

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26640046

研究課題名(和文)ニューロン再生における血流 - 神経相互作用

研究課題名(英文)Relationship between blood flow and neuronal regenerataion

研究代表者

澤本 和延 (Sawamoto, Kazunobu)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90282350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：脳内におけるニューロンの再生と血流の関係を調べるため、2光子顕微鏡を用いたin vivoライブイメージングを行なった。嗅球内の特定のニューロンが蛍光で標識されたマウスを用いて、生きたマウスの嗅球における新生ニューロンを一ヶ月間隔で繰り返し観察した。血流を可視化するために、血管内に緑色の蛍光色素(fluorescein dextran)を注入し、血球の影を追跡して速度を算出した。これらの実験手法によって、血流とニューロンの再生効率に相関があることを示唆するデータが得られた。

研究成果の概要(英文)：To study the relationship between neuronal regeneration and blood flow, we performed in vivo live imaging using a two-photon laser microscope. Using transgenic mice that express a fluorescent protein in a subtype of neurons, we observed the same new neurons in the olfactory bulbs twice with an interval of four weeks. Simultaneously, we injected a green fluorescent dye intravenously to image and measure blood flow. Our results suggest that blood flow correlates with the neuronal regeneration efficiency.

研究分野：再生医学

キーワード：再生医学 神経科学 脳・神経 脳神経疾患

1. 研究開始当初の背景

我々は、生後の脳で幹細胞から生まれる新生ニューロンについて研究し、幾つかの重要なメカニズムを解明してきた (*Science* 2006; *Neuron* 2010; *Nat Neurosci* 2013 など)。その過程で、脳梗塞の後で脳組織が再生する際に、再生したニューロンが血管に沿って移動する現象を見出した (*J Neurosci* 2006; *Stem Cells* 2010)。その後、海外の多くの研究室からも、類似した研究が報告されている。また、ニューロンが血管の付近で細胞死によって除去され、同じ場所に同じ種類のニューロンが組み込まれるという感覚入力依存的な再生メカニズムを見出した (*J Neurosci* 2011; 未発表データ)。これらのことから、動的な器官である血管が積極的に神経再生を調節しているという可能性が考えられる。しかし、血流とニューロン新生の関係についてはほとんど研究されていなかった。

2. 研究の目的

以前我々は、脳組織の再生過程において、新生ニューロンが血管に沿って移動するという現象を発見した。また、これらのニューロンが移動を停止し、成熟する場所にも血管が存在することを見出した。これらのことから、血管の動的な働きとニューロン新生の間に、機能的な連関があると考えられる。しかし、従来の固定標本や脳スライスの培養を用いた実験では、血流とニューロン新生の関係を研究することは不可能である。こうした状況を打破するため、生きたマウスの脳内における血流とニューロン新生を同時に観察する *in vivo* ライブイメージングを計画・実施した。

3. 研究の方法

脳内の血流とニューロン再生の関係を定量的に調べるため以下の実験を行なった。

生きたマウスの嗅球における新生ニューロンを観察するために、嗅球内の特定のニューロンが蛍光で標識されたマウスを用いて実験を行った。嗅球を覆う頭蓋骨を薄く削り、同じ嗅球ニューロンを一ヶ月間隔で繰り返し観察した。

血流を可視化するために、血管内に緑色の蛍光色素 (fluorescein dextran) を注入し、血漿成分を染色した。二光子顕微鏡を用いて、血管に沿ってライン状に高速スキャンする方法 (ラインスキャン法) により、血球の影を追跡して速度を算出する技術を確立した。

4. 研究成果

本研究は、血流と新生ニューロンの移動や定着に何らかの機能的な関係があるという仮説を検証することを目指したものである。この仮説を検証するためには、第一に、血流速度と新生ニューロンを同時に観察することのできる実験系の確立が重要であった。新たなトランスジェニックマウスの導入や血

管の可視化技術、ラインスキャンの方法などの検討に時間を要したが、信頼できる安定した実験系を確立することができた。

確立された本実験系を用いて血流量と定着するニューロンの数を解析したところ、両者に相関関係があることを示唆する結果が得られた。

本研究を発展させることにより、脳と循環器系が連動して脳の恒常性を保つ仕組みが明らかになるとともに、脳疾患の病態解明や新たな治療法開発の基盤を提供することにもつながる可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計8件)

