

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：10105

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K14834

研究課題名（和文）マウス脳内におけるコンドロイチン硫酸含有グリア構造の時空間的分布解析

研究課題名（英文）Histological analysis of distribution of chondroitin sulfate-containing glial structures in the mouse brain

研究代表者

近藤 大輔（Kondoh, Daisuke）

帯広畜産大学・畜産学部・准教授

研究者番号：90708364

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）：神経の可塑性に影響を与えるコンドロイチン硫酸含有グリア構造（CSG）について、マーカー（レクチンVVA）を用いて、ICRマウス大脳皮質内における局在を追究した。陽性反応は特に白質領域に広く見られたが、4週齢のマウスと比較して12週齢ではその強度が大きく減弱した。一方で、海馬台および梨状皮質1a層ではVVA強陽性が維持され、この2領域での成体におけるCSGの機能性が示唆された。また成体において、CSGに囲まれるGABA作動性バスケット細胞の割合は古・原・中間皮質の順に増加しており、本細胞が特に高次皮質の抑制性制御に重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非細胞性グリアは近年、神経細胞の可塑性や発火に影響を与えることが明らかになりつつあり、その知見の重要性は増している。コンドロイチン硫酸含有グリア構造（CSG）は神経の可塑性や軸索の伸長を物理的に抑制していることが知られる。海馬台および梨状皮質1a層はそれぞれ、海馬における記憶情報と嗅球における嗅覚情報の出力路である。本成果はその経路形成がCSGによる検閲を経た上で厳密に制御されていることを裏付ける知見であり、大脳皮質内の連絡路の形成メカニズムに迫るのみでなく、記憶に関する病態の理解の一助ともなるものである。

研究成果の概要（英文）：The localization of chondroitin sulfate-containing glial structures (CSG) that affect neuroplasticity in the cerebral cortex was examined in ICR mice using a marker (lectin VVA). VVA positive reaction was widely observed in the white matter region, but the intensity was significantly reduced at 12-week-old compared to 4-week-old. On the other hand, the subiculum and the layer Ia of the piriform cortex remained strongly positive for VVA, suggesting the functionality of CSG in these two regions in adults. In adults, the ratio of CSG-surrounded GABAergic basket cells increased in the order of paleo-, proto-, and meso-cortices, suggesting that these cells are particularly important for the inhibitory control of higher-order cortices.

研究分野：神経解剖学

キーワード：糖鎖 コンドロイチン硫酸 非細胞性グリア 大脳皮質 古皮質 原皮質 中間皮質 バスケット細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 脳内における非細胞性グリア構造は従来、神経細胞の間隙を埋める成分として認識されてきたが、近年では神経細胞の可塑性や発火に影響を与えていることが分かってきた。この非細胞性グリア構造は均一ではなく、含有するグリコサミノグリカン鎖などによって多様であり、性質の異なるグリア構造が脳内に混在している。しかしながら、その分布に関する詳細な知見は乏しい。

(2) 大脳新皮質や海馬において、コンドロイチン硫酸を含む特殊な非細胞性グリア構造 (CSG) が存在し、神経の可塑性を抑制的に制御していることが報告されている。この構造はレクチン VVA を用いた染色によって可視化され、GABA 作動性バスケット細胞などの周囲に認められる。

(3) VVA 陽性グリア構造に関する報告は、大脳新皮質と海馬領域 (原皮質) 以外の領域では少なく、詳細な研究が望まれている。

### 2. 研究の目的

(1) VVA 陽性グリアが広域に分布する範囲を各発生・発育ステージで追跡する。また、4つの異なる皮質領域 (新・中間・原・古皮質) での VVA 陽性グリアに囲まれた神経細胞の比率を詳細に比較する。

(2) CSG の産生細胞とその局在を明らかにすることで、この特殊なグリア構造の時空間的な脳内分布の調節メカニズムを追跡する。

(3) 目的(1)と(2)の知見から、グリア構造の異常が報告されている神経疾患の発症メカニズムの解明につなげる。

### 3. 研究の方法

(1) ICR マウスの雄 4 週齢および 12 週齢を用いて、頭頂葉後部 (新皮質) および脳梁膨大後部 (中間皮質) 海馬 (原皮質) 後梨状皮質 (古皮質) の 4 領域が同一切片に含まれる前頭断切片を作成した。これらの切片にレクチン VVA を用いた組織化学を行い、発育による CSG が分布する範囲の変化について検討した。また、抗パルプアルブミン (PV) 抗体との二重染色を行い、各層ごとの全細胞数に対するバスケット細胞の比率を比較した。

(2) 目的(3)に関連して、グリアに関する研究の病態への応用を検証するため、先天性水頭症の自然発症モデルの候補であるコットンラットについて、脳内の組織病態を追跡した。

