読有)
43. Kimura H, \*Kushima I, Yohimi A, Aleksic B, Ozaki N. (2018) Copy number variant in the region of adenosine kinase (ADK) and its possible contribution to schizophrenia susceptibility. **Int J Neuropsychopharmacol** 21: 405-409. doi: 10.1093/ijnp/pyx103. (査読有)
44. Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Shiino T, Yoshimi A, Kimura H, Takasaki Y, Wang C, Xing J, Ishizuka K, Oya-Ito T, Nakamura Y, Arioka Y, Maeda T, Yamamoto M, Yoshida M, Noma H, Hamada S, Morikawa M, Uno Y, Okada T, Iidaka T, Iritani S, Yamamoto T, Miyashita M, Kobori A, Arai M, Itokawa M, Cheng MC, Chuang YA, Chen CH, Suzuki M, Takahashi T, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Watanabe Y, Nunokawa A, Someya T, Ikeda M, Toyota T, Yoshikawa T, Numata S, Ohmori T, Kunimoto S, Mori D, Iwata N, \*Ozaki N. (2017) High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. **Mol Psychiatry** 22: 430-440. doi: 10.1038/mp.2016.88. (査読有)
45. Sagata N, \*Kato TA, Kano S-I, Ohgidani M, Shimokawa N, Sato-Kasai M, Hayakawa K, Kuwano N, Wilson W, Ishizuka K, Kato S, Nakahara T, Kido-Nakahara M, Sakai Y, Setoyama D, Ohga S, Furue M, Sawa A, Kanba S. (2017) Dysregulated gene expressions of MEX3D, FOS and BCL2 in human induced-neuronal (iN) cells from NF1 patients: a pilot study. **Sci Rep** 7: 13905. doi: 10.1038/s41598-017-14440-7. (査読有)
46. Ohgidani M, \*Kato TA, Haraguchi Y, Matsushima T, Mizoguchi Y, Murakawa-Hirachi T, Sagata N, Monji A, Kanba S. (2017) Microglial CD206 gene has potential as a state marker of bipolar disorder. **Front Immunol** 7: 676. doi: 10.3389/fimmu.2016.00676. (査読有)
47. Kimura H, Fujita Y, Kawabata T, Ishizuka K, Wang C, Iwayama Y, Okahisa Y, Kushima I, Morikawa M, Uno Y, Okada T, Ikeda M, Inada T, \*Aleksic B, Mori D, Yoshikawa T, Iwata N, Nakamura H, Yamashita T, Ozaki N. (2017) A novel rare variant R292H in RTN4R affects growth cone formation and possibly



contributes to schizophrenia susceptibility. **Transl Psychiatry** 7: e1214. doi: 10.1038/tp.2017.170. (査読有)

