

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔令和5（2023）年度 中間評価用〕

令和5年3月31日現在

研究期間：2021～2025  
課題番号：21H05049  
研究課題名：神経疾患における神経回路の修復機構の重層的解析  
研究代表者氏名（ローマ字）：山下 俊英（YAMASHITA Toshihide）  
所属研究機関・部局・職：大阪大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：10301269

研究の概要：

本研究では、中枢神経回路の障害、その後の修復過程を、生体システムの機能ネットワークの観点から解析し、生体システムの時空間ダイナミクスによる一連の過程の制御機構の統合的解明に取り組んだ。中枢神経回路障害と機能回復の過程を、生体システム全体のダイナミクスとして捉え、中枢神経回路障害における生体の動作原理を明らかにした。

研究分野：神経科学

キーワード：神経疾患、神経再生、神経回路

1. 研究開始当初の背景

脳血管障害、脳外傷、脊髄損傷などにより、いったん傷害を受けた中枢神経系機能は十分に回復せず、有効な治療法はいまだ存在しない。この重篤な状況を脱するには神経回路の再建、すなわち細胞死を免れた神経細胞の軸索から標的ニューロンへの新たな軸索再生が不可欠であるが、中枢神経系には軸索の再生を阻害する機構が存在している。研究代表者はこれまで損傷した神経回路の再生を負に制御する複数の因子を同定し、その分子メカニズムを明らかにした。更に研究代表者は「中枢神経軸索再生阻害機序」を制御し、神経症状を改善する作用を有する治療薬の開発を進めている。一方で、中枢神経の不完全損傷の場合には、ある程度の運動機能の回復が長い期間のうちに自然にもたらされることがある。実際に成体においても脳および脊髄で代償的な回路網の再形成が起こっている。研究代表者は、中枢神経障害の病態形成と機能回復の過程には、中枢神経系以外の生体システムが重要な役割を担っていることを見いだした。

2. 研究の目的

本研究では、中枢神経回路の障害、その後の修復過程を、生体システムの機能ネットワークの観点から解析し、生体システムの時空間的4次元ダイナミクスがどのように一連の過程を制御しているかという課題に統合的に取り組む。各臓器が、中枢神経回路障害と機能回復過程をどのように制御しているかを分子レベルで解明し、それらの動作原理を明らかにすることを到達目標とする。神経回路と生体システムの連関を全身で網羅的に観察できる最新イメージング技術を取り入れることで、戦略的に研究を進める。具体的には、全身を俯瞰できる透明化、超高感度MRI、全身連続切片を用いた生体イメージング技術を用いて、神経回路-臓器の連関の解明に資する。得られた結果を元に、病態形成と回復期における生体の反応の動作原理を見だし、各細胞群および因子の時間的・空間的な活性化による神経回路の修復機構の解明を行う。生体システムは、不完全に損傷された神経回路の破壊を進め、その後に新たな神経回路を作り出す、「スクラップ・アンド・ビルド」の戦略をとるのではないかと、中枢神経回路障害を生体システム全体の恒常性の破綻として捉え、遺伝子発現制御解析、*in vitro* での biology、そして *in vivo* 動物モデルでの検証（イメージングを含む）までの手法を有機的に統合することで、生体システムが神経回路障害を制御する全体像を明らかにする。

3. 研究の方法

生体システムが中枢神経回路障害と修復の過程をどのように制御しているかについて明らかにし、中枢神経回路障害における生体の動作原理を解明することが、本研究の到達目標である。脊髄損傷、自己免疫性脳脊髄炎(EAE)、視神経脊髄炎(NMO)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)およびハンチントンモデルマウスを用いる。これらの病態モデルを用い、各種臓器細胞群の動態と遺伝子発現の時空間的变化を解析する。さ

