

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07535

研究課題名(和文) 老化脳室下帯の解析による神経新生ベストマトリクス環境の探索

研究課題名(英文) Study for the best matrix environment for neurogenesis in the aged subventricular zone

研究代表者

平澤 恵理 (Arikawa-Hirasawa, Eri)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50245718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、老化による神経新生シグナルの減弱をレスキューする糖鎖修飾/細胞外環境を示し、現存治療を補完する新規治療方法を探ることである。HS鎖の6位硫酸化を細胞外で脱硫酸化する修飾するSulf1/2は、ヘパリン親和性因子のHSPGへの結合を細胞外において調節し、因子のシグナル伝達を巧妙に制御するとされるが、個々の生命事象における詳細はまだまだわかっていない。本研究ではSulf1 / 2 DKOを使用し、Sulfと神経新生の直接の関与と関連分子機構を明らかにすることにした。Sulf1 / 2 DKOマウスの老化個体を解析し、脳室下帯の部位により硫酸化に特異的パターンがある可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成体神経新生の存在が示され、神経変性疾患治療の選択肢が広がることに期待が高まった。しかし、加齢に伴い神経新生領域の一つである脳室下帯(SVZ)では神経新生が減弱することが知られ、ニューロンの存在環境は極めて厳しいとされる。本研究により、老化による神経新生シグナルの減弱をレスキューする糖鎖修飾/細胞外環境(ベストマトリクス環境)が示されれば、細胞、遺伝子治療を補完する新規治療方法を探ることが可能になる。超高齢社会における神経再生の一助となると期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to show a sugar chain modification that rescues the attenuation of neurogenesis signals due to aging, and to explore new therapeutic methods that complement cell and gene therapy. We have so far verified that the expression pattern and sugar chain modification of heparan sulfate proteoglycan (HSPG) are changed in mouse aging SVZ, and the fate control of stem cells is changed. We reported a decrease in proteoglycan groups and an increase in extracellular sulfatase Sulf1 and 2 using them as substrates. Sulf1 / 2, which modifies the 60-sulfatio of the HS chain to desulfurize extracellularly, regulates the binding of heparin-affinity factors such as GDNF, HGF, and FGF to HSPG extracellularly, and cleverly signals the signals of these factors. However, the details of individual life events are still unknown. Therefore, in this study, we use Sulf1 / 2 DKO to clarify the direct involvement of Sulfur and neurogenesis and the related molecular mechanism.

研究分野：細胞生物学

キーワード：成体神経新生 脱硫酸化酵素 ヘパラン硫酸プロテオグリカン 糖鎖修飾 細胞外マトリクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1980年代後半に成体神経新生の存在が示され、神経変性疾患治療の選択肢が広がることに期待が高まった。しかし、加齢に伴い神経新生領域の一つである脳室下帯 (SVZ) では神経新生が減弱することが知られ、ニューロンの存在環境は極めて厳しいとされる。本研究の目的は、老化による神経新生シグナルの減弱をレスキューする糖鎖修飾/細胞外環境を示し、細胞、遺伝子治療を補完する新規治療方法を探ることである。申請者はこれまでに、マウス老化 SVZ ではヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) の発現パターンや糖鎖修飾が変化し、ステムセルの運命制御が変化していることを検証し、ヘパラン硫酸 (HS) 鎖の 6 位硫酸基の減少とこれを基質とする脱硫酸化酵素 Sulf1 及び 2 の増加を報告した。認知症やパーキンソン病等、加齢によりリスクが高まる疾患は、社会の超高齢化に伴い必然的に増加する。これらの疾患に対する特異的治療が開発される一方、“神経新生のモジュレーション” は根治的治療の可能性を探る重要な選択肢の一つである。認知症や精神疾患等、神経ネットワーク形成に異常が推定される疾患においてもその応用が期待される。近年神経ネットワークの可塑性に糖鎖の硫酸化修飾の関与が示されるなど、神経機能のチューニングにおける糖鎖修飾の活用が注目されている。老化の本質をチューニングの乱れと考えると非常に興味深い。加齢により神経ステムセルの維持、新生ニューロンへの分化とその生存が極めて低下することが知られ、iPS 細胞を使った再生医療を含む神経再生の夢への大きな障壁の一つである。組織の老化制御は社会的にも生命科学的にも喫緊の重要課題である。

