

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06921

研究課題名（和文）延髄に存在す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 medulla oblongata

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） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：成体脳では神経幹細胞が存在しないと考えられていたが、20年前に海馬や側脳室下帯においてその存在が証明された。神経幹細胞は、脳部位に固有の機能維持に必要なだけでなく、その増殖抑制は脳疾病発症の原因であることも明らかになった。さらに、神経幹細胞は脳損傷時に損傷部位へ新しい神経やグリア細胞を供給する働きもある。本研究では延髄において、神経幹細胞が存在することを明らかにした。さらに、延髄における神経幹細胞の基礎的機能を解明した。また、細胞の増殖が摂食、運動、コルチコイドやレプチン処理などの刺激により変化すること、並びに延髄出血により神経幹細胞の増殖が促進されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成体脳の延髄には神経幹細胞が存在していないと考えられてきたが、申請者は延髄にも神経幹細胞が存在することを発見した。しかし、延髄における神経幹細胞については、その存在がようやく明らかにされたばかりで国内だけでなく世界でも機能解析についての研究報告は皆無に等しい。よって、本研究は延髄においても神経新生が生じ、生命維持に必須の役割を果たしていることを明らかにしようとするもので、世界レベルで新たな潮流を作り出す可能性がある。

研究成果の概要（英文）：It has been believed for long time that neural stem cells (NSCs) never exist in adult mammalian brains. During the last two decades, the presence of NSCs are demonstrated in the subgranular zone and subventricular zone. NSCs have specific functions in each brain regions and inhibition of NSC proliferation results in various brain-associated diseases. NSCs are able to supply new neurons and glial cells to repair damaged brain areas. The present study demonstrated the fundamental property of astrocyte-like and tanycyte-like NSCs in the medulla oblongata. Moreover, proliferation of NSCs was changed by chronic running, treatment of corticosterone or leptin, and their proliferation was increased by medullary hemorrhage.

研究分野：脳神経科学

キーワード：神経幹細胞 脳 延髄 再生 分化

1. 研究開始当初の背景

成体脳における神経幹細胞の存在が報告されて以来、神経幹細胞の重要性と意義が数多く報告されている。海馬では、神経新生が記憶・学習に関与しており、神経新生の低下は記憶や学習能力の減弱だけでなくうつ様症状を誘起することが知られている。側脳室下帯の神経幹細胞は、嗅球に新しい神経細胞を送ることで嗅覚情報の記憶に関与している。また、弓状核の神経幹細胞は、エネルギーバランスを制御し神経新生の低下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。神経幹細胞のもう一つの重要な働きは、脳の修復機能である。例えば、大脳皮質が損傷を受けた時には、側脳室下帯の神経幹細胞は移動先を嗅球から損傷部位へ変更して、神経やグリア細胞を供給するようになる。このように、神経幹細胞は成体脳を正常に維持するだけでなく、損傷した脳の修復機能もあり、脳神経科学における重要な研究課題である。

一方、近年まで、成体脳の延髄には神経幹細胞が存在しないと考えられてきた。しかし、申請者は、脳室周囲器官と総称される部位のひとつである延髄・最後野にあるアストロサイトと中心管といわれる脳室を囲む上皮細胞が神経幹細胞であることを明らかにした。よって、申請者が発見した延髄における神経幹細胞の存在は、既知の3部位とはまったく異なる機能を持つと考えられる。よって、延髄における神経幹細胞を研究することは、成体脳における神経幹細胞研究の“4番煎じ”ではなく学術的独自性と独創性が高いものである。

2. 研究の目的

成体脳における神経幹細胞の機能は、脳部位に固有のものである。しかし、延髄における神経幹細胞の基礎的な特徴と機能については全く研究報告がない。そこで、まず延髄に存在する astrocyte 様と tanycyte 様の神経幹細胞の基礎的特徴、特に違いについて調べる。次に、延髄には、生命を維持する上で極めて重要な中枢がある。例えば、運動・感覚、呼吸器系・消化器系・排泄器系などの制御あるいは中継中枢である。よって、延髄の神経幹細胞は生命維持に必須の機能を有すると考えられ、これらの機能と関連して