らに、免疫系細胞、脈管系細胞、各臓器がどのように神経回路の障害と修復を制御しているか、そのメカニズムの解析を進める。神経回路と生体システムの連関を全身で網羅的に観察できる最新イメージング技術を取り入れることで、戦略的に研究を進める。具体的には、全身を俯瞰できる透明化、超高感度 MRI、全身連続切片を用いた生体イメージング技術を用いて、神経回路—臓器の連関の解明に資する。免疫系としては helper T 細胞、B 細胞、ミクログリアに焦点を絞り、神経回路の障害と修復を制御する機構を解明する。得られた知見とともに、各細胞群の活性化による神経回路修復機構を見だし、生体の反応の動作原理を解明する。

#### 4. これまでの成果

本研究においては生体システム—神経連関に関する新たな知見を得ることができた。免疫細胞の一つであるマクロファージが中枢神経系に浸潤してRGMaを介するシグナルを受け取ることで、別の免疫細胞である好中球を呼び寄せて炎症をさらに加速させていることを見出した。脳梗塞後の急性期に浸潤する好中球が梗塞巣を拡大させることを2光子顕微鏡により観察した。好中球の集積がP-selectinに依存すること、また好中球が他の免疫系細胞の浸潤を誘導することを見出し、好中球が組織障害のトリガーとして働くことを示唆した。パーキンソンモデルマウスにおいて、RGMaがミクログリアの集積を促進することで、黒質ニューロンの細胞死を惹起することを見出した。核磁気共鳴画像法 (Magnetic resonance imaging, MRI) を用いた自己免疫性脊髄炎マウスの病態の経時的評価により、抗RGMa抗体が強力な血液脊髄関門の修復促進作用を示すことを見出した。この修復促進作用が、その後の神経症状の回復に寄与することが示唆された。上記の知見は、当初の想定を超えた大規模な生体システムの連関が神経回路の修復および破壊に貢献することを示すものである。また、神経回路の修復過程には神経系以外の生体システムが重要な役割を演じているという新たなコンセプトを確立するとともに、その全体像の解明を順調に進めることができている。

#### 5. 今後の計画

今後は特に重要な知見のみにフォーカスを絞り込んで研究を進めていく必要があると考える。以下の2点を重点事項として捉えている。

1. 新たな概念の構築に繋がるような発見を深める。
2. 中枢神経障害による神経障害を改善する治療法開発に繋がりを基礎的知見に注力する。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- ・ Shibuya, N., Itokazu, T., Ueda, T. and Yamashita, T. (2023) Intravital imaging reveals the ameliorating effect of colchicine in a photothrombotic stroke model via inhibition of neutrophil recruitment. *Trans. Stroke Res.*14, 100-110. 査読有
- ・ Iwamoto, S., Itokazu, T., Sasaki, A., Kataoka, H., Tanaka, S., Hirata, T., Miwa, K., Suenaga, T., Takai, Y., Misu, T., Fujihara, K. and Yamashita, T. (2022) RGMa signal in macrophages induces neutrophil-related astrocytopathy in NMO. *An. Neurol.* 91, 532-547. 査読有
- ・ Morita, Y., Itokazu, T., Nakanishi, T., Hiraga, S. and Yamashita, T. (2022) A novel aquaporin-4-associated optic neuritis rat model with severe pathological and functional manifestations. *J. Neuroinflamm.* 19, 263. 査読有
- ・ Hirata, T., Itokazu, T., Sasaki, A., Sugihara, F. and Yamashita, T. (2022) Humanized anti-RGMa antibody treatment promotes repair of blood-spinal cord barrier under autoimmune encephalomyelitis in mice. *Front. Immunol.* 13, 870126. 査読有
- ・ Ito, M., Muramatsu, R., Kato, Y., Sharma, B., Uyeda, A., Tanabe, S., Fujimura, H., Kidoya, H., Takakura, N., Kawahara, Y., Takao, M., Mochizuki, H., Fukamizu, A. and Yamashita, T. (2021) Age-dependent decline in myelination capacity is mediated by apelin-APJ signaling. *Nature Aging* 1, 284-294. 査読有

#### 7. ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molneu/index.htm>