48. Ishizuka K, Fujita Y, Kawabata T, Kimura H, Iwayama Y, Inada T, Okahisa Y, Egawa J, Usami M, Kushima I, Uno Y, Okada T, Ikeda M, \*Aleksic B, Mori D, Someya T, Yoshikawa T, Iwata N, Nakamura H, Yamashita T, Ozaki N. (2017) Rare genetic variants in CX3CR1 and their contribution to the increased risk of schizophrenia and autism spectrum disorders. **Transl Psychiatry** 7: e1184. doi: 10.1038/tp.2017.173. (査読有)
49. Masuda T, Ozono Y, Mikuriya S, Kohro Y, Tozaki-Saitoh H, Iwatsuki K, Uneyama H, Ichikawa R, Salter MW, \*Tsuda M, \*Inoue K. (2016) Dorsal horn neurons release extracellular ATP in a VNUT-dependent manner that underlies neuropathic pain. **Nat Commun** 7: 12529. doi: 10.1038/ncomms12529. (査読有)
50. Yamasaki R, Fujii T, Wang B, Masaki K, Kido MA, Yoshida M, Matsushita T, \*Kira J. (2016) Allergic Inflammation Leads to Neuropathic Pain via Glial Cell Activation. **J Neurosci** 36: 11929-11945. (査読有)
51. Shiratori-Hayashi M, Koga K, Tozaki-Saitoh H, Kohro Y, Toyonaga H, Yamaguchi C, Hasegawa A, Nakahara T, Hachisuka J, Akira S, Okano H, Furue M, Inoue K, \*Tsuda M. (2015) STAT3-dependent reactive astrogliosis in the spinal dorsal horn underlies chronic itch. **Nat Med** 21: 927-931. doi: 10.1038/nm.3912. (査読有)
52. Kohro Y, Sakaguchi E, Tashima R, Tozaki-Saitoh H, Okano H, \*Inoue K, \*Tsuda M. (2015) A new minimally-invasive method for microinjection into the mouse spinal dorsal horn. **Sci Rep** 5: 14306. doi: 10.1038/srep14306. (査読有)
53. Masuda T, Iwamoto S, Yoshinaga R, Tozaki-Saitoh H, Nishiyama A, Mak TW, Tamura T, \*Tsuda M, \*Inoue K. (2014) Transcription factor IRF5 drives P2X4R+-reactive microglia gating neuropathic pain. **Nat Commun** 5: 3771. doi: 10.1038/ncomms4771. (査読有)
54. Ohgidani M, \*Kato TA, Setoyama D, Sagata N, Hashimoto R, Shigenobu K, Yoshida T, Hayakawa K, Shimokawa N, Miura D, Utsumi H, Kanba S. (2014) Direct induction of ramified microglia-like cells from human monocytes: Dynamic microglial dysfunction in Nasu-Hakola disease. **Sci Rep** 4: 4957. doi:10.1038/srep04957. (査読有)
55. Masaki K, Suzuki SO, Matsushita T, Matsuoka T, Imamura S, Yamasaki R, Suzuki M, Suenaga T, Iwaki T, \*Kira J. (2013) Connexin 43 astrocytopathy linked to rapidly progressive multiple sclerosis and neuromyelitis optica. **PLoS One** 8: e72919. doi: 10.1371/journal.pone.0072919. (査読有)

### A03: 公募研究

56. Komine O, Yamashita H, Fujimori-Tonou N, Koike M, Jin S, Moriwaki Y, Endo F, Watanabe S, Uematsu S, Akira S, Uchiyama Y, Takahashi R, Misawa H, \*Yamanaka K. Innate immune adaptor TRIF slows disease progression of ALS mice with accumulation of aberrantly activated astrocytes. **Cell Death Differ** in press. doi: <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0098-3>. (査読有)
57. Sakuda K, Kizuka Y, Yamaguchi Y, Tanaka K, Ogiwara K, Segawa T, Hagiwara Y, Matsuo I, Ogawa H, Taniguchi N, \*Kitazume S. (2017) Reactivity of anti-HNK-1 antibodies to branched O-mannose glycans associated with demyelination. **Biochem Biophys Res Commun** 487: 450-456. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.04.085. (査読有)
58. Nakazato R, Kawabe K, Yamada D, Ikeno S, Mieda M, Shimba S, Hinoi E, Yoneda Y, \*Takarada T. (2017) Disruption of Bmal1 impairs blood-brain barrier integrity via pericyte dysfunction. **J Neurosci** 37: 10052-10062. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3639-16.2017. (査読有)
59. Liu Y, Wu Z, Nakanishi Y, Ni J, Hayashi Y, Takayama F, Zhou Y, Kadowaki T, \*Nakanishi H. (2017) Infection of microglia with *Porphyromonas gingivalis* promotes migration and inflammatory response through the gingipain-mediated activation of protease-activated receptor-2 in mice. **Sci Rep** 7: 11759. doi: 10.1038/s41598-017-12173-1. (査読有)

60. \*Hayashi Y, Morinaga S, Zhang J, Satoh Y, Meredith A, Nakata T, Wu Z, Kohsaka S, Inoue K, \*Nakanishi H. (2016) BK channels in microglia are required for morphine-induced hyperalgesia. **Nat Commun** 7: 11687. doi: 10.1038/ncomms11697. (査読有)
61. Muto Y, \*Nishiyama M, Nita A, Moroishi T, \*Nakayama KI. (2017) Essential role of FBXL5-mediated cellular iron homeostasis in maintenance of hematopoietic stem cells. **Nat Commun** 8: 16114. doi: 10.1038/ncomms16114. (査読有)
62. Katayama Y, \*Nishiyama M, Shoji H, Ohkawa Y, Kawamura A, Sato T, Suyama M, Takumi T, Miyakawa T, \*Nakayama KI. (2016) CHD8 haploinsufficiency results in autistic-like phenotypes in mice. **Nature** 537: 675-679. doi: 10.1038/nature19357. (査読有)

