

令和元年6月3日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07027

研究課題名(和文) 成体脳の脳室周囲器官における神経幹細胞の機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of neural stem cells in the circumventricular organs of adult brain

研究代表者

宮田 清司 (MIYATA, SEIJI)

京都工芸繊維大学・応用生物学系・教授

研究者番号：30243124

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、新たに発見された脳室周囲器官の神経幹細胞の特徴として以下のことを明らかにした。1) アストロタイプとタニサイトタイプの2種類の神経幹細胞が存在している。2) 多発性硬化症の動物モデル実験より、神経幹細胞から延髄の脱髄部位へ新しいオリゴデンドロサイトの供給があり脱髄の修復に関与する。一方、部分的な脱髄では、既存のオリゴデンドロサイト前駆細胞のみが修復に関与する。3) 新たな細胞の供給源であるだけでなくTLR4やTRPV1を発現し、血液由来の情報をモニターするMultipotentな細胞である。4) ミクログリアは常に活性化状態で、神経幹細胞の増殖を制御していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成体脳における神経幹細胞は、今まで特定の部位にしか存在していないと考えられてきたが、新たに脳室周囲器官の3部位にも存在することが分かり、幅広い脳部位で新しい細胞の供給が行われていることが分かった。しかし、脳室周囲器官の神経幹細胞の機能については研究報告が極めて少ない。よって、脳室周囲器官の神経幹細胞の機能を明らかにすることは、成体脳における神経幹細胞の意義を解明する上で学術的に意義の高いものである。また、延髄の神経幹細胞は、ダメージを受けた延髄の機能修復にも関与している可能性が示され、臨床への応用なども期待でき社会的意義も高い。

研究成果の概要(英文)：This research project demonstrated following evidences as for neural stem cells (NSCs) in the circumventricular organs (CVOs) of the adult mouse brains. 1) Existence of astrocyte- and tanyocyte-type NSCs in the CVOs. 2) New oligodendrocytes are born from NSCs in the medulla oblongata of EAE-induced demyelinated animals, but remyelination in locally demyelinated area is only recovered by oligodendrocyte progenitor cells. 3) NSCs in the CVOs have dual functions that generate new cells and sense blood-derived molecules or information. 4) Microglia in the CVOs are continuously activated and control proliferation of NSCs.

研究分野：神経科学

キーワード：神経幹細胞 脳 脱髄 血液脳関門

## 1. 研究開始当初の背景

成体脳において神経幹細胞が存在することが証明され十数年経過し、成体における神経幹細胞の生理的意義が明らかになりつつある。海馬歯状回においては、新しい顆粒神経細胞を生じ、記憶・学習に関与している。また、側脳室下帯の神経幹細胞は、嗅球まで移動し嗅覚情報に関与している。さらに、脳室周囲器官のひとつである正中隆起/弓状核においても神経幹細胞の存在が報告され、エネルギーバランスを制御することで、体重調節に関与することが報告されている。一方、海馬における神経幹細胞の増殖阻害は、記憶や学習能力の低下だけでなく、うつ様状態になることが知られている。また、正中隆起/弓状核の神経幹細胞の増殖阻害は、肥満となることが報告されている。このように、成体脳における神経幹細胞の機能は、脳部位固有のものである。さらに、脳の損傷時には新たなグリア細胞や神経細胞を供給して、ダメージを受けた領域を修復する機能も持っている。

