

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：33501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11275

研究課題名（和文）末梢神経の動的構造部位と運動障害に関する研究

研究課題名（英文）Research on dynamic structure sites and motor disturbance of peripheral nerve

研究代表者

齊藤 百合花（Saitoh, Yurika）

帝京科学大学・医学教育センター・准教授

研究者番号：00530099

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）：運動時に筋肉へ電気信号を伝える末梢神経にのみ存在するシュミット・ランターマン切痕（以下、切痕）を主体に切痕の構造変化と運動障害の関連性を明らかにする目的で研究を開始したが、切痕の構成蛋白が運動に関わる中枢神経系にも局在し、欠損が運動機能全体に影響する可能性が出たため末梢神経系のみならず中枢神経系での検討も実施した。末梢神経系では幅広い検索により、切痕に局在する複合蛋白の候補蛋白を探索・同定中であり、運動障害との関連性について検討中である。また中枢神経系の研究により、運動に関する中枢神経系のシナプスでも末梢神経同様の蛋白複合体を形成することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経系に発現する蛋白は様々なものが見つかっているが、まだまだその機能が明らかにできていないものが多く、本研究のように蛋白複合体を形成する場合は、1つの蛋白欠損により、他の蛋白が機能できないという現象も現れることがある。本研究により、末梢神経系での新たな蛋白の発現を明らかにすることにより、末梢神経の障害時の再生や修復に関与する分子が明らかになる可能性がある。また、中枢神経系では末梢神経系との共通蛋白の機能を明らかにすることにより、末梢神経系では見られる再生機能の解明につながる可能性もある。各分子の機能を明らかにすることで、将来的には分子標的薬などの開発の基礎となるとなると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We started research with the aim of clarifying the relationship between structural changes in the Schmidt-Lanterman incisure (SLI) and movement disorders, which exist only in peripheral nerves that transmit electrical signals to muscles during exercise. Since the constituent proteins of the SLI are also localized in the central nervous system (CNS), which is involved in locomotion, we investigated not only the peripheral nervous system (PNS) but also the CNS, as it became possible that defects could affect the entire motor function. In the PNS, we are searching for and identifying candidate proteins for complex proteins localized in the notch through a wide range of searches, and we are currently investigating their relationship with movement disorders. Furthermore, research on the CNS revealed that synapses in the CNS related to movement also form protein complexes similar to those in peripheral nerves.

研究分野：神経解剖学

キーワード：末梢神経 シュミット・ランターマン切痕 シナプス蛋白 中枢神経 膜骨格関連蛋白

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究当初の背景として、脳からの指令を電気伝導する末梢神経が四肢の筋肉に向けて線維状に配置し、筋伸縮に伴って神経線維自身も常に伸び縮みをしていること、中でも代表的な太い神経線維は伝導速度を上げるために、絶縁効果を持つミエリンという神経突起を取り囲むシュワン細胞の細胞膜が何重にも巻かれた構造を持ち、その末梢神経のミエリン内には、円錐台状のシュミット・ランターマン切痕(以下、切痕)という中枢神経にはない特殊な構造体が複数存在することから、この切痕の運動に伴うダイナミックな動的形態変化に着目して研究を行っていた。特に、標的を瞬時に冷却する生体内凍結技法を用いた結果、伸展した末梢神経線維は形態が数珠状に変形し、切痕が数珠の起点となる部位に位置しながらバネのように伸びることを明らかにしていたこともあり、この切痕がなぜ末梢神経にのみ構築されるかについて、構成する新規の蛋白を明らかにしてきていた状況であった。

