

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10187

研究課題名(和文) 内在性神経幹細胞による脳内神経修復機構の新生児低酸素性虚血性脳症への臨床応用

研究課題名(英文) Clinical application of neural repair mechanisms in the brain by endogenous neural stem cells to neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

研究代表者

加藤 丈典 (KATO, TAKENORI)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員

研究者番号：30381875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：新生児脳障害に対する新たな治療法の開発に際し、脳内の脳室下帯とよばれる領域に存在する神経幹細胞に着目した。この部位でのニューロン新生が神経再生にどのように寄与するかはまだ明らかにされていない。本研究では新生児脳傷害モデル動物において、傷害部へのニューロンの移動を制御する分子メカニズムを解明し、これを応用した移動の足場を傷害脳に移植することで神経再生を促進できるかを評価した。また脳障害時に脳室下帯に存在するさまざまな細胞に生じる遺伝子発現変化を単一細胞レベルで捉えることで神経再生に關与する因子を分子レベルで同定し、新たな神経再生を促進する治療薬候補の同定のための基盤技術の開発に取り組んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新生児低酸素性虚血性脳症は神経学的後遺症をもたらす周産期における重要な疾患である。現時点において科学的根拠を有した唯一の有効な治療法は脳低温療法であり、本疾患の予後改善のためには、新生児脳傷害の病態の解明と新たな機序による治療法の開発が必要である。本研究では脳室下帯とよばれる領域に存在する神経幹細胞に着目し、新生児脳障害モデル動物において脳障害時の内在性幹細胞の神経修復メカニズム、特に細胞の移動につき解析を行い、新たな治療法の可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：In developing a new treatment for neonatal brain injury, we focused on neural stem cells in the subventricular zone of the brain. It is still unclear how neurogenesis in this region contributes to neuronal regeneration. In this study, we elucidated the molecular mechanisms that control the migration of neurons to the injured area in an animal model of neonatal brain injury, and evaluated whether transplantation of a migration scaffold based on this mechanism into the injured brain can promote neuronal regeneration. We also identified factors involved in neurogenesis at the molecular level by capturing gene expression changes in various cells in the subventricular zone during brain injury at the single-cell level, and developed basic technologies to identify new candidates for therapeutic drugs that promote neuro-regeneration.

研究分野：新生児学

キーワード：低酸素性虚血性脳症 内在性幹細胞

1. 研究開始当初の背景

近年の周産期医療の進歩により、新生児仮死で出生した新生児の救命率は劇的に向上しているが、いまなお一部に重大な神経学的後遺症が発生する。この脳傷害は新生児低酸素性虚血性脳症と称され、その病態メカニズムはこれまでよく研究されてきた。新生児低酸素性虚血性脳症では傷害の程度、持続時間などの因子によって視床・大脳基底核傷害や、大脳皮質・皮質下白質傷害を引き起こし、いずれも脳性麻痺と呼ばれる不可逆的な後遺症を呈する。治療法については、現時点において唯一科学的根拠を有したものとして、低体温療法が挙げられる。しかし、その効果は限定的であり、新たな治療法の開発が求められている。

ヒトを含む哺乳類では、胎生期のみならず生後においても側脳室に面した脳室下帯とよばれる領域に神経幹細胞が存在し、新しいニューロンを産生することが分かっている。特にヒトにおいては、この脳室下帯におけるニューロン新生は新生児期・乳児期に最も活発にみられ、生後も大脳皮質にニューロンが供給され続けている。この生後のニューロン新生は、脳発達や脳の可塑性に重要な役割を担っていると考えられている。また脳室下帯の神経幹細胞はニューロンだけではなくオリゴデンドロサイトといったグリア細胞も産生することがわかっている。

これらのことから脳室下帯の神経幹細胞は、新生児低酸素性虚血性脳症などの新生児脳傷害時には、脳神経の修復・再生を促進する有望なソースである可能性がある。しかし、新生児脳傷害によって生後の脳室下帯の神経幹細胞がどのように反応し、脳の再生に寄与するかは十分に解明されていない。

2. 研究の目的

- (1) 新生児低酸素性虚血性脳症などの新生児脳傷害時における、脳室下帯の神経幹細胞の細胞挙動を解明する。
- (2) 新生児脳傷害に対して、生後のニューロン新生を賦活化させることによる新たな治療法を開発する。

3. 研究の方法

研究開始当初は新生仔豚における低酸素性虚血性モデルの確立を試みたが、愛知県において豚コレラ発生に伴う養豚場の閉鎖のため、新生仔豚の入手が困難な状況となったため、研究協力者らとともに、以下のげっ歯類での脳傷害モデルを確立し、生後のニューロン新生に関する研究を実施した。

(1) 凍結脳傷害モデル

日齢2の新生仔マウスに液体窒素を用いて凍結脳傷害を加える。傷害後7日(日齢9)にマウスを灌流固定し組織学的解析を行った。胎児・新性仔期の神経幹細胞である放射状グリア細胞の形態を免疫染色を用いて観察した。また日齢0に電気穿孔法を用いて、脳室下帯細胞を標識し、脳室下帯由来のニューロンが傷害部に移動するかを解析した。傷害部へのニューロンの移動を制御する分子メカニズムを解明し、これを応用した移動の足場を傷害脳に移植することで、神経再生を促進できるかを評価した。

(2) 早産モデル

早産モデルマウスを用いた。シングルセル遺伝子発現解析を行い、早産が脳室下帯細胞に引き起こす遺伝子発現変化を解明した。

4. 研究成果

(1) 凍結脳傷害モデル

凍結脳傷害モデルマウスでは、大脳皮質のニューロンやグリア細胞が脱落・壊死する病変が観察された。健常マウスでは放射状グリア細胞は生後急速にその突起を退縮させるが、凍結脳傷害後には突起が退縮せず、維持されることが判明した。また傷害脳では、この維持された放射状グリア細胞の突起を足場として、脳室下帯由来のニューロンが傷害部に向かって移動していることがわかった。さらに、放射状グリア細胞を模倣した人工足場を傷害後に移植することによって脳傷害部への新生ニューロンの移動が増強され、神経機能が回復することが明らかとなった。

(2) 早産モデル

脳室下帯から単一細胞懸濁液を調整し、10x chromium を用いたシングルセル遺伝子発現解析を行った。脳室下帯に存在する複数の細胞種がそれぞれ異なるクラスターとして識別でき、高い精度で解析ができていることを確認した。特に神経幹細胞である放射状グリア細胞に注目し、早産によって変動する候補分子を探索した。これら分子の機能解析実験も同時に進めており、今後は早産において生後の神経幹細胞機能を賦活化する治療法の開発につなげていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	齋藤 伸治 (Saitoh Shinji) (00281824)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	
研究分担者	神農 英雄 (Jinnou Hideo) (40788387)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	

	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
研究協力者	澤本 和延 (Sawamoto Kazunobu)		
研究協力者	川瀬 恒哉 (Kawase Koya)		
研究協力者	中村 泰久 (Nakamura Yasuhisa)		

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
---------	---------