

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06395

研究課題名（和文）コンドロイチン硫酸による成体脳におけるニューロン移動制御

研究課題名（英文）Regulation of adult neuronal migration by extracellular matrix molecules

研究代表者

澤田 雅人（Sawada, Masato）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：20645288

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）：成体脳においても神経幹細胞が存在し、産生された未熟なニューロンは鎖状に連なって目的地まで移動する。本研究では、細胞外マトリックス分子群による成体脳のニューロン移動の制御機構を解析することを目的とした。まず、成体脳における細胞外マトリックス分子群の発現および機能を解析し、ニューロン移動における役割を明らかにした。次に、細胞外マトリックス分子群の発現制御機構を解明した。さらに、細胞外マトリックス分子群の一つであるコンドロイチン硫酸受容体PTPsigmaの機能を明らかにした。本研究成果は、成体脳のニューロン移動の制御における細胞外マトリックス分子群の重要性を示唆するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、生後の脳におけるニューロン移動制御の新しいしくみを明らかにしたものであり、神経科学分野の重要な知見となる。また、脳傷害が生じると、生後の神経幹細胞から産生された新生ニューロンは、傷害部へと移動して失われたニューロンを再生することから、本研究の成果はニューロン再生を促進する方法の開発に貢献する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In the adult mammalian brain, newborn neurons generated from neural stem cells actively migrate toward their final destinations, where they differentiate into mature neurons and contribute to brain functions. In this study, we have studied 1) the expression patterns and functions of extracellular matrix molecules in neuronal migration in the adult brain, 2) the regulatory mechanisms for expression of extracellular matrix molecules, and 3) the function of PTPsigma and its substrate, tyrosine-phosphorylated cortactin (pY421-cortactin), on growth cone extension and subsequent migration in newborn neurons.

研究分野：神経発生・再生医学

キーワード：生後脳のニューロン新生 ニューロン移動

1. 研究開始当初の背景

近年の研究で、成体哺乳類の脳においても、ニューロン移動が観察されることが明らかになった。脳室下帯の神経幹細胞から産生された新生ニューロンは、吻側移動流(RMS)と呼ばれる特殊な移動経路を通して、嗅覚の一次中枢である嗅球へと移動する。RMSでは、新生ニューロンは鎖状に連なり、アストロサイトが形成するトンネルの中を高速で移動する。最近では、ヒト新生児脳においても、脳室下帯の新生ニューロンが嗅球や大脳皮質へと移動することが報告され、新生ニューロンの移動は生後脳の機能発達に極めて重要と考えられている。応募者はこれまで、新生ニューロンの移動・成熟過程を調節するメカニズムについて研究を進めてきた(主な成果として、*J Neurosci* 2011、*EMBO J* 2018、*J Neurosci* 2019、*Front Neurosci* 2023 など)。

ラミニンやフィブロネクチン、コンドロイチン硫酸プロテオグリカンをはじめとする細胞外マトリックス分子群は、生後脳における神経回路の維持に必須である。これらの細胞外マトリックス分子群は、発達期には成熟した神経回路の構築に関与するほか、傷害脳では、軸索の再生過程を制御することが報告されている。しかし、生理条件下における生後脳のニューロン移動における役割は不明である。

2. 研究の目的

生後脳における新生ニューロンの移動における細胞外マトリックス分子群の役割を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

- 1) 細胞外マトリックス分子群の発現: 免疫組織化学染色の手法により、マウスおよびニューロン新生の霊長類モデルであるコモンマーモセットのRMSにおける細胞外マトリックス分子群の局在および発現細胞種を解析した。
- 2) 細胞外マトリックス分子群の鎖状移動における機能: RMSに集積した細胞外マトリックス分子群のロックアウトマウスを用いて、新生ニューロンやアストロサイトの微細形態・相互作用を電子顕微鏡で解析した。また、レンチウイルスベクターを用いたニューロン・アストロサイト特異的なロックダウン実験を実施して、鎖状移動中のニューロンの動態やアストロサイトとの関係を、超解像顕微鏡を用いたタイムラプスイメージングや組織学的解析により解析した。
- 3) 細胞外マトリックス分子群の発現制御とニューロンの鎖形成機構の解析: 脳内で遺伝学的もしくは薬理的に新生ニューロンを除去した時の細胞外マトリックス分子群の発現変化を解析した。また、マトリゲルを用いた新生ニューロンの培養系を用いて、ライブイメージングにより移動するニューロンの鎖状移動の動態と効率の関係を解析した。
- 4) コンドロイチン硫酸受容体 PTPsigma の基質の同定および機能解析: RMSを移動する新生ニューロンを採取し、プロテオミクスの手法により、新生ニューロンに発現するタンパク質を網羅的に調べた。さらに、代表者が研究を進めてきたコンドロイチン硫酸受容体で膜貫通型ホスファターゼである PTPsigma の基質候補を絞り込み、ロックダウンおよび過剰発現実験や阻害剤の利用等の機能実験を実施することで、成長円錐の制御やその後のニューロン移動における役割を解析した。