2. 研究の目的

研究の目的として、上記の背景からこの動的に変化する切痕の形態に基づく末梢神経の構造と末梢神経の障害との相関性を明らかにして、ヒトのリハビリテーションにおける適正な運動療法を考案することを挙げていた。そのため、具体的には「加齢や構成蛋白を変化させたマウスモデルを用いて、切痕を主体にミエリンの顕微鏡で認める構造変化と実際の運動障害の関連性を明らかにし、末梢神経障害の進行度を形態に基づくステージングとして確立すること」を目指して研究を実施した。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するために下記の ~ の方法を実施する予定で研究を進行したが、の途中で中枢神経系の関与を考慮せざるを得ない状況に陥ったため、予定にはなかったの方法で中枢神経系の検討を行った。

切痕の構成蛋白の複合体形成様式の検討

これまでに明らかにした切痕を形成する複合体蛋白を欠損するマウスを用いて、それらの微細構造変化に及ぼす影響や加齢に伴う変化を更に組織標本の染色や電子顕微鏡解析による詳細な検討や、他の複合体蛋白の RNA-seq によるスクリーニング検索を行った。

切痕の構造と運動時の伸縮における影響の検討

構成蛋白欠損マウスの坐骨神経を露出して伸展させ、状態を維持できる生体内凍結技法による試料作製を行い、神経線維の形状変化を観察した。また、尾懸垂試験での下肢の保持能力の個体レベル変化の検討として、4.1 ファミリー蛋白欠損マウスや MPP ファミリー蛋白欠損マウスでの運動負荷後の神経線維の形状変化を観察し、運動に伴う神経への負荷による影響という観点から解析を行い、四肢の動作を考慮してリハビリテーションを意識した適正な加療法を合わせて考察する予定であった。

末梢神経傷害後の神経再生時の切痕の関わりについての検討

末梢神経傷害の動物モデルとして、坐骨神経損傷部位作製マウスの形態や機能の影響を検討する予定であった。

中枢神経系にも 4.1 ファミリーや MPP ファミリーが局在することが明らかになり、特に不随意運動を主に担当する小脳での MPP ファミリーの欠損による運動機能に関わる分子や形態への変化を免疫沈降や免疫染色を用いて検討した。

4. 研究成果

運動時に筋肉へ電気信号を伝える末梢神経にのみ存在するシュミット・ランターマン切痕(以下、切痕)を主体にミエリンの顕微鏡で認める構造変化と実際の運動障害の関連性を明らかにするために、本研究開始時には切痕の構成蛋白の欠損による運動障害への検討と切痕への動的影響に関する検討を行う予定であったが、研究進行過程で解析中の蛋白が末梢神経系のみならず中枢神経系にも認められたために、3. 研究の方法で記載したように、中枢神経系での研究を追加して実施した。中枢神経系での優先実施に伴い、当初の予定としていた および の途中まででの実施となった。

の検討では、残念ながらこれまでの研究結果以上の成果となる結果は得られず、大きな変化は認めなかったが、RNA-seq を用いたスクリーニング的な検討により、切痕における新たな蛋白複

合体の可能性を秘めた分子の発見に繋がりそうな結果を得ており、検討を続けている状況である。 の検討では、個体数を増やして検討を重ねている途中である。

の検討では、切痕に局在し運動障害を引き起こす可能性を示唆していた CADM4-4.1G-MPP6-Lin7 蛋白複合体のうち、MPP6 が分類される MPP ファミリーが Lin7 などの足場蛋白の局在に重要であることが示唆されたため、中枢神経系の解析を加えて行ったところ、大脳に発現が見られた MPP6 の欠損マウスの行動解析により、恐怖心の減弱傾向がみられ、現在国際誌の発表を目指して論文作成中である。

また、同ファミリーの MPP2 や MPP7 についても欠損マウスを作製して解析を実施した。MPP2 欠損マウスの作製に成功し、中枢神経系の大脳や小脳での発現を明らかにしたが、そのうちの不随意運動に参与することが知られる小脳において、末梢神経の切痕と同様に Lin7 と蛋白複合体を形成し、MPP2 の欠失により Lin7 の局在が変化することが明らかとなり、国際誌に研究成果を発表した。