1. Ogino T, Sawada M, Takase H, Nakai C, Herranz-Pérez V, Cebrian-Silla A, Kaneko N, Garcia-Verdugo J, Sawamoto K. Characterization of multiciliated ependymal cells that emerge in the neurogenic niche of the aged zebrafish brain. *Journal of Comparative Neurology*. 16 Mar 2016. doi: 10.1002/cne.24001. 査読有
2. Hirota Y, Sawada M, Huang S, Ogino T, Ohata S, Kubo A, Sawamoto K. Roles of Wnt signaling in the neurogenic niche of the adult mouse ventricular-subventricular zone. *Neurochemical Research*. 2016 Feb;41(1-2):222-30. doi: 10.1007/s11064-015-1766-z. 査読有
3. Yamagishi S, Yamada K, Sawada M, Nakano S, Mori N, Sawamoto K, Sato K. Netrin-5 is highly expressed in neurogenic regions of the adult brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2015 Apr 20;9:146. doi: 10.3389/fncel.2015.00146. 査読有
4. Zheng L, Kaneko N, Sawamoto K. Minocycline treatment ameliorates interferon-alpha-induced neurogenic defects and depression-like behaviors in mice. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2015 Jan 28;9:5. doi:10.3389/fncel.2015.00005. 査読有
5. Ajioka I, Jinnou H, Okada K, Sawada M, Saitoh S, Sawamoto K. Enhancement of neuroblast migration into the injured cerebral cortex using laminin-containing porous sponge. *Tissue Engineering Part A*, 2015 Jan; 21(1-2): 193-201. doi: 10.1089/ten.TEA.2014.0080. 査読有

6. Zheng L, Hitoshi S, Kaneko N, Takao K, Miyakawa T, Tanaka Y, Xia H, Kalinke U, Kudo K, Kanba S, Ikenaka K, Sawamoto K. Mechanisms for interferon- γ -induced depression and neural stem cell dysfunction. *Stem Cell Reports*. 2014 Jul 8; 3(1): 73-84. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.05.015. 査読有
7. Ota H, Hikita T, Sawada M, Nishioka T, Matsumoto M, Komura M, Ohno A, Kamiya Y, Miyamoto T, Asai N, Enomoto A, Takahashi M, Kaibuchi K, Sobue K, Sawamoto K. Speed control for neuronal migration in the postnatal brain by Gmp-mediated local inactivation of RhoA. *Nature Communications* 2014 July 30: 5:4532. doi: 10.1038/ncomms5532. 査読有
8. 澤本和延、松本真実、澤田雅人. 成体ニューロン新生における血管の役割. 生体の科学 65(3), 215-219, 2014年6月 査読有

〔学会発表〕(計40件)

1. 澤本和延. 脳に内在するニューロン再生機構とその操作技術. 第35回 Neuroscience Seminar Tokushima. 2016.3.28 徳島大学病院(徳島県・徳島市)
2. Masato Sawada, Shih-hui Huang, Takao Hikita, Akiyoshi Uemura, and Kazunobu Sawamoto. Termination of neuronal migration controlled by a novel cell protrusion. 第9回神経発生討論会 2016.3.18-19 東京医科歯科大学(東京都・文京区)
3. 神農英雄、澤田雅人、川瀬恒哉、味岡逸樹、沓澤好一、赤池敏宏、齋藤伸治、澤本和延. 新生仔大脳皮質傷害モデルマウスにおける放射状グリア様足場スポンジを用いた脳室下帯由来ニューロン再生. 第15回日本再生医療学会総会 2016.3.17-19 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
4. 金子奈穂子、澤本和延. アストロサイトとの相互作用の操作による新生ニューロンの分布制御と機能回復の促進. 第15回日本再生医療学会総会 2016.3.17-19 大阪国際会議(大阪府・大阪市)
5. 小俣太一、藤岡哲平、金子奈穂子、味岡逸樹、中口加奈子、Faessler Reinhard、松川則之、関口清俊、澤本和延. ニューロン再生過程における 1-integrin シグナルを介した新生ニューロンの移動制御. 第15回日本