### 4. 研究成果

(1) CSG の分布は若齢期から成体への発育に連れて限局化する

大脳皮質における VVA 陽性反応は、4 週齢の個体では白質全域に強度に見られたが、12 週齢の個体ではその強度が減弱した (図 1、矢印)。その一方で、12 週齢の個体においても海馬台 (図 1、矢頭) および梨状皮質 1a 層 (図 1、二重矢印) は強陽性を示した。以上の結果は、CSG が神経突起を豊富に含む白質の発育に大きく関わっていることを示すと同時に、海馬における記憶情報と嗅球における嗅覚情報の出力路では、成体においても CSG が機能を有していることを示唆している。

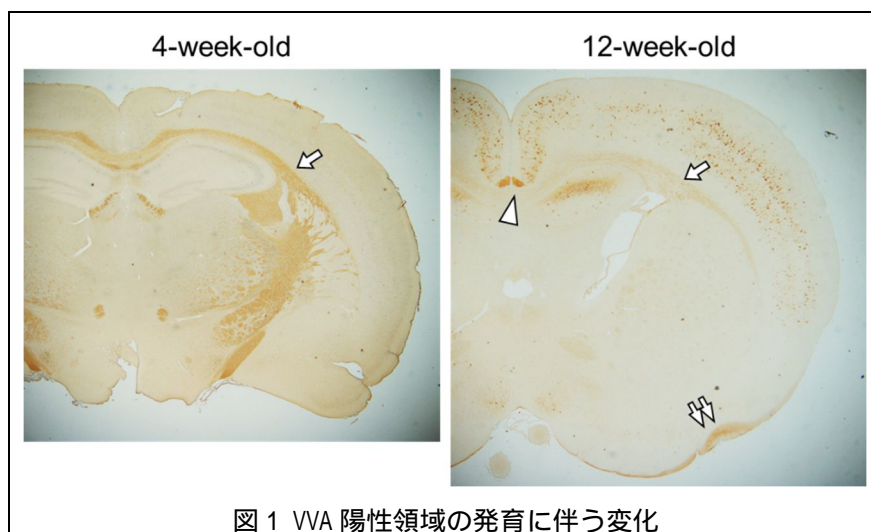


図 1 VVA 陽性領域の発育に伴う変化

(2) CSG に囲まれる GABA 作動性バスケット細胞の割合は古・原・中間皮質の順に増加する

全ての皮質領域において、VVA 陽性の CSG に囲まれる細胞の 90% 以上が PV を発現しており、GABA 作動性バスケット細胞であることが示された(図 2、矢印と挿入図)。この細胞の全細胞に対する割合は、梨状皮質(古皮質) 海馬(原皮質) 脳梁膨大後部(中間皮質)の順で増加した(図 2、グラフ)。新皮質では領域によるばらつきが大きいため数値化できなかったが、中間皮質の分布と同程度に認められた。この知見は、CSG に囲まれるバスケット細胞が特に高次皮質の抑制性制御に重要であることを示唆している。