・学会発表 (抜粋)

①Purine2014

July 24 2014, Bonn

Ischemic tolerance mediated by the glia purinergic system

Organizer & Speaker: Schuichi Koizumi

②XII. European Meeting on Glial Cells in Health and Disease

July 15-18 2015, Spain

1. The Japanese-Europe Glial Workshop (Technical Workshop)

Organizer: Schuichi Koizumi & Alexej Verkhratsky

2. Microglia-mediated control of postnatal brain development

Organizer: Shigeo Okabe

・図書 (抜粋)

1. Miyata S. Cytoskeletal signal-regulated oligodendrocyte myelination and remyelination. **Springer Books/ Myelin-Basic and Clinical Advances**. (査読有)
2. 竹林浩秀 **脳神経化学** 脳はいま化学の言葉でどこまで語れるか 1 章: 2-10. (森泰生・尾藤晴彦編) 2-10. (査読有)
3. 木下 専 **脳神経化学** 脳はいま化学の言葉でどこまで語れるか 19 章: 204-212. (森泰生・尾藤晴彦編) (査読有)

## 産業財産権の出願

### 出願

・「Method of producing microglial cells」

発明者：加藤隆弘、扇谷昌宏、 神庭重信

権利者：国立大学法人九州大学

種類：PCT

番号：US 15/110004・EP 15734968.9・HK 16114248.3

出願年月日：2015年1月9日

国内外の別：米国・欧州・香港

## 取得

・「急性冠症候群のマーカー及びその利用」

特許権者：国立研究開発法人理化学研究所、福島県立医科大学、株式会社免疫生物研究所

特許番号：第 6093943 号

登録日：平成 29 年 2 月 24 日

## 研究成果

### 研究項目 A01 グリアアセンブリによる脳機能制御

A01 班は、正常な成熟脳におけるグリアアセンブリの機能を明らかにすることを目指した。特に、グリアアセンブリの作動原理を個々の細胞の自立性と細胞間クロストークの視点から解明する。

#### 【計画研究】

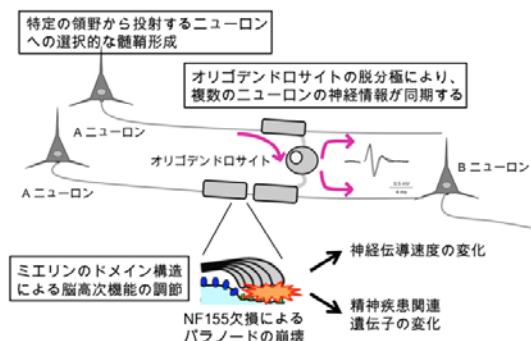
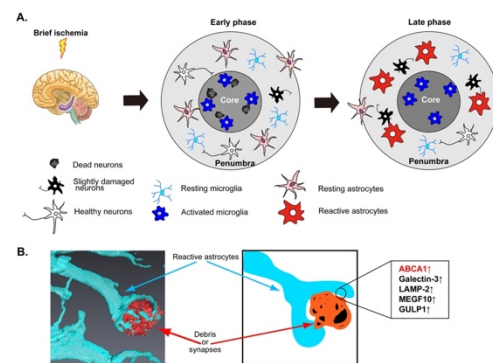
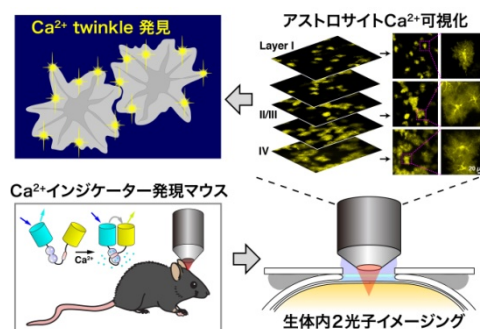
○アストロサイトは細胞間伝達物質を  $\text{Ca}^{2+}$  依存的に放出するため、アストロサイトアセンブリの機能を知るためには、その  $\text{Ca}^{2+}$  動態を知ることが重要である。飯野らは超高感度  $\text{Ca}^{2+}$  センサーをアストロサイトで発現する遺伝子改変マウスを作製し解析を進めた

