

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06754

研究課題名(和文) シュワン細胞による腸管神経系の再形成の誘導

研究課題名(英文) Characterization and induction of enteric neurogenesis by Schwann cell precursors

研究代表者

上坂 敏弘 (Uesaka, Toshihiro)

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号：90304451

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)：腸管神経系の主な細胞ソースである迷走神経堤とは別に、腸に投射する外来神経線維に付随するシュワン細胞前駆細胞(SCP)から生後にニューロン産生が生じる。ニューロン新生のソースとなるSCPがどのような細胞特性を有し、どのように制御されているかについてはまだ明らかに出来なかったが、骨盤神経叢がニューロン新生能を有するSCPのプールになっている可能性が高まった。大腸・直腸だけでなく膀胱底部においても生後ニューロン産生に寄与していることを見出した。このことから、下腹部臓器の神経支配、排便・泌尿の調節に重要な役割を担っていると考えられ、さらなる今後の研究が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シュワン細胞前駆細胞(SCP)から腸管ニューロンが生じるという生命現象は脊椎動物において進化的に保存されている重要な生命現象であることが示唆されてきた。今回、SCPから生じるニューロンが、大腸のみならず、膀胱などの下腹部臓器において認められたことから、排泄や泌尿の神経系による制御に新生ニューロンが関わっていることが予想される。子供の発育に伴う神経系の成熟にSCPからのニューロン新生が寄与するメカニズムが理解できれば、健康維持を目指す上で重要な新たな視点となると期待される。

研究成果の概要(英文)：During embryonic development, the majority of enteric neurons arises from vagal neural crest, whereas Schwann cell precursors (SCPs) give rise to additional enteric neurons to accommodate continued growth during post-embryonic development. We revealed that SCPs contribute to postnatal neurogenesis in the accessory ganglia of the pelvic plexus. SCP-derived neurons may play an important role in the innervation of the pelvic viscera, and further research is expected.

研究分野：動物生命科学

キーワード：シュワン細胞 腸管ニューロン 神経堤 生後ニューロン新生

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腸管には数多くのニューロンによって腸管神経系が構成されており、腸管機能の制御ならびに腸内環境の変化を伝える役割を担っており、加齢や腸炎によるニューロンの減少が腸管機能の低下につながっていることが知られている。消失した腸管ニューロンを補う方法として、幹細胞を移植する方法が検証されてきたが、腸管筋層間に幹細胞を行き渡らせることが困難であり課題であった。また腸管には成体になっても腸管ニューロンを産生し得るソースとなる細胞が存在することが示唆されていたが、実態についてはまだよくわかっていなかった。我々は、腸管に投射する外来神経線維上に存在するシュワン細胞系譜の細胞が腸管において生後にニューロンを産生することを明らかにし、生後に内在するニューロン産生の細胞ソースとして注目している。先天的に腸管ニューロンが減少した状態では、シュワン細胞系譜からのニューロン産生が促進されることから、神経系のニューロンを補う能力を有することが示唆された。シュワン細胞系譜の細胞が潜在的に有するニューロン産生能を利用することが出来れば、内在する細胞ソースを活用した腸管神経系の再生方法として、幹細胞(前駆細胞)の移植に代わる有効な手段として再生医療への活用にもつながるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

腸管に投射する外来神経線維上に存在するシュワン細胞の一部が潜在的にニューロン分化能を有しており、生後に腸管神経系の形成に寄与しており、腸管ニューロンの形成不全や腸内環境の変化に応じてニューロン産生が調節されていることを見出してきた。しかしながらニューロン産生能を有する細胞の局在や特性については不明のままであり、腸管周辺の神経線維上に限定して存在しているのか、少し離れたところから移動してきているのか、もしくはその他の神経線維上にもニューロン産生能を有する細胞が存在する可能性についても検証する余地が残されている。腸管神経系の恒常性維持や再生過程、老化過程に関わるニューロン産生能を有する細胞をシュワン細胞系譜の中から同定することを目指している。Cre-loxP システムを用いたマウス内の細胞系譜解析によるニューロン産生能を有する細胞の追跡とそれをさらに精密に追跡するための細胞特異的な分子マーカーの同定を進めていく。