再生医療学会総会 2016.3.17-19 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

6. 澤本和延. マウス・ゼブラフィッシュ脳室壁における上皮細胞の分化・成熟機構. 第15回日本脳脊髄液減少症研究会 髄液動態の基礎セッション 2016.3.12-13 日本メジフィジクス東京本社会議室(東京都・江東区)
7. 澤本和延. 正常・疾患モデルマーマモセットにおける成体ニューロン新生 (Neurogenesis in the adult common marmoset in the normal and pathological conditions.) 第5回日本マーマモセット研究会大会 2016.1.27-28 東京慈恵会医科大学(東京都・港区)
8. 神農英雄、澤田雅人、川瀬恒哉、金子奈穂子、齋藤伸治、澤本和延. Ventricular-subventricular zone derived neuronal regeneration using radial glial fiber scaffolds after neonatal cortical brain injury. 第20回グリア研究会 2015.12.5 名古屋市立大学(愛知県・名古屋市)
9. 山岸覚、山田浩平、澤田雅人、中野秀、森則夫、澤本和延、佐藤康二. 新規軸索ガイダンス分子 Netrin-5 の成体脳神経新生領域における発現. 第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会 2015.12.1-4 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
10. 澤本和延. Olfactory input-dependent spatial regulation of neuronal turnover in the adult mouse olfactory bulb. Japan Australia Meeting ON CELL DEATH 2015.10.21-23 The Walter and Eliza Hall Instituteメルボルン(オーストラリア)
11. 山岸覚、山田浩平、澤田雅人、森則夫、澤本和延、佐藤康二. Netrin-5 is highly expressed in neurogenic regions of the adult brain. 第58回日本神経化学会大会 2015.9.11-13 大宮ソニックシティ(埼玉県・さいたま市)
12. 荻野崇、澤田雅人、稲田浩之、鍋倉淳一、澤本和延. The role of blood flow in neuronal turnover in the adult olfactory bulbs. 第58回日本神経化学会大会 2015.9.11-13 大宮ソニックシティ(埼玉県・さいたま市)
13. 松本真実、澤田雅人、澤本和延. Time-lapse imaging of migrating new neurons in the injured adult cerebral cortex. 第58回日本神経化学会大会 2015.9.11-13 大宮ソニックシティ(埼玉県・さいたま市)
14. 澤本和延. Role of blood vessels in neuronal regeneration. 第58回日本