いるか否かを明らかにする。また、延髄の神経幹細胞は損傷時における組織修復に関与することも明らかにする。

3 . 研究の方法

動物レベル

Nestin-CreERT2/CAG-CATloxP/loxP-EGFP トランスジェニックマウスを用いて神経幹細胞特異的に EGFP を発現させ、延髄のどの部位に新しい神経やグリア細胞を供給しているか調べる。また、BrdU を用いた免疫組織化学により同様の検討を行った。増殖や分化が特定する必要性ある。

培養レベル

Neurosphere assay により Neurosphere 形成を調べることで、神経幹細胞を特定する。さらに、増殖スピードや神経やグリア細胞への分化を調べる。

4 . 研究成果

- 1) 延髄にオリゴデンドロサイトを選択的に死滅させる薬物である lysolecitin を局所注入し、新規のオリゴデンドロサイト供給を調べた。その結果、最後野と中心管の神経幹細胞の増殖には影響がなかった。しかし、内在性のオリゴデンドロサイト前駆細胞が VEGF 並びに PDGF 依存的に増殖し、新しいオリゴデンドロサイトを供給していることが分かった。一方、多発硬化症の動物モデルでは、延髄全体に脱髄が生じ、神経幹細胞由来のオリゴデンドロサイト供給が認められた。以上より、損傷スケールが小さい場合は近傍の内在性前駆細胞が新しいオリゴデンドロサイトを供給するが、損傷スケールが大きい場合は神経幹細胞からの供給もあることが示された。

Hiratsuka et al., Journal of Neuroimmunology 2018, 319; 41-54.

Hiratsuka et al., Journal of Neuroimmunology 2019, 332; 176-186.

- 2) 中心管と呼ばれる脳室は延髄全域に分布しており脊髄まで繋がっている。本研究では、この中心管に幅広く神経幹細胞が存在していることを Nestin-Cre:ER-EGFP transgenic マ

ウスと BrdU を用いた増殖アッセイにより証明した。さらに、コラゲナーゼを用いた脳出血モデルにおいて、中心管の神経幹細胞が増殖を活発になることを証明した。

Furube et al., Scientific Reports 2020, 10; 2826.

- 3) 延髄最後野の神経幹細胞の増殖について、ストレスとの関連性について調べた。自由運動は、海馬神経幹細胞の増殖を促進しましたが、延髄最後野では逆に増殖を抑制しました。また、副腎皮質ホルモン投与は、海馬神経幹細胞の増殖に影響を与えませんでした。延髄最後野では増殖を顕著に抑制しました。以上の結果は、最後野の神経幹細胞増殖は海馬と根本的に異なることが分かりました。

Nambu et al., Neuroscience Letters 2021, 748; 135732.

- 4) 延髄最後野のアストロ様と中心管のタニサイト様の神経幹細胞について、in vivo 並びに in vitro で増殖活性を調べた。アストロサイト様神経幹細胞は、タニサイト様神経幹細胞に比較して増殖活性が高いことが分かった。また、アストロサイト様神経幹細胞はレプチン受容体を発現しており、レプチンにより増殖が促進されるが、タニサイト様神経幹細胞は促進されなかった。

Nambu et al., Neuroscience Research 2021, 173; 44-53..