2. 研究の目的

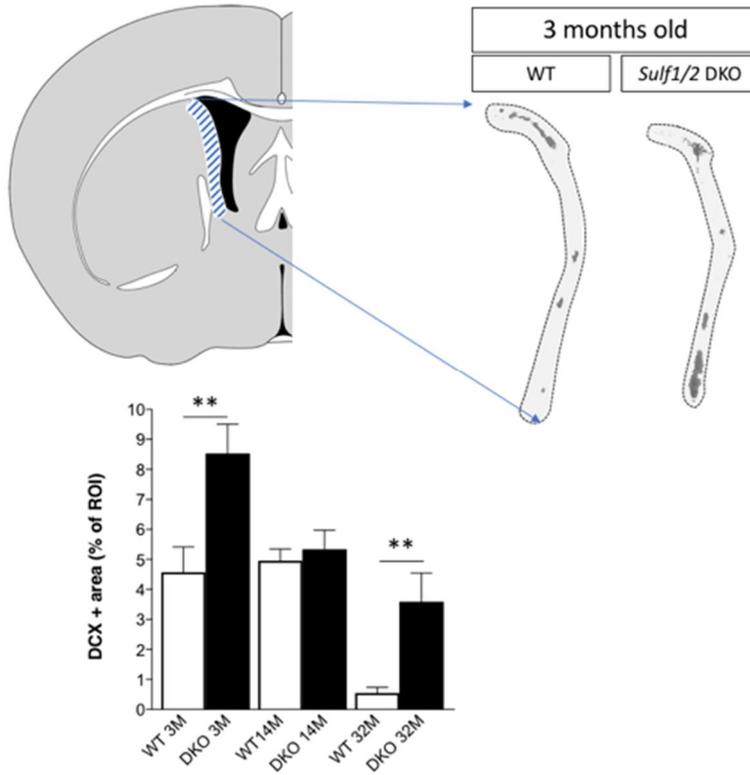
本研究の目指すものは、細胞外環境の視点から老化成体神経新生領域の神経新生減弱の原因を解明し、脳疾患を治療への選択肢の一つを提示することである。本研究では細胞外酵素 Sulf1/2 単独及び 2 重遺伝子欠損マウスを使用し、Sulfs と神経新生の直接の関与と関連分子機構を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

HS 鎖は二糖単位からなるが、その組成、直鎖の長さおよび硫酸化のパターンに多様性を持ち、HS 鎖の硫酸化の位置および程度によりそのタンパク質リガンドとの結合が制御されていると考えられている。特に、HS 鎖のグルコサミン残基 6 位の硫酸化は多くのリガンドタンパク質の HS 鎖結合に必須であり、triS 構造 (2S6SNS) と 2SNS 構造ではシグナル伝達が異なることが知られる。そこで 6S を除去する細胞外酵素 Sulf1/2 単独及び 2 重遺伝子欠損マウス (Sulf1/2DKO) とコントロール (C57BL/6 マウス) を用いた解析を行った。Sulf1/2DKO マウスコントロールマウスの生後 3 ヶ月、14 ヶ月齢雄を用いて SVZ における神経幹細胞の増殖、分化能を免疫組織科学的に検証した。老齢マウスとして 32 ヶ月齢雄マウスを解析した。糖鎖構造に関しては、van Kuppevelt 博士から供与された糖鎖特異的抗体を用いて解析した。