- 神経化学会大会 シンポジウム「神経-血管相互作用の新展開」
2015.9.11-13 大宮ソニックシティ
(埼玉県・さいたま市)
15. 金子奈穂子、澤本和延. 内在性の神経幹細胞による傷害脳の再生. 生体機能と創薬シンポジウム 2015
2015.8.28 日本大学薬学部(千葉県・船橋市)
 16. 金子奈穂子、澤本和延. Neuronal migration and maturation in the injured brain tissue after stroke. 第38回日本神経科学大会
2015.7.28-31 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
 17. 澤田雅人、黄詩恵、匹田貴夫、植村明嘉、澤本和延. A mechanism regulating the morphology of migrating new neurons determines their final positioning in the postnatal olfactory bulbs. 第38回日本神経科学大会
2015.7.28-31 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
 18. Teppei Fujioka, Naoko Kaneko, Itsuki Ajioka, Kanako Nakaguchi, Taichi Omata, Reinhard Faessler, Noriyuki Matsukawa, Kiyotoshi Sekiguchi, Kazunobu Sawamoto. The role of α 1-integrin controlling neuronal migration in injured brain. 第38回日本神経科学大会
2015.7.28-31 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
 19. Takashi Ogino, Masato Sawada, Hiroyuki Inada, Junichi Nabekura, Kazunobu Sawamoto. Relationship between neuronal turnover and blood flow in the adult olfactory bulb. 第38回日本神経科学大会
2015.7.28-31 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
 20. 金子奈穂子、澤本和延. 新生ニューロン-活性化アストロサイト相互作用の増強による脳梗塞後のニューロン再生促進. 第36回日本炎症・再生医学会
2015.07.21-22 虎ノ門ヒルズフォーラム(東京都・港区)
 21. 澤本和延、松本真実、澤田雅人. 成体マウス大脳皮質の再生過程における新生ニューロンの移動動態の観察. 第36回日本炎症・再生医学会
2015.07.21-22 虎ノ門ヒルズフォーラム(東京都・港区)
 22. Md. Asrafuzzaman Riyadh, Ayako Ito, Yohei Shinmyo, Athary Felemban, Jun Hatakeyama, Kenji Shimamura, Kazunobu Sawamoto, Kunimasa Ohta. Disruption of Tsukushi function result in aberrant neurogenesis in mouse. 48th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists (JSDB). June 2- June 5, 2015 Tsukuba International Congress Center (茨城県・つくば市)
 23. 中野 秀、山岸 覚、山田浩平、澤田雅人、森 則夫、澤本和延、佐藤康二. Netrin-5 の成体マウス神経新生関連領域における特異的発現. 第92回日本生理学会大会 2015.3.21-23 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
 24. 神農英雄、澤田雅人、齋藤伸治、澤本和延. 新生仔脳傷害モデルマウスにおける脳室下帯由来ニューロン再生. 第14回日本再生医療学会総会
2015.3.19-21 パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
 25. 金子奈穂子、澤本和延. アストロサイトとの相互作用の制御による梗塞部への新生ニューロンの供給促進. 第14回日本再生医療学会総会
2015.3.19-21 パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
 26. 松本真実、澤田雅人、澤本和延. 成体大脳皮質の虚血モデルを用いた新生ニューロンの移動動態の観察. 第14回日本再生医療学会総会
2015.3.19-21 パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
 27. 宮本拓哉、澤田雅人、神農英雄、辻村幸平、川上巧、宮田卓樹、澤本和延. 抑制性・興奮性神経前駆細胞の生後脳傷害に対する挙動の解析. 第10回成体脳のニューロン新生懇談会
2014.12.6 東京大学フューチャーセンター(千葉県・柏市)
 28. 荻野崇、中居智恵美、高瀬弘嗣、岸本憲人、澤田雅人、澤本和延. 老齡ゼブラフィッシュにおける、ニューロン新生の低下と多繊毛の出現について. 第10回成体脳のニューロン新生懇談会
2014.12.6 東京大学フューチャーセンター(千葉県・柏市)
 29. 松本真実、澤田雅人、澤本和延. 成体大脳皮質虚血傷害に対する応答と新生ニューロンの移動. 第10回成体脳のニューロン新生懇談会
2014.12.6 東京大学フューチャーセンター(千葉県・柏市)
 30. 澤田雅人、黄詩恵、匹田貴夫、桜井陽明、植村明嘉、澤本和延. Sema3E-PlexinD1 シグナルによる新生ニューロンの移動維持・停止メカニズム. 第10回成体脳のニューロン新生懇談会
2014.12.6 東京大学フューチャーセンター(千葉県・柏市)
 31. 金子奈穂子、澤本和延. ニューロン新生・再生過程におけるアストロサイトとの相互作用. 第10回成体脳のニューロン新生懇談会
2014.12.6 東京大学フューチャーセンター(千葉県・柏市)

32. 澤田雅人、神谷幸余、稲田浩之、岡田淳志、田口和己、郡健二郎、柳川右千夫、高坂新一、鍋倉淳一、澤本和延. ミクログリアの貪食による成体嗅球ニューロンのターンオーバーの制御. 第 23 回「海馬と高次脳機能」学会 2014.10.11-12 湯涌創作の森 (石川県・金沢市)
33. 松本真実、澤田雅人、澤本和延. 光血栓性大脳皮質虚血モデルにおける新生ニューロンの移動様式の解析. 第 36 回日本生物学的精神医学会大会・第 57 回日本神経化学会大会合同年会 2014.9.29-10.1 奈良県文化会館・奈良県新公会堂 (奈良県・奈良市)
34. 金子奈穂子、澤本和延. インターフェロン療法中のうつ病発症と海馬のニューロン新生の変化. 第 36 回日本生物学的精神医学会大会・第 57 回日本神経化学会大会合同年会 2014.9.29-10.1 奈良県文化会館・奈良県新公会堂 (奈良県・奈良市)
35. 佐藤祐哉、浄住大慈、二木杉子、中野伊津子、金子奈穂子、澤本和延、関口清俊. 成体神経幹細胞ニッチとしての斑点状基底膜の機能. 第 36 回日本生物学的精神医学会大会・第 57 回日本神経化学会大会合同年会 2014.9.29-10.1 奈良県文化会館・奈良県新公会堂 (奈良県・奈良市)
36. Kaneko N, Sawamoto K. 傷害脳内を移動する新生ニューロンと反応性アストロサイトの相互作用. 第 37 回日本神経科学大会 2014.9.11-13 パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)
37. Sawada M, Huang S, Hikita T, Uemura A, Sawamoto K. 新生ニューロンの移動形態制御による嗅球内停止位置の決定. 第 37 回日本神経科学大会 2014.9.11-13 パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)
38. 金子奈穂子、澤本和延. 活性化アストロサイトとの相互作用の操作による新生ニューロンの傷害部への供給促進. 第 35 回日本炎症・再生医学会 2014.7.2 万国津梁館 (沖縄県・名護市)
39. 三宅美緒、伊藤由起、澤田雅人、酒井潔、鈴木日美子、坂本龍雄、澤本和延、上島通浩. マウスにおける 2-エチル-1-ヘキサノール吸入曝露後の嗅球への影響. 第 87 回日本産業衛生学会 2014.5.22 ポスター 岡山コンベンションセンター (岡山県・岡山市)
40. Sawamoto K, Kishimoto N, Nagai H, Knaut H, Asakawa K, Urasaki A, Kawakami K. Roles for chemokine signaling in neuronal migration in the adult zebrafish brain. the 18th International Vascular Biology