(池中班田中との共同研究)。これによって、これまで捉えることが困難であったアストロサイト微小突起に局限する自発的  $\text{Ca}^{2+}$  シグナル「 $\text{Ca}^{2+}$  twinkle」を発見するとともに、感覚刺激に誘発されるアストロサイト  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルが微小突起から細胞体へと伝播することを明らかにした (Cell Rep 2014)。また、アストロサイト小胞体内腔の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を可視化することに成功し、従来アストロサイトにおいて主要な  $\text{Ca}^{2+}$  放出チャネルとされていた  $\text{IP}_3$  受容体 2 型以外にも  $\text{Ca}^{2+}$  放出経路があることを明らかにした。また、ア

ストロサイト内カルシウム動態を、 $\text{IP}_3$  分解酵素の発現 (飯野班) あるいは DREADD (designer receptor exclusively activated by designer drug) (大木班) により制御することに成功した。さらに、重要なグリア間伝達物質の一つである ATP の放出を抑制するマウスの作製にも成功した (小泉班)。

○小泉らは、脳卒中のコア領域ではミクログリア集積して死細胞の食食を行うが、ペナブラ領域ではアストロサイトアセンブリが食食細胞として集積し、異物を除去してリモデリングをコントロールしていることを明らかにした。アストロサイト食食の責任分子として Abca1 を見いだした。 (Nature Commun 2017)。

○グリアアセンブリの一員であるオリゴデンドロサイトは髄鞘形成後も脱分極により活動電位の伝導速度を上昇させる。池中らは、この機構を調べるためにオリゴデンドロサイトを光刺激により脱分極させるマウスを作製した。このマウスにおいては脱分極により神経情報の同期することが分かった (池中班山崎 Glia 2014)。さらに、オリゴデンドロサイトは特定の領野から投射する神経軸索に選択的な髄鞘形成すること、軸索との結合部位の崩壊により神経細胞の遺伝子発現に多大な変化の現れることが明らかとなった (Glia 2017)。

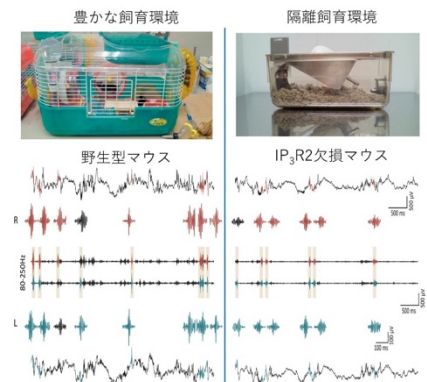


## 【公募研究】

○平瀬らは、幼少期より隔離環境で飼育されたマウスは海馬リップル脳波の出現頻度と振幅が小さくなることを見出した。このような傾向は、アストロサイトのCa<sup>2+</sup>上昇が大幅に抑制される2型IP<sub>3</sub>受容体ノックアウトマウスにおいて強くなることが分かった。つまり、経験依存的な神経活動の変化にアストロサイトのCa<sup>2+</sup>上昇が関与することを示唆する結果を得た(J Physiol 2017)。(右図)IP<sub>3</sub>R2欠損マウスにおいて海馬リップル脳波の出現頻度の低下および振幅の減衰が起こる。

○アストロサイトと神経細胞は緊密な相互作用をしているが、この両者の活性化状態を同時に可視化するのは困難であった。尾藤らはdual FRET型カルシウムインディケータの作出と改良型G-CaMPインディケータの開発を行い、新たな改良型赤色変異体の作出に成功した。これら多色G-CaMP変異体を用いて、異なる細胞集団の同時カルシウム測定に成功した(Nature Methods 2015)。

