

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22473

研究課題名（和文）ミクログリア - ニューロン直接分化転換機構の解明と新規脊髄損傷治療法開発の試み

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism underlying microglia-neuron direct conversion and its therapeutic application to spinal cord injury

研究代表者

中島 欽一（Nakashima, Kinichi）

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：80302892

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：多くの神経系傷害に対して、内在性の非ニューロン細胞をからニューロンに直接分化転換を誘導することで失われたニューロンを供給し、その治療に役立てようとする取り組みがなされている。この研究では、脳内免疫担当細胞であるミクログリアからニューロンへのダイレクリプログラミングのエピジェネティック修飾変換を介したメカニズムを解明した。さらに、中大脳動脈閉塞による脳梗塞モデルマウスの脳内に、転写因子NeuroD1（ND1）を発現するレンチウイルスを注入することで、損なわれた神経機能を回復させることができることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究で、ND1が、ミクログリアのヒストンバイバレント修飾（転写抑制性H3K27me3 と活性化H3K4me3 を同時に持つ）ゲノム領域に結合し、ニューロン特異的遺伝子群の発現を上昇させるという詳細なメカニズムを解明した。これは、種々の転写因子がどのように遺伝子発現を変化させるのかを明らかにするという基礎生物学の観点からも意義深いと考える。また、この方法によって、脳梗塞モデルマウスにおける損なわれた神経機能を回復できたことから、他のニューロン損失を伴う神経疾患への応用も考えられ、再生医療分野における大きな進展が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we elucidated the mechanism whereby a transcription factor NeuroD1 converts microglia into induced neuronal (iN) cells accompanied by global remodeling of microglial epigenetic signature. Furthermore, iN cells were functionally integrated into brain circuits through synaptic connections with other neurons like endogenous neurons. These findings bring us one step closer to developing therapeutic strategies for nerve injury and disease by reprogramming microglia that accumulate at lesion sites into neurons.

研究分野：神経科学

キーワード：ダイレクリプログラミング 脊髄損傷 ミクログリア ニューロン 脳梗塞

1. 研究開始当初の背景

転写因子遺伝子を終末分化した体細胞に導入することで、意図した細胞を直接的に誘導する直接分化転換法が開発されている。この技術は、iPS細胞作製を介する場合と比較して、短期間で腫瘍化の危険性も低く目的の細胞を得ることができ、当該研究及び医療応用の迅速化に貢献でき、また、生体組織内に存在する自己細胞を直接的に目的の細胞へと分化誘導できるという利点がある。そのため、必要とされる細胞種を治療が必要な時期に患者へと供給できる可能性が高い。例えば、脳梗塞や脊髄損傷後に、損傷部位に存在する本来はニューロン様活動を行わない細胞をニューロンへと分化転換することができれば、失った神経回路網の修復および機能回復が見込める。しかし、生体内損傷部に存在するどのような細胞をニューロンへと直接転換させるのがより有益であるか、あるいはメカニズムの詳細が不明なことなど未解決の問題もあり、直接転換法による神経疾患治療法は確立されていない。

2. 研究の目的

本研究では、ニューロンへと変換する内在性の細胞として、脳内免疫担当細胞ミクログリアを標的として、転写因子 NeuroD1 (ND1) の発現によるニューロンへの直接分化転換のメカニズムを明らかとすることを目的とした。さらにこのダイレクトリプログラミングにより、神経組織傷害における損なわれた神経機能を回復させる方法の開発を目指した。

3. 研究の方法

- 1) マウスミクログリアに ND1 を発現させ、免疫染色、電気生理学的解析、RNA-seq 及び ChIP-seq 解析を行った。
- 2) 脊髄損傷マウスの脊髄に ND1 発現するレンチウイルスを注入し、免疫染色にて損傷脊髄におけるミクログリア-ニューロン分化転換が誘導できるか、また後肢機能回復が見られるかを検討した。
- 3) 中大脳動脈閉塞による脳梗塞モデルマウスに ND1 発現レンチウイルスを注入し、ミクログリアからニューロンへの直接分化転換が見られるか、及び神経機能回復が見られるかを検討した。

4. 研究成果

1) マウスミクログリアに ND1 を強制発現させることによって、機能的ニューロンへと直接分化転換できることが明らかとなった。また RNA-seq や ChIP-seq 解析により、ND1 は、ミクログリアのヒストンバイバレント修飾 (転写抑制性 H3K27me3 と活性化 H3K4me3 を同時にもつ) 領域に結合し、ニューロン特異的遺伝子群の発現を上昇させることがわかった。また、ミクログリア特異的遺伝子群には、ND1 によって発現が誘導された転写抑制因子が結合し、H3K4me3 修飾を減少させ、H3K27me3 修飾を増加させることで、その発現を抑制することがわかった (図 1)。さらに、ND1 発現ウイルスをマウス線条体に注入することにより、生体内でもミクログリアからニューロンへの直接分化転換が可能であることも明らかとなった。