Meeting. 2014.4.15 みやこめっせ(京都府・京都市)

〔図書〕(計 9 件)

1. 藤掛数馬, 太田晴子, 祖父江和哉, 澤本和延. 脳に内在する再生メカニズム. 麻酔 Vol 64 増刊号 <日本麻酔科学会第 62 回学術集会講演特集号> (185-192) 克誠堂出版. 2015 年
2. 金子奈穂子, 澤本和延. 脳室下帯. 脳科学辞典. <https://bsd.neuroinf.jp/wiki/脳室下帯> (Web 掲載のみ) 日本神経科学学会脳科学辞典編集委員会. 2015 年
3. 澤本和延, 金子奈穂子. 成体神経幹細胞. 再生医療 -新たな医療を求めて- (臨床応用を目指した基礎研究 体細胞研究) 日本臨牀 73 巻 増刊号 5. (210-214) 日本臨牀社. 2015 年
4. 金子奈穂子, 澤本和延. 成体ニューロン新生 (用語解説) 「再生医療用語ハンドブック」領域: 脳・神経. (164-165) 日本再生医療学会監修 メディカルトリビューン. 2015 年
5. 藤岡哲平, 金子奈穂子, 澤本和延. 脳梗塞 (用語解説) 「再生医療用語ハンドブック」領域: 脳・神経. (176-177) 日本再生医療学会監修 メディカルトリビューン. 2015 年
6. 澤本和延. 感覚入力によって制御されるニューロン再生機構. シンポジウム: 活動機能構造連関-活動が変える-The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine リハビリテーション医学 (Jpn J Rehabil Med) Vol.52 No.2. (108-110) 公益財団法人日本リハビリテーション医学会 編集・発行. 2015 年
7. 荻野崇, 澤本和延. 内在性神経幹細胞による神経再生. 再生医療シリーズ 脳神経系の再生医学 -発生と再生の融合的新展開-(第 3 章 細胞と回路の再生医学 4 節). (98-102) 診断と治療社. 2015 年
8. 藤岡哲平, 金子奈穂子, 松川則之, 澤本和延. 脳に内在する神経再生機構. 最新臨床脳卒中学(上) 日本臨牀 72 巻 増刊号 5 (447-451) 日本臨牀社. 2014 年
9. 澤本和延. 57 章 損傷を受けた脳の修復 『カandel神経科学』(“Principles of Neural Science, Fifth ed.” の翻訳出版) 金澤一郎・宮下保司日本語版監修 (1258-1279) (株)メディカルサイエンスインターナショナル. 2014 年

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計 0 件)
なし
取得状況 (計 0 件)
なし

〔その他〕
ホームページ等

澤本研究室ホームページ
<http://k-sawamoto.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

澤本 和延 (SAWAMOTO, Kazunobu)
名古屋市立大学・医学研究科・教授
研究者番号：90282350

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

金子 奈穂子 (KANEKO, Naoko)
名古屋市立大学・医学研究科・講師
研究者番号：20464571

澤田 雅人 (SAWADA, Masato)
名古屋市立大学・医学研究科・助教
研究者番号：20645288