このようにA01班の研究目標に向けて着実な進歩が認められた。特に、多色のカルシウム指示薬の開発、グリアアセンブリのin vivo制御法の確立、覚醒下in vivo脳内観察法の確立などが行われ、今後飛躍的な発展が期待される。



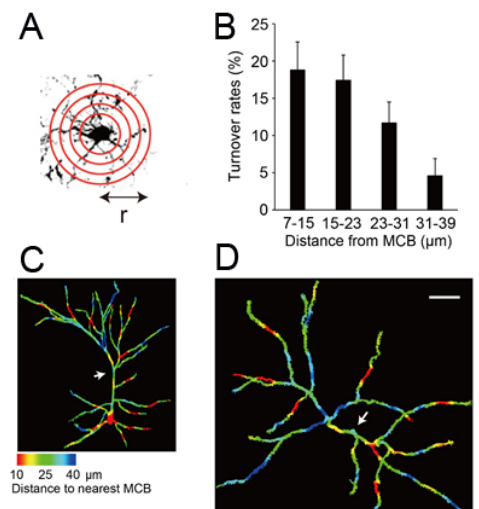
## 研究項目 A02 グリアアセンブリによる脳機能成熟

A02班ではグリアアセンブリの概念を脳の生後発達過程に当てはめ、神経回路とグリアアセンブリの相互作用によって特定の脳領域の機能が発現する過程を明確に示し、その障害による精神神経疾患(特に自閉スペクトラム症)の発症の理解を深めることを目標として研究活動を実施した。

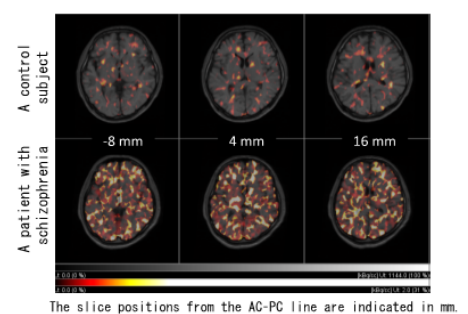
## 【計画研究】

○特に神経回路の発達と機能成熟の過程におけるミクログリアの役割についてはその理解が進んだ。岡部・橋本らは、まず生後発達期のシナプスリモデリングの過程で、ミクログリアによるシナプス形成・維持・刈り込みの制御が行われていることを大脳皮質と小脳皮質において明らかにした(Cell Rep 2018, eNeuro 2018, Sci Rep 2017, Sci Advances 2017, Nature Comm 2014, Nature Commun 2013)。大脳皮質ではミクログリアの細胞配置によって錐体細胞樹状突起にシナプスの安定性が異なるドメインが繰り返し形成されることが示された(右図)。小脳皮質においては、生後発達における登上線維とプルキンエ細胞間に形成されるシナプスの刈り込みがミクログリアによる制御を受けることが明らかになった。このようにミクログリアのシナプスリモデリングに与える効果が脳領域特異的である点が明確になったことは重要である。生後発達早期のシナプス変化をグリア細胞が制御するという仮説を更に検証するため、シナプスイメージングを脳透明化技術と組み合わせる手法、新しい電子顕微鏡立体再構成技術によるグリア突起構造の解析、大木らによるマウス視覚野でのカルシウム動態の発達過程での追跡、竹林らによるオリゴデンドロサイトの発達の制御する新規遺伝子改変マウスの確立などが着実になされて、グリアが果たすシナプス制御のメカニズムの理解が飛躍的に深まった。

○大脳皮質でのミクログリアとシナプスの発達の関連性はマーマセットにおいても検証され、タイムスケールは異なるが、げっ歯類と霊長類において類似したミクログリア発達のパターンが存在することが確認された(BBRC 2014, Brain Struct Funct, 2014)。また薬物投与によって誘発したマーマセットの自閉症モデルの解析から、ミクログリア形態と自閉スペクトル症との関連を示唆する知見が得られた(Behav Brain Res 2018)。



[<sup>11</sup>C]PK11195結合のPETパラメトリック画像例



The slice positions from the AC-PC line are indicated in mm.