我々は、マウスの脳室周囲器官3部位（終板器官・脳弓下器官・最後野）にも神経幹細胞が存在することを発見した。さらに、これらの脳部位において神経幹細胞の存在が人でも確認されている。これらのことは、神経幹細胞が哺乳類の脳室周囲器官4部位すべてに存在していることを示し、成体脳では合計6か所に神経幹細胞が存在している。脳室周囲器官は、脳室に面した脳の各所にあり、正中隆起（視床下部）、終板器官（視床下部）、脳弓下器官（海馬辺縁系）及び最後野（延髄）がある（図1）。脳室周囲器官は、血管内皮細胞のタイトジャンクションがないので、一般的な血液脳関門を欠き、脳と末梢情報を直接交換することができる場である。脳室周囲器官の機能は、浸透圧・Na<sup>+</sup>イオン・pHなどをモニターし体液恒常性を維持する、細菌やウイルス構成成分などの病原体を速やかに検知し発熱・視床下部下垂体後葉系や脳内炎症応答経路の活性化などの炎症反応を活性化する、血圧や嘔吐などの制御などである。しかし、新たに発見された脳室周囲器官3部位の神経幹細胞については、その存在がようやく証明されたばかりで、国内外における研究報告は少なく、当然、その機能解析については皆無である。

以上の研究成果を踏まえ本研究においては、脳室周囲器官の3部位（終板器官・脳弓下器官・最後野）における神経幹細胞の機能を解明することを目的とする。神経幹細胞は、脳部位に固有の機能を持っている。よって、脳室周囲器官の神経幹細胞は体液ホメオスタシス、発熱などの炎症反応、血圧調節、嘔吐に関与する可能性が高く、神経幹細胞の異常はこれらの機能障害を伴う病気の原因であると考えられる。さらに、ダメージを受けた脳部位脳室周囲器官の神経幹細胞から新たな細胞を供給している可能性がある。

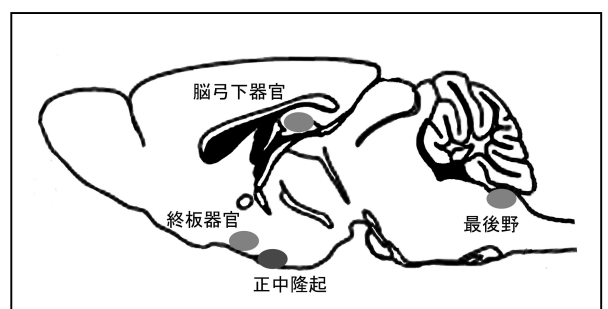


図1

## 2. 研究の目的

成体脳の海馬や側脳室下帯において神経幹細胞が存在することが証明され、神経幹細胞が重要な機能を果たしているだけでなく、神経幹細胞の異常は様々な脳疾病の原因であることが明らかになりつつある。我々は、これまでの研究で、脳室周囲器官である終板器官、脳弓下器官及び最後野において、神経幹細胞が存在することを証明した。しかし、これらの脳室周囲器官の3部位における神経幹細胞の特徴についてはほとんど明らかになっていない。以

上を踏まえて、本研究では、脳室周囲器官の神経幹細胞の基本的な特徴と機能を解明することを第一の目的とした。次に、神経幹細胞がないとされてきた延髄において、脱髄を人為的に誘発し神経幹細胞による髄鞘の修復を調べた。

### 3. 研究の方法

脳室周囲器官の神経幹細胞が、どこに移動し、どのような細胞タイプ（神経、アストロサイト、オリゴデンドロサイト）に分化するのか、細胞タイプマーカーを用いて定量的に解析した。具体的には、Nestin-CreERT2/CAG-CAT<sup>loxP/loxP</sup>-EGFP マウスに Tamoxifen 投与し、脳室周囲器官の神経幹細胞を EGFP で可視化後、種細胞タイプマーカーとの免疫染色を行うことで、神経幹細胞の移動先と分化した細胞タイプを詳細に調べた。一方、神経幹（前駆）細胞の増殖は、BrdU 免疫組織化学で定量的に調べた。病態モデルとしては、多発性硬化症の動物モデルである Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) や Lysolecithin の局所注入により脱髄を誘発し、脳室周囲器官の神経幹細胞から新たなオリゴデンドロサイト供給を調べた。

### 4. 研究成果

脳室周囲器官は、視床下部に存在する終盤脈絡器官、脳弓下器官、正中隆起と延髄にある最後野を含む。脳室周囲器官は、他の脳部位と異なり血液脳関門(BBB)を欠く有窓性血管を有している部位であり、末梢と中枢のインターフェイス機能を持っている。本研究では、脳室周囲器官に存在する神経幹細胞の特徴として以下のことを明らかにした。