MPP7 欠損マウスの作製にも成功し、中枢神経系や消化器・泌尿器などの多臓器での発現も認められたが、MPP7 に対する特異的な抗体の入手が困難となり、研究を中止せざるを得ない状況となった。

研究機関全体を通じて実施した研究により、運動に関する末梢神経にのみ存在する切痕の構成複合蛋白は末梢神経のみならず、運動に関する中枢神経系のシナプスでも同様に蛋白複合体を形成していることを明らかにできた。四肢の動作を考慮してリハビリテーションを意識した適正な加療法については、残念ながら中枢神経系との関わりの考慮から検討が進まなかったが、中枢神経系に発現する MPP ファミリーと神経発達症や精神障害との関係が近年報告されるなどもあり、継続した検討が必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomoki Yamada, Yurika Saitoh, Kiyokazu Kametani, Akio Kamijo, Takeharu Sakamoto, Nobuo Terada	4. 巻 158
2. 論文標題 Involvement of membrane palmitoylated protein 2 (MPP2) in the synaptic molecular complex at the mouse cerebellar glomerulus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Histochem Cell Biol	6. 最初と最後の頁 497-511
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00418-022-02137-6.	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 -

1. 著者名 Yurika Saitoh	4. 巻 97
2. 論文標題 Elucidation of the control mechanism of dynamic tissues using freezing techniques	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anatomical Science International	6. 最初と最後の頁 165-169
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12565-022-00648-9	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 -

1. 著者名 Takeharu Sakamoto, Yuya Fukui, Yasumitsu Kondoh, Kaori Honda, Takeshi Shimizu, Toshiro Hara, Tetsuro Hayashi, Yurika Saitoh, Yoshinori Murakami, Jun-Ichiro Inoue, Shuichi Kaneko, Hiroyuki Osada, Motoharu Seiki	4. 巻 4
2. 論文標題 Pharmacological inhibition of Mint3 attenuates tumour growth, metastasis, and endotoxic shock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02701-1	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山田 友貴、 齊藤 百合花、 亀谷 清和、 上條 明生、 坂本 毅治、 寺田 信生
2. 発表標題 マウス小脳におけるMembrane palmitoylated protein 2 (MPP2) 関連蛋白複合体領域の検討
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山田友貴、齊藤百合花、寺田信生
2. 発表標題 膜骨格蛋白Membrane palmitoylated protein 2 (MPP2) のマウス小脳GABAA受容体との関係性
3. 学会等名 第7回ミエリン研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名]山田友貴、齊藤百合花、亀谷清和、上條明生、坂本毅治、寺田信生
2. 発表標題 膜骨格蛋白membrane palmitoylated protein 2 (MPP2) のマウス小脳系球体シナプスにおける蛋白複合体の検討
3. 学会等名 第63回日本組織細胞化学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊藤百合花、山田友貴、上條明生、鈴木龍雄、坂本毅治、寺田信生
2. 発表標題 マウス大脳におけるMembrane palmitoylated protein 6 (MPP6)の局在と機能の検討
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊藤百合花、山田友貴、寺田信生
2. 発表標題 末梢神経髄鞘シュミット・ランターマン切痕にある膜骨格蛋白Membrane palmitoylated protein 6 (MPP6)のマウス大脳における検討
3. 学会等名 第6回ミエリン研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田友貴、齊藤百合花、亀谷清和、上條明生、坂本毅治、寺田信生
2. 発表標題 膜骨格蛋白Membrane palmitoylated protein(MPP)2のマウス小脳における免疫組織化学的検討
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田友貴、齊藤百合花、寺田信生
2. 発表標題 末梢神経の髄鞘シュミット・ランターマン切痕にあるMembrane palmitoylated protein (MPP)ファミリー蛋白であるMPP2のマウス小脳における検討
3. 学会等名 第6回ミエリン研究会
4. 発表年 2021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
---------	---------