○げっ歯類と非ヒト霊長類で進められた研究をヒト脳研究へとつなぐため、MRI を用いた軸索構造の可視化、ミクログリア選択的な PET プローブの開発による新しいグリア機能の脳画像による評価についても成果が得られた。福山は植木らと共同研究で、統合失調症病態脳では発症初段階にミクログリアの毒性転化を惹起する ADAM10 などの病態プロテアーゼが活性化することを観察し (BBRC 2016)、それらプロテアーゼの脳内動態を MRI でリアルタイムに解析するための MRI 機能プローブを創製した。

**【公募研究】**

○馬場らは、ミクログリアに発現するホスホリパーゼの欠損により、ミエリン発達に影響がでることを見出し、ミクログリアがオリゴデンドロサイト グリアアセンブリの発達に対して与える影響を明らかにした (Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 2016) 。  
 今後はミクログリアによるシナプスへの直接接触や液性因子の効果の分子実体を更に追求し、生後の神経回路発達における神経回路側の制御メカニズムとグリア細胞側の制御メカニズムを一体として理解することが求められる。また多くの疾患にグリア細胞の機能障害が関与していることから、適切な疾患モデル動物において発達過程のグリアアセンブリの変化をその場で捉えることが益々重要になるであろう。

**研究項目 A03 グリア病：グリアアセンブリ破綻による精神・神経疾患**

**【計画研究】**

○吉良らは、現在治療法のない二次進行形多発性硬化症に対する世界初の治療薬として、抗リウマチ薬として市販されているイグラチモドを見出した。この薬剤は、二次進行形多発性硬化症の病態として重要なグリア炎症を抑制することで効果を発揮することが明らかとなった (Sci Rep 2018)。またアレルギー素因マウスでは、アストログリアの活性化によるグリア炎症がアロディニアの原因となる可能性を見いだした (J Neurosci 2016)。  
 ○井上らは、痛覚調節回路の場である脊髄後角のグリアアセンブリを解析するにあたり、低侵襲性の局所ベクター導入技術を開発し (Sci Rep 2015)、脊髄後角の神経細胞、グリア細胞ごとに ATP を分泌小胞に輸送する VNUT を欠損させる実験系、脊髄組織中からの ATP 放出量を測定する実験系を確立、これによって神経損傷後のミクログリア P2X4 受容体を活性化する ATP の放出源が、脊髄後角介在神経細胞であることを証明した (Nat Commun 2016)。また、岡部班との共同研究で、IRF8 がミクログリアの形態の維持に関与する転写因子であること、IRF8 の欠損により社会的新奇記憶力が低下することを見出した。  
 ○神庭らはヒトの末梢血からわずか2週間でミクログリア様細胞 (iMG) を作製する技術を開発した [Sci Rep 2014, 国内特許出願 加藤、扇谷、神庭 2014. 1. 9; 国際特許出願 Kato, Ohgidani, Kanba 2015. 1. 9 (PCT number: G1301W0)]。この iMG 技術により、双極性障害患者では、M2 タイプマーカ CD206 の mRNA 発現がうつ相で上昇することを見だし、精神疾患病態解析の新しい手法を提示した (Front Immunol 2017)。  
 ○尾崎らは、双極性障害、統合失調症、自閉スペクトラム症を含む精神疾患を対象にゲノム CNV 解析を行い、発症との関連が示唆される稀な欠失・重複をグリア関連遺伝子において同定した (Mol Psychiat 2017, Int J Neuropsychopharmacol 2017)。さらにグリア関連遺伝子 *RTN4R*、*CX3CR1* を対象としたターゲット・リシーケンス解析を行い、頻度の稀なミスセンス変異を複数同定した (Translat Psychiatry, 2017a, b)。

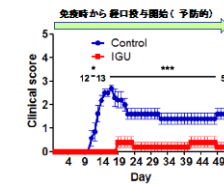
**二次進行型MSに対するグリアを標的とした治療開発**

SPMSの特徴であるグリア炎症を抑える薬のdrug repositioning

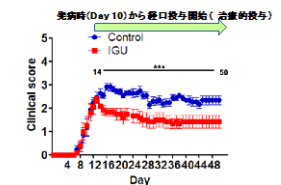
抗リウマチ薬(OMARD)イグラチモド

抗リウマチ薬イグラチモドがグリア炎症抑制によりMSモデルマウスの急性期・慢性期症状を軽減することを発見し、世界初の慢性期MS治療候補として報告した。  
 Drug repositioning を目指し 医師主導治験準備中 (AMED 採択(2018-2020))。