- 1) 脳室周囲器官の終盤脈絡器官と脳弓下器官ならびに延髄の最後野には、アストロタイプとオリゴデンドロタイプの2種類の神経幹細胞が存在していることが明らかになった。
- 2) 多発性硬化症の動物モデルであるEAEの実験より、脳室周囲器官の神経幹細胞から延髄の脱髄部位へ新しいオリゴデンドロサイトの供給があることが分かった。このことは、大脳と同様に延髄においても神経幹細胞由来の新しい細胞供給機構が存在し、ダメージを受けた延髄の修復関与することが明らかになった。一方、Lysolecithinの局所注入による部分的な脱髄では、神経幹細胞からの新たな細胞供給はなく、既存のオリゴデンドロサイト前駆細胞の増殖と分化で修復が行われることが明らかになった。
- 3) 脳室周囲器官の神経幹細胞は新しい細胞の供給源であるだけでなく病原体認識分子TLR4や浸透圧、酸や温度受容分子TRPV1を発現している。よって、神経幹細胞は血液からの情報をモニターし、他の脳部位への情報を伝達する機能を兼ねたMultipotentな細胞であることが証明された。
- 4) 脳室周囲器官に存在しているミクリグリアは常に活性型であり、神経幹細胞に密着して存在することで増殖を制御している可能性が示された。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 12 件)

- 1) Murayama S, Kurganov E, Miyata S. (2019) Activation of microglia and macrophages in the circumventricular organs of the mouse brain during TLR2-induced fever and sickness responses.  
*Journal of Neuroimmunology* (in press; DOI: 10.1016/j.jneuroim.2019.576973)
- 2) 平塚大士・宮田清司 (2019) 「総説；延髄の神経幹細胞による髄鞘修復」  
BIO Clinica 「特集免疫性神経疾患の治療学」
- 3) Inagaki H, Kurganov E, Park Y, Furube E, Miyata S. (2019) Oral gavage of capsaicin causes TRPV1-dependent acute hypothermia and TRPV1-independent long-lasting increase of locomotor activity in the mouse.  
*Physiology & Behavior* 206:213-224.
- 4) Hiratsuka D, Kurganov E, Furube E, Morita M, Miyata S. (2019) VEGF- and PDGF-dependent proliferation of oligodendrocyte progenitor cells in the medulla oblongata after LPC-induced focal demyelination.  
*Journal of Neuroimmunology* 332:176-186.
- 5) Koizumi T, Taguchi K, Mizuta I, Toba H, Ohigashi M, Ikoma K, Miyata S. Nakata T, Tanaka M, Foulquier S, Steinbusch H, Mizuno T. (2019) Transiently proliferating perivascular microglia harbor M1-type and precede cerebrovascular changes in a chronic hypertension model.  
*Journal of Neuroinflammation* 16:79.
- 6) Hiratsuka D, Furube E, Taguchi K, Tanaka M, Morita M, Miyata S. (2018) Remyelination in the medulla oblongata of adult mouse brain during experimental autoimmune encephalomyelitis.  
*Journal of Neuroimmunology* 319:41-54.
- 7) Muneoka S, Murayama S, Nakano Y, Miyata S. (2018) TLR4 in circumventricular neural stem cells is a negative regulator for thermogenic pathways in the mouse brain.  
*Journal of Neuroimmunology* pii: S0165-5728(17)30497-6.
- 8) Furube E, Kawai S, Inagaki H, Takagi S, Miyata S. (2018) Brain region-dependent heterogeneity and dose-dependent difference in transient microglia population increase during lipopolysaccharide-induced inflammation.  
*Scientific Reports* 8: 2203.
- 9) Takagi S, Furube E, Nakano Y, Morita M, Miyata S. (2017) Microglia are continuously activated in the circumventricular organs of mouse brain.  
*Journal of Neuroimmunology* pii: S0165-5728(17)30384-3.
- 10) Miyata S. Advances in understanding of structural reorganization in the