4. 研究成果

- 1) 細胞外マトリックス分子群の発現: 成体マウスおよび4-6ヶ月齢のコモンマーモセットの固定脳切片を用い、各種細胞外マトリックス分子群の発現パターンを解析した。その結果、RMS には、複数種類の細胞外マトリックス分子群が濃縮すること、移動するニューロンやアストロサイトに発現が見られることを同定した。
- 2) 細胞外マトリックス分子群の鎖状移動における機能: 1) で明らかにした、RMS に集積した細胞外マトリックス分子群について、ノックアウトマウスを入手して新生ニューロンの鎖形成やアストロサイトのトンネルの微細形態・相互作用を解析した。透過型電子顕微鏡での細胞間接着の解析や、連続ブロック表面走査型電子顕微鏡を用いた三次元微細形態解析から、細胞外マトリックス分子群が生後脳のニューロン移動に関与することが示唆された。それらのニューロン移動における機能を明らかにするために、レンチウイルスベクターを用いた細胞種特異的なノックダウン実験を実施した結果、RMS におけるニューロン移動が障害されたことから、その重要性が明らかになった。さらに、超解像顕微鏡を用いてノックダウンされた細胞のライブイメージングを実施し、移動障害のメカニズムを明らかにした。
- 3) 細胞外マトリックス分子群の発現制御とニューロンの鎖形成機構の解析: 新生ニューロンを脳内から除去すると、RMS の構造はダイナミックに再編されることが報告されている。そこで、遺伝学的もしくは薬理的に新生ニューロンを脳内から除去した状況における細胞外マトリックス分子群の発現を組織学的に解析した結果、それらの発現が影響を受けることを見いだした。また、マトリゲルは脳内に存在する細胞外マトリックスを豊富に含むことから、このゲルを用いた新生ニューロンの培養ライブイメージングを実施し、移動するニューロンの動態と移動効率の関係を明らかにした。
- 4) コンドロイチン硫酸受容体 PTPsigma の基質の同定および機能解析: これまでに、代表者は移動するニューロンに成長円錐が存在し、コンドロイチン硫酸受容体 PTPsigma が濃縮することを見いだした。そこで、RMS を移動する新生ニューロンを採取し、プロテオミクスの手法によって新生ニューロンに発現するタンパク質を網羅的に同定した。同定されたタンパク質から GO 解析による絞り込みを実施した結果、軸索の成長円錐で PTPsigma の基質として報告があったアクチン制御タンパク質 Cortactin を同定した。阻害剤やノックダウン実験を実施した結果、Cortactin の 421 番目のチロシンリン酸化 (pY421-Cortactin) が非受容体型チロシンキナーゼ Fyn によって正に制御されていることを見だし、Fyn や PTPsigma による pY421-Cortactin の制御がニューロン移動に重要であることを明らかにした。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakajima C, Sawada M, Umeda E, Takagi Y, Nakashima N, Kuboyama K, Kaneko N, Yamamoto S, Nakamura H, Shimada N, Nakamura K, Matsuno K, Uesugi S, Veprek NA, Kullmer F, Nasufovic V, Uchiyama H, Nakada M, Otsuka Y, Ito Y, Herranz-Perez V, Garcia-Verdugo JM, Ohno N, Arndt HD, Trauner D, Tabata Y, Igarashi M, Sawamoto K	4. 巻 15
2. 論文標題 Identification of the growth cone as a probe and driver of neuronal migration in the injured brain	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1877
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-024-45825-8	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1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 澤田雅人、澤本和延
2. 発表標題 光操作技術を用いたニューロンの移動・形態制御機構の解析
3. 学会等名 the 128th Annual Meeting of The Japanese Association of Anatomists（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

澤本和延研究室ホームページ http://k-sawamoto.com/
--

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	澤本 和延 (Sawamoto Kazunobu)		

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			
ベトナム	Univ Med and Pharm at Ho Chi Minh City	Pharm Ngoc Thach Univ Med		
ドイツ	Univ Jena			
米国	Univ Penn			