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計22件（うち査読付論文 20件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Asami A, Kurganov E, Miyata S.	4. 巻 106
2. 論文標題 Proliferation of endothelial cells in the choroid plexus of normal and hydrocephalic mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Chem Neuroanat.	6. 最初と最後の頁 101796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jchemneu.2020.101796.	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 Takagi S, Murayama S, Torii K, Takemura-Morita S, Kurganov E, Nagaoka S, Wanaka A, Miyata S.	4. 巻 344
2. 論文標題 Depletion of microglia and macrophages with clodronate liposomes attenuates zymosan-induced Fos expression and hypothermia in the adult mouse.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neuroimmunol.	6. 最初と最後の頁 577244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneuroim.2020.577244.	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 Tanaka N, Okuda M, Nishigaki T, Tsuchiya N, Kobayashi Y, Uemura T, Kumo S, Sugimoto H, Miyata S, Waku T.	4. 巻 15
2. 論文標題 Development of a brain-permeable peptide nanofiber that prevents aggregation of Alzheimer pathogenic proteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0235979
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0235979.	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 Nambu Y, Horie K, Kurganov E, Miyata S.	4. 巻 748
2. 論文標題 Chronic running and a corticosterone treatment attenuate astrocyte-like neural stem cell proliferation in the area postrema of the adult mouse brain.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Lett.	6. 最初と最後の頁 135732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2021.135732.	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 Muneoka S, Murayama S, Nakano Y, Miyata S.	4. 巻 331
2. 論文標題 TLR4 in circumventricular neural stem cells is a negative regulator for thermogenic pathways in the mouse brain.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J ournal of Neuroimmunology	6. 最初と最後の頁 59-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneuroim.2018.04.017.	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 Murayama, Kurganov E, Miyata S.	4. 巻 334
2. 論文標題 Microglial and macrophagal TLR2 in the circumventricular organs is crucial for controlling hyperthermia and sickness responses.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J ournal of Neuroimmunology	6. 最初と最後の頁 576973
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneuroim.2019.576973.	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 Hiratsuka D, Kurganov E, Furube E, Morita M, Miyata S.	4. 巻 332
2. 論文標題 EGF- and PDGF-dependent proliferation of oligodendrocyte progenitor cells in the medulla oblongata after LPC-induced focal demyelination.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J ournal of Neuroimmunology	6. 最初と最後の頁 176-186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneuroim.2019.04.016	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 Inagaki H, Kurganov E, Park Y, Furube E, Miyata S.	4. 巻 206
2. 論文標題 Oral gavage of capsaicin causes TRPV1-dependent acute hypothermia and TRPV1-independent long-lasting increase of locomotor activity in the mouse.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiology & Behavior	6. 最初と最後の頁 213-224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.physbeh.2019.04.015.	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 Koizumi T, Taguchi K, Mizuta I, Toba H, Ohigashi M, Onishi O, Ikoma K, Miyata S, Nakata T, Tanaka M, Foulquier S, Steinbusch HWM, Mizuno T.	4. 巻 16
2. 論文標題 Transiently proliferating perivascular microglia harbor M1 type and precede cerebrovascular changes in a chronic hypertension model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12974-019-1467-7.	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 平塚大士・宮田清司	4. 巻 34
2. 論文標題 延髄の神経幹細胞による髄鞘修復「特集: 免疫性神経疾患の治療学	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 72-76
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 無
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 古部瑛莉子・宮田清司	4. 巻 34
2. 論文標題 脳室面は成体における神経幹細胞のニッチである「特集: iPS再生医療の最前線	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 65-67
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 無
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 Takagi S, Murayama S, Torii K, Takemura-Morita S, Kurganov E, Nagaoka S, Wanaka A, Miyata S.	4. 巻 344
2. 論文標題 Depletion of microglia and macrophages with clodronate liposomes attenuates zymosan-induced Fos expression and hypothermia in the adult mouse.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuroimmunology	6. 最初と最後の頁 577244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneuroim.2020.577244.	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 Fukushima S, Kurganov E, Hiratsuka D, Miyata S.	4. 巻 72
2. 論文標題 Effect of fluoxetine on proliferation and/or survival of microglia and oligodendrocyte progenitor cells in the fornix and corpus callosum of the mouse brain.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmacological Reports	6. 最初と最後の頁 340-349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s43440-020-00079-1.	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 Kawai S, Kurganov E, Miyata S.	4. 巻 38
2. 論文標題 Transient increase of microglial C1q expression in the circumventricular organs of adult mouse during LPS-induced inflammation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Biochemistry & Functions	6. 最初と最後の頁 392-400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbf.3477.	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 Furube E, Ishii H, Nambu Y, Kurganov E, Nagaoka S, Morita M, Miyata S.	4. 巻 10
2. 論文標題 Neural stem cell phenotype of tanycyte-like ependymal cells in the circumventricular organs and central canal of adult mouse brain.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-59629-5	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 Asami A, Kurganov E, Miyata S.	4. 巻 106
2. 論文標題 Proliferation of endothelial cells in the choroid plexus of normal and hydrocephalic mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Neuroanatomy	6. 最初と最後の頁 101796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jchemneu.2020.101796.	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 Yonghak P, Miyata S, Kurganov E.	4. 巻 10
2. 論文標題 TRPV1 is crucial for thermal homeostasis in the mouse by heat loss behaviors under warm ambient temperature.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8799
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-65703-9.	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 Okamoto A, Fujii R, Yoshimura R, Miyata S.	4. 巻 779
2. 論文標題 Transcytosis of tanycytes in the circumventricular organs of adult mouse brain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 136633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2022.136633.	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 Kasuga R, Shiraki C, Horikawa R, Yoshimura R, Kurganov E, Miyata S.	4. 巻 248
2. 論文標題 Role of TRPM8 in cold avoidance behaviors and brain activation during innocuous and nocuous cold stimuli	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physiology & Behaviors	6. 最初と最後の頁 113729
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.physbeh.2022.113729.	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 Torii K, Takagi S, Yoshimura R, Miyata S.	4. 巻 365
2. 論文標題 Microglial proliferation attenuates sickness responses in adult mice during endotoxin-induced inflammation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Neuroimmunology	6. 最初と最後の頁 577832
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneuroim.2022.577832.	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 Nambu Y, Ohira K, Morita M, Yasumoto H, Kurganov E, Miyata S.	4. 巻 173
2. 論文標題 Effects of leptin on proliferation of astrocyte- and tanycyte-like neural stem cells in the adult mouse medulla oblongata	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 44-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2021.05.012	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 Shiraki C, Horikawa R, Oe Y, Fujimoto M, Okamoto K, Kurganov E, Miyata S.	4. 巻 16
2. 論文標題 Role of TRPM8 in switching between fever and hypothermia in adult mice during endotoxin-induced inflammation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Brain, Behavior, and immunity - Health	6. 最初と最後の頁 100291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbih.2021.100291.	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 -