予防投与でEAEを完全に抑制



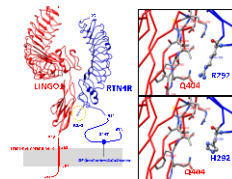
治療的投与でもEAEを抑制



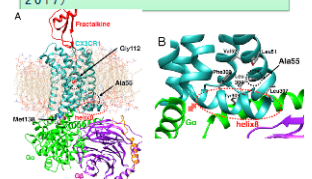
Li, Yamasaki et al., Sci Rep 2018

A03 班尾崎：統合失調症、自閉スペクトラム症、双極性障害のゲノム解析により、発症に強く寄与するゲノム変異を *RTN4R*、*CX3CR1* 等のグリア関連遺伝子において同定し、それぞれのゲノム変異の生物学的意義を明らかにした

- ① *RTN4R* SNV (R292H) による分子間相互作用の喪失 (Kimura et al. Translational Psychiatry, 2017)
- ② *CX3CR1* (A55T) による分子内構造変化によるシグナル伝達機能の喪失 (Ishizuka et al. Translational Psychiatry, 2017)



神経細胞の成長円錐(growth cone)形成に影響



Aktシグナル伝達の減弱をもたらす神経細胞の生存・発達などに影響

## 【公募研究】

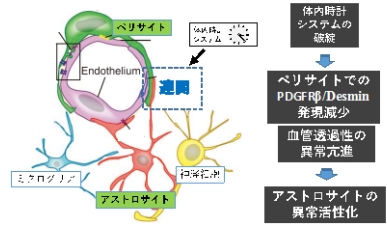
○山中らは、神経変性疾患 ALS（筋萎縮性側索硬化症）のモデルマウスを用いた研究により、自然免疫分子 TRIF の新たな機能を明らかにし、グリア細胞の恒常性維持機構の一端を解明した（Cell Death Differ 2018）。

○宝田らは、体内時計が正常なアストロサイト-ペリサイトアセンブリ機能維持に必須であること、この破綻が血管透過性の異常亢進を引き起こしてアストロサイトを活性化させること、これにより神経障害児におけるアロディニアの形成が阻害されることを見いだした（J Neurosci 2017）。

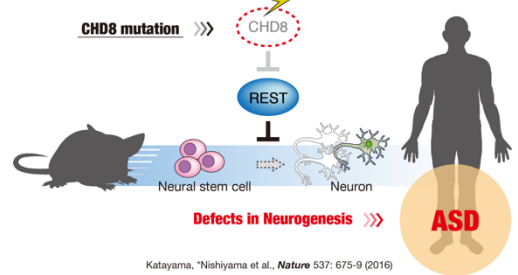
○西山らは、自閉症患者で最も変異率の高い遺伝子である CHD8 変異を再現したマウスを作製し行動解析を行ったところ、自閉症を特徴付ける行動異常である社会的行動の異常や不安様行動の増加が観察された。さらに遺伝子発現解析によって神経発生の重要な制御因子である REST が異常活性化しており、そのために神経発生遅延が起こることを実証した（Nature 2016）。

今後も、精神・神経疾患のグリア分子病態を、げっ歯類を中心とするモデル動物を対象としてゲノム編集技術や光遺伝学といった最新の解析方法も駆使して検証することは重要なアプローチである。加えて、グリア病態に基づく診断法・治療法の開発を実現するには、モデル動物から得られた知見を、臨床のゲノム解析情報、脳画像・脳組織解析情報や患者由来 iPS 細胞解析情報などと比較・検証することが不可欠である。従ってグリア病態克服に向け、本課題で構築されたグリアアセンブリに関する臨床研究と基礎研究の連携・融合研究体制がより一層、深化することが望まれる。

体内時計システムは、  
正常なアストロサイト-ペリサイトの連関に重要



Nakazato et al., J Neurosci 37:10052-10062, 2017



Katayama, Nishiyama et al., Nature 537: 675-9 (2016)