3. 研究の方法

腸管神経系を構成する細胞および、腸管に投射する外来神経線維由来のシュワン細胞のシングルセル解析データを元にプロファイリングを行い、シュワン細胞系譜の細胞であることを示す遺伝子群とニューロンの系譜の指標となる遺伝子群をともに発現する細胞群、または迷走神経堤由来の腸管神経前駆細胞の遺伝子発現パターンと類似した細胞群の存在を検証した。シュワン細胞、腸管グリア細胞の特徴を示す細胞群とその中間的な状態の細胞を探索、また迷走神経堤由来、体幹部神経堤由来、仙骨神経堤由来の細胞をプロファイリングから類推し、さらに比較検討することで、迷走神経堤由来の神経系細胞とは異なる由来の細胞群を同定することを試みた。候補として細胞群が見つければ、その細胞群特有のマーカー遺伝子候補をリスト化し、発現パターンを検証する。

ニューロンを産生する細胞は必要に応じて数を増やす自己複製能を有する可能性がある。

そこで成体において、増殖能を持つシュワン細胞系譜の細胞が外来神経線維上にどれくらい存在するのかを確かめるために、核酸誘導体として EdU を使用して、EdU を取り込んだ増殖期の細胞の局在を検証した。

生後のニューロン産生が腸管神経系以外では認められないのか、また、ニューロン産生能を有するシュワン細胞系譜の細胞の局在は限定的なものなのか明らかにするために、生後の時期に細胞系譜解析をより広範囲で詳細に行った。

4. 研究成果

我々はこれまでにデザートヘッジホッグ (Dhh)陽性シュワン細胞前駆細胞 (SCPs)を遺伝学的に標識し、生後腸管ニューロンに分化する細胞が存在することを見出してきた。シュワン細胞系譜の細胞にニューロンとグリア細胞への分化能を有する双極性の前駆細胞の存在について、各系統の分化マーカーなどを用いた免疫組織化学による探索を行ったが、前駆細胞様の状態の細胞を同定するには至っていない。またこれまでに報告されている種々の腸管神経系のシングルセル RNA シークエンス (scRNA-seq)データの検証を行ったが、シュワン細胞とニューロンの双極性の前駆細胞のような細胞集団を見いだせなかった。シュワン細胞の系譜から双極性の細胞を介さずに直接ニューロンに分化転換する可能性も考えられるが、脊椎動物では、ゼブラフィッシュにおいて双極性の前駆細胞様の SCP 細胞群の存在が scRNA-seq 解析により捉えられたと報告されており¹⁾、ヒトを含めた哺乳類において同様の双極性の前駆細胞が存在するのかについては、さらに細かく検証する必要と考えられる。SCP 細胞群の scRNA-seq 解析を難しくしている点として、腸管内に SCP が入るとシュワン細胞様の遺伝子発現プロファイルから腸グリア細胞様の特性へと変化してしまうことが分かってきており、系譜解析を進める上で、その点をふまえた段階的詳細化が必要で、そのためのさらなる分化マーカー、クラスターマーカーの同定が必要と考えられる。

エンドセリン B 型受容体 (Ednrb)シグナルは未成熟なシュワン細胞の維持に関わることが知られているが、Dhh 陽性細胞選択的に Ednrb を不活性化すると腸管ニューロン産生が早まり更新されることを見出している。このことをふまえて、Ednrb 不活性化の条件下つまり、シュワン細胞系譜からのニューロン産生が高まっていることが期待される条件下で、ニューロン系譜に運命付けが変化した細胞の有無について腸管周辺において検証したところ、骨盤神経叢において標的臓器近傍でシュワン細胞系譜に由来するニューロンが認められた。そこで、正常な条件下で骨盤神経叢を中心にシュワン細胞系譜のニューロンについて検証したところ、骨盤神経叢にニューロン産生が認められた。このことから骨盤神経叢がニューロン産生能を有するシュワン細胞系譜細胞のプールとなっている可能性が考えられ、生後発達してくる大腸遠位部に対して排泄調節だけでなく、泌尿や生殖器の機能調節にも新たに産生されるニューロンが関与していると考えられ、今後の研究の方向性が示唆された。

1) Kuil LE et al., (2023) iScience 26(7):107070

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 上坂敏弘
2. 発表標題 Enhanced neurogenesis by Schwann cell precursors in developmental disorders of the enteric nervous system
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toshihiro Uesaka
2. 発表標題 Enteric neurogenesis from Schwann cell precursors in response to environmental changes
3. 学会等名 International Symposium “Development of the enteric nervous system: cells, signals, genes, and therapy” (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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