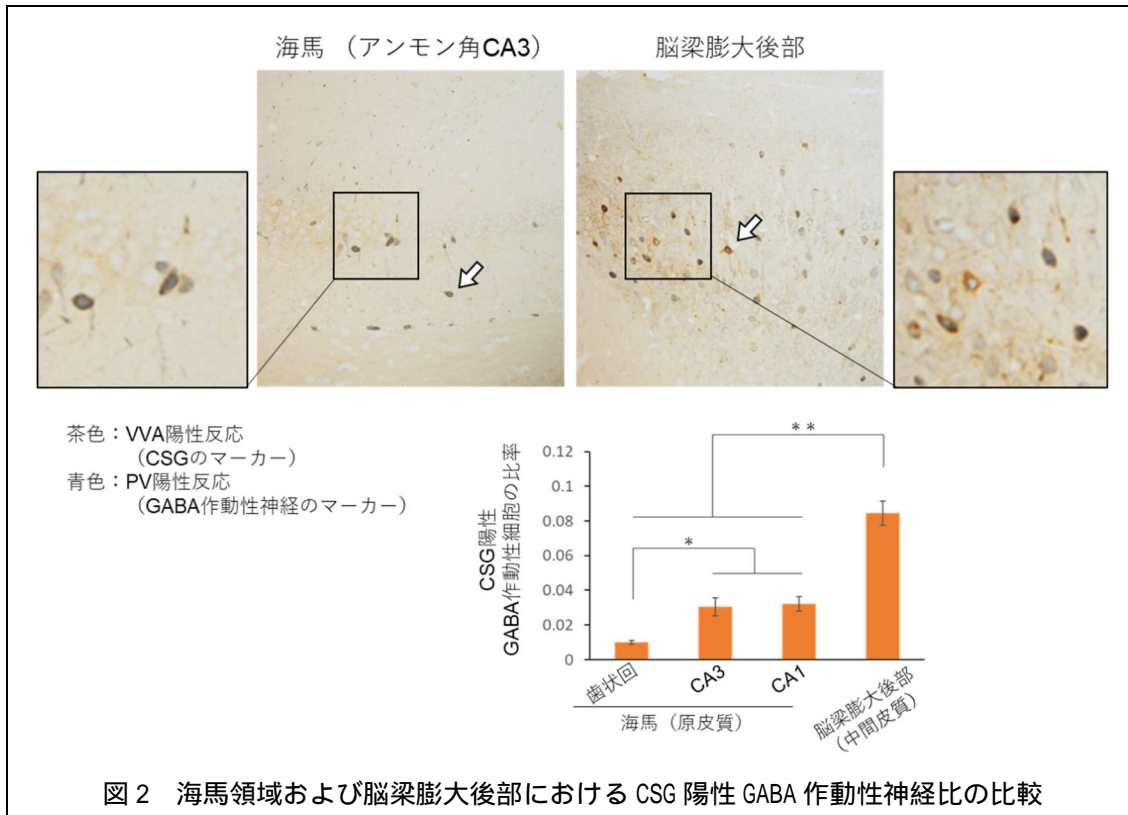


図 2 海馬領域および脳梁膨大後部における CSG 陽性 GABA 作動性神経比の比較

成果(1)および(2)については、現在学術誌への投稿準備中である。

(3) 水頭症モデルの特徴的な病態として大脳新皮質のグリア構造が減少している

先天性の水頭症が高頻度で認められるコットンラットについて、ほぼ無症状の正常圧水頭症が高頻度(30%以上)で発生していることを明らかにし、本種が有用な水頭症の自然発症モデルであることを提唱した。さらに当該個体では、大脳新皮質の第V層において、非細胞性グリア構造が顕著に減少していることを発見し(図3)自然発症した水頭症の特徴的な病態であることを確認した。

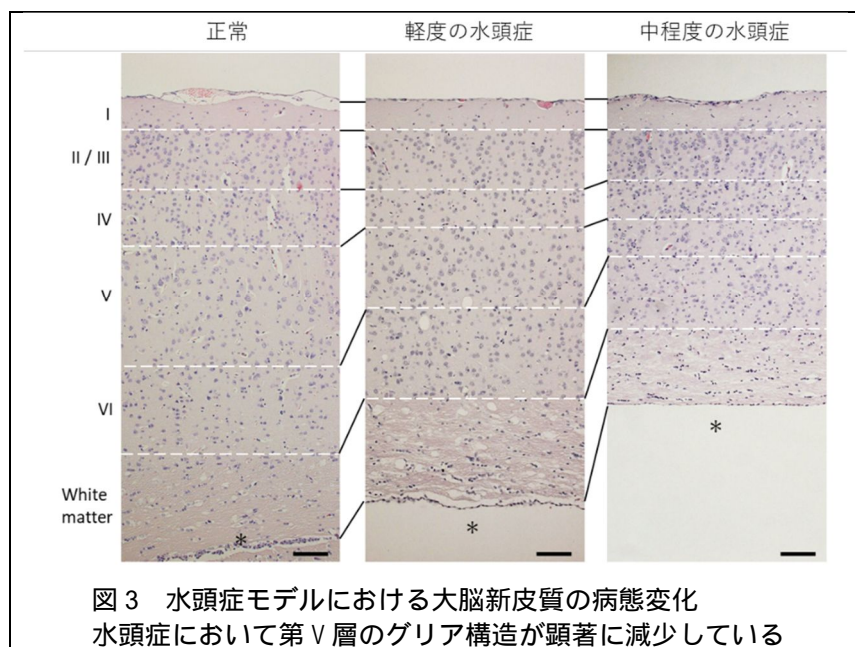


図 3 水頭症モデルにおける大脳新皮質の病態変化  
水頭症において第V層のグリア構造が顕著に減少している

本成果は査読付き国際誌「Neuropathology」で発表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kondoh Daisuke, Nakamura Teppei, Tsuji Erika, Hosotani Marina, Ichii Osamu, Irie Takao, Mishima Takashi, Nagasaki Ken ichi, Kon Yasuhiro	4. 巻 42
2. 論文標題 Cotton rats ( <i>Sigmodon hispidus</i> ) with a high prevalence of hydrocephalus without clinical symptoms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 16 ~ 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12776	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 Kondoh Daisuke, Tomiyasu Jumpei, Itakura Raito, Sugahara Mizuho, Yanagawa Masashi, Watanabe Kenichi et al.	4. 巻 122
2. 論文標題 Comparative histological studies on properties of polysaccharides secreted by vomeronasal glands of eight Laurasiatheria species	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Histochemica	6. 最初と最後の頁 151515 ~ 151515
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.acthis.2020.151515	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 Daisuke Kondoh, Motoki Sasaki, Nobuo Kitamura	4. 巻 373
2. 論文標題 Age-dependent decrease in glomeruli and receptor cells containing 1-2fucose glycan in the mouse main olfactory system but not in the vomeronasal system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell and Tissue Research	6. 最初と最後の頁 361-366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00441-018-2819-9	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 近藤大輔、富安洵平
2. 発表標題 哺乳類の鋤鼻腺から分泌されるムコ多糖は中性か酸性か？
3. 学会等名 日本獣医学会 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020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
研究協力者	北村 延夫  (Kitamura Nobuo)		
研究協力者	佐々木 基樹  (Sasaki Motoki)		
研究協力者	久保田 彰  (Kubota Akira)		
研究協力者	川合 佑典  (Kawai Yusuke)		

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