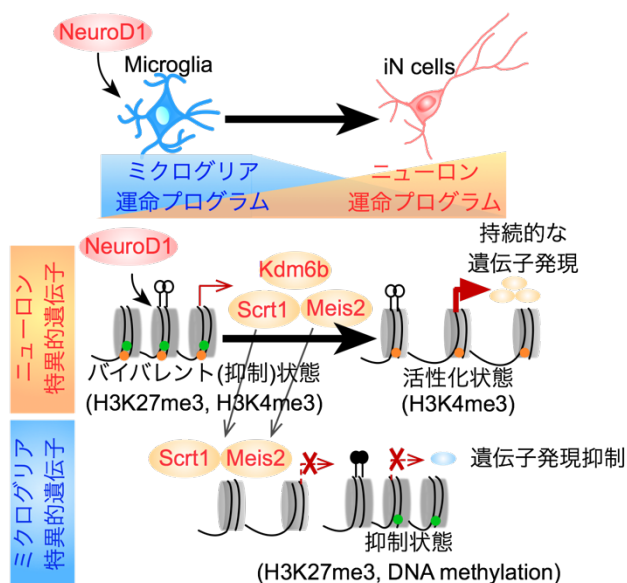


図 1 : NeuroD1 はミクログリア内のバイバレント状態にあるニューロン特異的遺伝子に結合し、ニューロン運命プログラムを発動する。ニューロン特異的遺伝子の中には転写抑制因子 (Sctrl や Meis2) も含まれ、それらはミクログリア特異的遺伝子発現に関わる転写因子の遺伝子を抑制し、ミクログリア運命プログラムを止める。

2) ND1 発現レンチウイルスの注入により、損傷脊髄内においてもミクログリア-ニューロン分化転換を誘導することができた。しかし、おそらく損傷程度と比較して誘導されたニューロン数が少ないことなどが原因で、損なわれた後肢機能を拡幅させるまでには至らなかった。今後は損傷部位を保全するような他の方法と組合せて、機能回復効果を促進させる方法の検討が必要である。

3) 一方で、損傷脊髄と同様に、損傷部位へのミクログリアが見られる脳梗塞モデルマウスの線条体に ND1 発現レンチウイルスを注入したところ、梗塞巣内においてミクログリアからニューロンへの直接分化転換を誘導でき、同時に神経機能回復を促進することができた (図 2)。

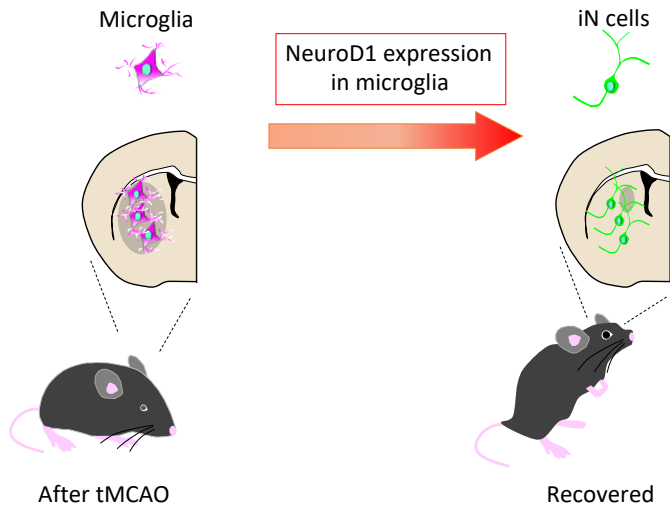


図 2：中大脳動脈閉塞による脳梗塞モデルマウス線条体への ND1 発現レンチウイルスを注入することで、損なわれた神経機能を回復させることができる。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Matsuda T, Irie T, Katsurabayashi S, Hayashi Y, Nagai T, Hamazaki N, Adefuin AMD, Miura F, Ito T, Kimura H, Shirahige K, Takeda T, Iwasaki K, Imamura T, Nakashima K.	4. 巻 101
2. 論文標題 Pioneer Factor NeuroD1 Rearranges Transcriptional and Epigenetic Profiles to Execute Microglia-Neuron Conversion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 472-485
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuron.2018.12.010	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8件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 中島 欽一
2. 発表標題 ミクログリアからニューロンへの直接分化転換による脳梗塞治療法の開発
3. 学会等名 STROKE2021（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 入江剛史、松田泰斗、林良憲、吉良潤一、中島 欽一
2. 発表標題 In vivo conversion from microglia to neurons reinstates neurological function after ischemic injury
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松田泰斗、入江剛史、中島 欽一
2. 発表標題 成体マウス脳ミクログリアから機能的なニューロンへのダイレトリプログラミング
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中島 欽一
2. 発表標題 ミクログリアからニューロンへのダイレクトリプログラミングによる脳梗塞治療法の開発
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kinichi Nakashima
2. 発表標題 Artifitial neurogenesis in the adult central nervous system and it's effect on functional recovery after injury
3. 学会等名 2nd Neuroepigenetics & Neuroepitranscriptomics (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永井辰弥、松田泰斗、入江剛史、朱沂鉞、上園直弘、中島 欽一
2. 発表標題 ミクログリアからニューロンへの直接分化転換による脊髄損傷治療法開発の試み
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松田泰斗、入江剛史、中島 欽一
2. 発表標題 成体脳ミクログリアから機能的な神経細胞へのダイレクトリプログラミング
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kinichi Nakashima
2. 発表標題 Prior inhibition of HMGB1enhances human neural stem cell transplantation-mediated functional recovery after spinal cord injury
3. 学会等名 9th International DAMPs and Alarmins Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>脳内に存在する免疫細胞から機能的な神経細胞の作製に成功 http://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/307</p>

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	松田 泰斗 (Matsuda Taito)		

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