

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：13501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K22755

研究課題名(和文) 中枢神経系免疫システムを介した脳の生活反応の解明

研究課題名(英文) Brain vital response via the central nervous immune system

研究代表者

猩々 英紀 (Shojo, Hideki)

山梨大学・大学院総合研究部・准教授

研究者番号：60284626

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)：本研究ではヒトの中枢神経系にもリンパ管が存在することを分子組織化学的に証明し、脳内へ移動する免疫細胞を特定することを目的とした。本研究期間中、新型コロナウイルス感染症の影響でヒト試料の採取が非常に困難であった。試料数が限られる中、我々はヒト中枢神経系リンパ管の画像構築を試みた。また、ヒトおよび動物試料において免疫細胞が脳内に移動しており、脳の炎症に寄与していることを示めた。これらの結果は、免疫システムを通して脳内の生活反応を明らかにすることが可能であり、これまで見過ごされてきた生活反応のマーカーを見出すことが期待されることを示唆した。現在、脳の生活反応に関する基盤研究を推進中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで中枢神経系は免疫特権領域であり、正常な状態ではリンパ球の様な免疫細胞の出入りはないと考えられてきた。しかし、マウスの硬膜静脈洞の内表面にリンパ管が発見され、正常な脳でも免疫細胞が脳とリンパ管を移動している可能性が示唆された。つまり、中枢神経系への免疫細胞の移入は病的条件下でのみ生じていると考えられてきたが、本研究は学術の現状を変革する可能性があり意義深い。一方、法医学ではこれまで見過ごされてきた免疫細胞を指標とした脳の生活反応のマーカーを見出す可能性があり重要である。また、脳の炎症・消炎に関わる免疫細胞基盤の解明は、頭部外傷などの後遺症軽減や治療法の開発において重要であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This research objectives were to prove that lymphatic vessels also exist in the human central nervous system by molecular histochemical analyses, and to identify immune cells that migrate into the brain parenchyma. During this research period, it was exceedingly difficult to collect human samples due to spread of novel coronavirus infectious disease. Although the numbers of sample were limited, we tried to construct the image of lymphatic vessels in human central nervous system using a high-resolution image analysis. Moreover, in human and animal samples, immune cells migrated into the brain parenchyma, indicated that contributed to brain inflammation. These results indicated that it was possible to reveal brain vital responses through the central nerve immune system and suggested that it will be expected to find out novel vital response markers that have been overlooked so far. Therefore, we are currently promoting basic research on the vital responses in the brain.

研究分野：法医学

キーワード：脳の生活反応 中枢神経系リンパ管 脳内免疫細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活反応(出血や細胞反応などの生体反応)は損傷が生前に生成したことを示す重要な証拠である。例えば、内因死が疑われる事故や多重轢過が疑われる交通事故などでは、生活反応の有無は重要な鑑定項目の一つである。また、免疫システムを介した生活反応の証明は、損傷機転や受傷後経過時間の解析に利用されている。ところが、免疫システムを利用した脳的生活反応の解析は殆どなかった。その理由は、これまで中枢神経系は免疫特権領域であり、正常な脳ではリンパ球の様な免疫細胞の出入りはないと考えられていたためである。

しかしながら、近年、マウスの硬膜静脈洞の内表面にリンパ管が発見され、脳脊髄液から髄液と免疫細胞の両方を輸送している事が示唆された[Nature (2015) 523: 337-341]。つまり、正常な状態でも T 細胞や樹状細胞などの免疫細胞が脳とリンパ管を移動しており、これまで見過ごされてきた免疫システムを介した生活反応のマーカーを見出す可能性があると考えられた。

2. 研究の目的

本研究ではヒトの中枢神経系にもリンパ管が存在することを分子組織化学的に証明し、脳脊髄液を介して移動する免疫細胞を特定することを目的とした。また、脳の炎症や消炎などに関わる免疫細胞基盤を明らかにし、新たな生活反応のマーカーを創出する事を目指しており、基盤研究への進展を企図した。

3. 研究の方法

研究試料

本研究ではヒト試料として法医解剖試料を用いた(臨床研究番号山梨大学: 2113、鹿児島大学: 190164 疫)。しかしながら、本研究期間中、新型コロナウイルス感染症の影響によりヒト試料の採取が非常に困難であったため、一部研究計画を変更し実験モデル動物試料を用いて解析を実施した。

ヒト中枢神経系リンパ管の検索

本研究ではヒトの中枢神経系においてもリンパ管が存在することを免疫組織化学的手法を用いて検索した。マウスを参考に、硬膜静脈洞の内表面を中心に、リンパ管、タイトジャンクション、細胞接着分子、T細胞、高内皮静脈、リンパ球、血管内皮細胞の分子マーカーを各種抗体で多重染色し、画像解析を実施した。

リンパ管を介して脳実質へ移動する免疫細胞の解析

免疫細胞が脳とリンパ管の間で双方向に移動すると仮定し、ヒト脳脊髄液および脳実質を採取後、FACS を用いて中枢神経系に存在する免疫細胞を調べた。また、実験モデル動物試料(損挫傷モデルラット)及び対照群を用いて脳損傷後に脳実質へ移動した免疫細胞を調べた。