[学会発表] 計10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Kurganov E, Inagaki H, Pak Y, Furube E, Miyata S.
2. 発表標題 Oral gavage of capsaicin causes TRPV1-dependent acute hypothermia and TRPV1-independent long-lasting increase of locomotor activity in the mouse
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nambu Y, Furube E, Morita M, Miyata S
2. 発表標題 Characteristics of neural stem cells in the area postrema and central canal in mouse medulla oblongata
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Park Y, Kurganov E, Miyata S
2. 発表標題 Participation of TRPV1 in body temperature and heat loss behaviors under warm ambient temperature
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shiraki C, Okamoto K, Kurganov E, Miyata S
2. 発表標題 Participation of brain TRPM8 in LPS-induced fever and hypothermia in the mouse
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sugimoto H, Yoshida A, Kurganov E, Miyata S.
2. 発表標題 Regulation of TLR4-dependent fever by circumventricular TRPV1 in adult mouse
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Torii K, Furube E, Kurganov E, Miyata S.
2. 発表標題 Microglia proliferation in the mouse brain by TLR2- and TLR4-dependent inflammation
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮田清司、白木千夏、璃々花、大江柚希
2. 発表標題 TRPM8はエンドトキシン誘発の敗血症を緩和する
3. 学会等名 127回 日本解剖学会全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 春日梨歌、宮田清司
2. 発表標題 TRPM8によるマウスの冷温度情報感知機構
3. 学会等名 日本解剖学会、第97回、近畿支部、学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本明洋、宮田清司
2. 発表標題 タニサイトによる脳脊髄液分子の脳へのTranscytosis
3. 学会等名 日本解剖学会、第97回、近畿支部、学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀川璃々花、白木千夏、大江柚希、宮田清司
2. 発表標題 マウスのLPSによる炎症時におけるTRPM8の働き
3. 学会等名 日本解剖学会、第97回、近畿支部、学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Miyata S.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 250
3. 書名 Fenestrated Capillary and Dynamic Neuro-Glial-Vascular Reorganization of the Adult Neurohypophysis. Edition: Masterclass in Neuroendocrinology 11: Glial-Neuronal Signaling in Neuroendocrine Systems Publisher: Springer Editor: Jeffrey G. Tasker, Jaideep S. Bains, Julie A.	

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都工芸繊維大学 注目研究 https://www.kit.ac.jp/chuumokukenkyu/ 京都工芸繊維大学 応用生物学 生体機能学研究室 https://semyata.wixsite.com/kit-seitaikinou
--

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

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