**hypothalamic neurosecretory system.**

***Frontier in Endocrinology* 8: 275.**

**11) Nishikawa K, Furube E, Morita S, Horii-Hayashi N, Nishi M, Miyata S. (2017)**

**Structural reconstruction of the perivascular space in the adult mouse neurohypophysis during an osmotic stimulation.**

***Journal of Neuroendocrinology* 29: 2.**

**12) Yoshida A, Furube E, Mannari T, Takayama Y, Kittaka H, Tominaga M, Miyata S.**

**(2016) TRPV1 is crucial for proinflammatory STAT3 signaling and hermeregulation-associated pathways in the brain during inflammation.**

***Scientific Reports* 6: 26088.**

**13) Morita S, Furube E, Mannari T, Okuda H, Tatsumi K, Wanaka A, Miyata S. (2016)**

**Heterogenous vascular permeability and alternative diffusion barrier in the sensory circumventricular organs of adult mouse brain.**

***Cell and Tissue Research* 363: 497-511.**

[学会発表](計 13件)

- 1) 安本拓樹、古部瑛莉子、平塚大士、森田光洋、宮田清司 (2018) 延髄最後野と中心管の神経幹細胞から三叉神経主感覚核と脊髄路核への新生ニューロン供給。第 41 回日本神経科学会 (神戸)
- 2) 岡本果穂、高山靖規、富永真琴、宮田清司 (2018) マウス視床下部における TRPM8 発現ニューロンの局在と機能。第 41 回日本神経科学会 (神戸)
- 3) 村山咲希、宗岡詩織、宮田清司 (2018) 脳ミクログリア/マクロファージに発現する TLR2 を介した体温調節に関わるシグナル伝達経路。第 41 回日本神経科学会 (神戸)
- 4) 浅見歩、宮田清司 (2018) マウス脈絡叢における血管内皮細胞の増殖と水頭症における変化。第 41 回日本神経科学会 (神戸)
- 5) 古部映莉子、森田光洋、宮田清司 (2018) 脳室周囲領域は神経幹細胞ニッチェとして広く機能する。第 41 回日本神経科学会 (神戸)
- 6) 高木翔平、古部映莉子、宮田清司 (2017) ミクログリアの多様性; 炎症による増殖と M1 及び M2 型タンパク発現。第 39 回日本神経科学会 (横浜)
- 7) 平塚大士、古部映莉子、森田光洋、宮田清司 (2017) EAE 発症脱髄マウスの延髄における新しいオリゴデンドロサイトの供給。第 40 回日本神経科学会 (千葉)
- 8) 稲垣春那、宗岡詩織、吉田亜矢加、宮田清司 (2017) 脳室周囲器官のアストロサイトと上皮細胞は LPS による発熱時にサーモスタットとして働く。40 回日本神経科学会 (千葉)
- 9) 古部映莉子、平塚大士、田口勝敏、田中雅樹、森田光洋、宮田清司 (2017) 延髄における神経幹細胞の局在と脳梗塞による新しい細胞供給。第 40 回日本神経科学会 (千葉)
- 10) 宗岡詩織、宮田清司 (2016) LPS 刺激による脳室周囲器官の TLR4-NF- $\kappa$ B シグナリング活性化。第 39 回日本神経科学会 (横浜)
- 11) 河合晋太郎、古部映莉子、宮田清司 (2016) LPS 単発刺激による脳幹特定部位におけるミクログリアの増殖。第 39 回日本神経科学会 (横浜)
- 12) 石崎陽平、宮田清司 (2016) 最後野に接する孤束核のアストロサイトにおける Connexin43 発現。第 39 回日本神経科学会 (横浜)
- 13) 古部映莉子、森田光洋、宮田清司 (2016) 脳室周囲器官の神経幹細胞は多機能性である。第 39 回日本神経科学会 ((横浜)

〔その他〕  
ホームページ等

<https://semyata.wixsite.com/kit-seitaikinou>