4. 研究成果

ヒト中枢神経系リンパ管

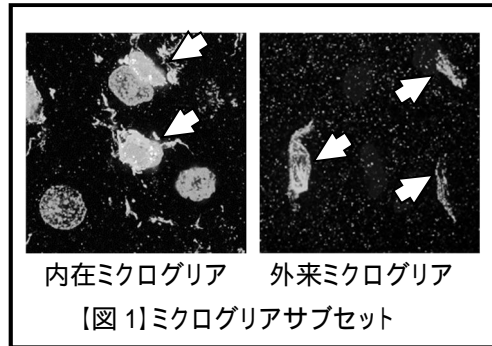
本研究期間中、新型コロナウイルス感染症の影響によりヒト試料の採取が非常に困難であった。限られたヒト固定試料標本を用いて免疫組織化学によって画像解析を実施した。現在、ヒト

中枢神経系リンパ管の画像を構築中である。

脳内免疫細胞

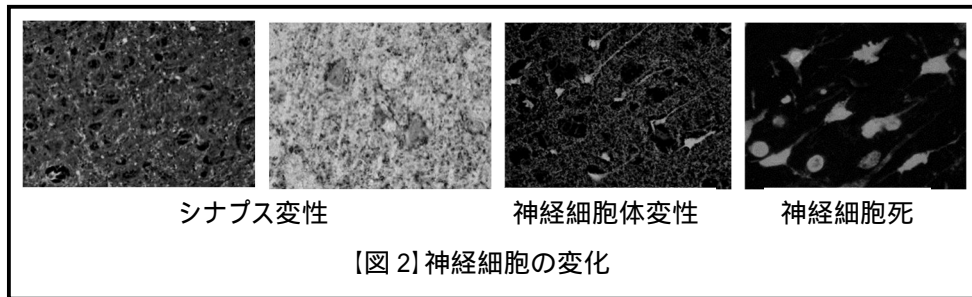
限られたヒト固定試料標本から得られた結果であるため、再現性や普遍性について再検討が必要であるが、ヒト神経変性疾患脳試料において、脳血管の破綻に伴う免疫細胞の浸潤が認められていた。

一方、損挫傷モデルラットでは、脳血管の破綻に伴って脳実質にマクロファージを始めとした免疫細胞が浸潤していた。つまり、外来ミクログリアと内在ミクログリアとが脳内に混在することを明らかに



なった【図1】。また、損傷脳では移動した免疫細胞が脳の炎症や消炎に寄与していることが示唆された【図2】。即ち、脳の炎症や消炎に関わる免疫細胞を通して、脳の生活反応を明らかにする事が可能であることを示唆していた。

以上の結果から、これまで見過



ごされてきた免疫システムを介した生活反応のマーカールを見出す可能性が強く示唆された。これらの成果に基づき、脳の生活反応に関する基盤研究を推進している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Akira Mochizuki, Noboru Adachi, Hideki Shojo	4. 巻 325
2. 論文標題 Detection of 4-FMC, 4-MeO-alpha-PVP, 4-F-alpha-PVP, and PV8 in blood in a forensic case using liquid chromatography-electrospray ionization linear ion trap mass spectrometry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Forensic Science International	6. 最初と最後の頁 110888
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.forsciint.2021.110888.	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 B Wang, Y Asayama, MO Boussejra, H Shojo, N Adachi, I Fujishiro	4. 巻 37
2. 論文標題 FORSETI: a visual analysis environment for authoring autopsy reports in extended legal medicine mark-up language	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Visual Computer	6. 最初と最後の頁 2951-2963
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00371-021-02201-7	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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 堀田哲也, 角田恒雄, 狸々英紀, 安達登
2. 発表標題 SLE既往・脾臓摘出後状態のウォーターハウス・フリデリクセン症候群の一例
3. 学会等名 第43回日本法医学会学術中部地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀田哲也, 安達 登, 角田恒雄, 狸々英紀
2. 発表標題 脾臓の低形成が発症に関与したウォーターハウス・フリデリクセン症候群の一例
3. 学会等名 第42回日本法医学会学術中部地方集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 浅山 優芽, 王 宝慶, 中山 雅紀, 猩々 英紀, 安達 登, 清木 康, 藤代 一成
2. 発表標題 THEMIS: 意味の数学モデルを用いた創傷画像類似度の成傷機転依存分析
3. 学会等名 第48回可視化情報シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤本佳那, 小泉舞, 藤井元人, 猩々英紀, 角田恒雄, 井口蘭, 齋藤正夫, 上木耕一郎, 安達登
2. 発表標題 Development of a highly sensitive sex determination method using the novel primer set
3. 学会等名 第104次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井口蘭, 大谷進, 猩々英紀, 角田恒雄, 藤本佳那, 藤井元人, 上木耕一郎, 安達登
2. 発表標題 歯から年齢がかなり正確に判るアミノ酸ラセミ化法
3. 学会等名 第104次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤井現人, 角田恒雄, 猩々英紀, 藤本佳那, 堀田哲也, 安達登
2. 発表標題 北海道および東北縄文時代人のミトコンドリアDNAハプログループ分析
3. 学会等名 日本DNA多型学会第29回学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

山梨大学大学院総合研究部法医学講座 狸々英紀
https://www.med.yamanashi.ac.jp/social/legal0me/classroom_member/shohjoh.html
researchmap
<https://researchmap.jp/read0048413>

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	林 敬人 (Hayashi Takahito) (40512497)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	
研究分担者	葛西 宏威 (Kasai Hirotake) (20324189)	山梨大学・大学院総合研究部・助教 (13501)	

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