4 . 研究成果

糖鎖特異的抗体による解析により、Sulf1/2DKO マウスの SVZ のフラクトン(fractone)は、より高い6位の硫酸化が示された。また、糖鎖特異的抗体の染色性の特異性から、SVZ の部位により硫酸化に特異的パターンがある可能性が示唆された。、Sulf1/2DKO マウスの老化 SVZ でより多くの DCX 陽性細胞が観察され、Sulf1/2DKO の成体神経新生領域において、神経新生能がより保たれている可能性が示唆された(論文 Glycobiology 再査読中)。下に各月齢で、DCX 陽面積 (ROI) を比較した図を添付する。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshimura Yusuke, Ishijima Muneaki, Ishibashi Masayoshi, Liu Liz, Arikawa-Hirasawa Eri, Machida Shuichi, Naito Hisashi, Hamada Chieko, Kominami Eiki	4. 巻 24
2. 論文標題 A nationwide observational study of locomotive syndrome in Japan using the ResearchKit: The Locomonitor study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 1094 ~ 1104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2019.08.009	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 YAMADA TAIHEI, KEREVER AURELIEN, ARIKAWA-HIRASAWA ERI	4. 巻 65
2. 論文標題 Aging of Extracellular Matrix in Adult Neurogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Juntendo Medical Journal	6. 最初と最後の頁 39 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14789/jmj.2019.65.JMJ18-R19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura Kuniyuki, Ikeuchi Tomoko, Nara Kazuki, Rhodes Craig S., Zhang Peipei, Chiba Yuta, Kazuno Saiko, Miura Yoshiki, Ago Tetsuro, Arikawa-Hirasawa Eri, Mukouyama Yoh-suke, Yamada Yoshihiko	4. 巻 218
2. 論文標題 Perlecan regulates pericyte dynamics in the maintenance and repair of the blood?brain barrier	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 3506 ~ 3525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.201807178	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 Vega Susana, Kondo Akihhide, Suzuki Mario, Arai Hajime, Jiapaer Shabierjiang, Sabit Hemragul, Nakada Mitsutoshi, Ikeuchi Tomoko, Ishijima Muneaki, Arikawa Hirasawa Eri, Yamada Yoshihiko, Okada Yasunori	4. 巻 145
2. 論文標題 Fibulin 7 is overexpressed in glioblastomas and modulates glioblastoma neovascularization through interaction with angiopoietin 1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2157 ~ 2169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.32306	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 SUZUKI YUJI, KEREVER AURELIEN, TANAKA TAKAHIRO, HIGASHI KYOHEI, ARIKAWA-HIRASAWA ERI	4. 巻 65
2. 論文標題 The Structural and Compositional Changes of Chondroitin Sulfate Chains in the Aged Mouse Hippocampus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Juntendo Medical Journal	6. 最初と最後の頁 64 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14789/jmj.2019.65.JMJ18-OA13	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikeuchi T, de Vega S, Forcinito P, Doyle AD, Amaral J, Rodriguez IR, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y	4. 巻 Dec 5;8(1):
2. 論文標題 Extracellular Protein Fibulin-7 and Its C-Terminal Fragment Have In Vivo Antiangiogenic Activity.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 17654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-36182-w.	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 Yamashita Y, Nakada S, Yoshihara T, Nara T, Furuya N, Miida T, Hattori N, Arikawa-Hirasawa E.	4. 巻 May 17;8(1)
2. 論文標題 Perlecan, a heparan sulfate proteoglycan, regulates systemic metabolism with dynamic changes in adipose tissue and skeletal muscle.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 7766
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 Irie R, Kamagata K, Kerever A, Ueda R, Yokosawa S, Otake Y, Ochi H, Yoshizawa H, Hayashi A, Tagawa K, Okazawa H, Takahashi K, Sato K, Horii M, Arikawa-Hirasawa E, Aoki S.	4. 巻 Apr 10;17(2)
2. 論文標題 The Relationship between Neurite Density Measured with Confocal Microscopy in a Cleared Mouse Brain and Metrics Obtained from Diffusion Tensor and Diffusion Kurtosis Imaging.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Magn Reson Med Sci	6. 最初と最後の頁 138-144.
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 Okada, T., Keino-Masu, K., Suto, F., Mitchell, K.J., Masu, M.	4. 巻 1710
2. 論文標題 Remarkable complexity and variability of corticospinal tract defects in adult Semaphorin 6A knockout mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Res	6. 最初と最後の頁 209-219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainres.2018.12.041.	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 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 秋葉星哉、中田智史、山下由莉、須藤壘、水野 一乗、平澤恵理
2. 発表標題 3次元筋細胞培養における細胞外マトリックスの役割
3. 学会等名 第51回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下由莉、山田崇弘、右田王介、大西聡、大橋博文、野中里紗、大野欽司、西村玄、池川志郎、服部信孝、平澤恵理
2. 発表標題 erlaccan分子からみたSchwartz-Jampel syndromeとDyssegmental dysplasia分類の検討
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aurelien Kerever、田中貴大、加藤可那、鈴木佑治、平澤恵理
2. 発表標題 hondroitin sulfate structure bound to immature oligodendrocyte impacts dendritic spine morphology in the somatosensory cortex.
3. 学会等名 第51回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 6.Kerever A, Nagahara F, Keino-Masu K, Masu M, Toin van Kuppevelt T, Arikawa-Hirasawa E
2. 発表標題 Endosulfatases modify the heparan sulfate composition of fractones in the subventricular zone neurogenic niche.
3. 学会等名 Proteoglycans2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 7.Kato K, Suzuki Y, Kerever A, Arikawa-Hirasawa E
2. 発表標題 Oligodendrocyte cell line culture on decellularized brain tissue: a new model to investigate cell/ECM interaction
3. 学会等名 Proteoglycans2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 佑治Kerever Aurelien 加藤 可那、山下 由莉、服部 信孝、平澤(有川)恵理
2. 発表標題 Expression pattern of chondroitin sulfate matrix in the autism spectrum disorder mouse model brain
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会 平成30年5月23日札幌
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤可那、ケレベール オレリアン、鈴木佑治、平澤(有川)恵理
2. 発表標題 脱細胞脳組織を用いた3次元神経新生モデルの最適化
3. 学会等名 自閉症モデルマウス大脳皮質体性感覚野におけるコンドロイチン硫酸構造の欠損とオリゴデンドロサイト分化パターンの関連
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大野竜暉、吉村祐輔、辻裕介、オレリアン・ケレベール、平澤(有川)恵理
2. 発表標題 脱細胞脳組織を用いた3次元神経新生モデルの最適化
3. 学会等名 50回日本結合組織学会 福岡
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sayaka Hashimoto, Takuya Okada, Ken Miya, Kazuko Keino-Masu, Masyauki Masu
2. 発表標題 Developmental defects of the habenula-interpeduncular circuit in double knockout mice for heparan sulfate endosulfatases Sulf1/2
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuko Keino-Masu, Chika Kato, Yuta Mitani, Yasunori Hayashi, Masafumi Muratani, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Hideki Katoh, Masayuki Masu
2. 発表標題 Molecular analysis of the mutant gene for the peroneal muscular atrophy mouse
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会(国際学会)
4. 発表年 2018年

〔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	榎 和子 (Keino-Masu Kazuko) (50344883)	筑波大学・医学医療系・講師 (12102)	

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