

血液含有因子による脳神経系の修復機構の解析

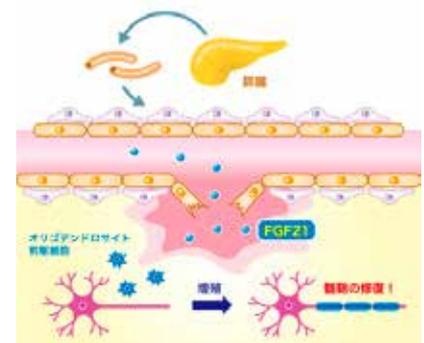
村松里衣子

大阪大学大学院医学系研究科 分子神経科学
大阪大学免疫学フロンティア研究センター

【研究の背景】

脳神経疾患に罹患すると、病巣が形成された部位に応じた、様々な症状があらわれる。症状の発症や悪化の原因のひとつに、神経回路の傷害が挙げられる。発症期や発症神経系ほどではないが、大人の脳脊髄の神経回路も、わずかではあるが自然に修復する。神経回路の修復機構を解明し、その作用を増強することで、脳脊髄疾患の後遺症を緩和できると期待されている。

神経回路の修復は、神経回路の周囲の細胞外因子により制御されると考えられている。かつては、脳脊髄の内部の因子にのみ注目が集まっていたが、我々は、脳脊髄の外部に備わる因子も、血液を介して脳脊髄内に流入して、神経回路の修復に関わることを見出してきた(右図, *J. Clin. Invest.* 2017)。しかし、これまでに同定した分子の作用だけでは、血液による神経回路の修復を十分説明することができなかった。その理由に、これまでに同定した分子は髄鞘の修復を促す作用のみもっており、神経回路の修復に必須な「神経突起の伸長」を促進させる作用がないためと考えた。そこで本研究では、血液の中に神経突起の伸長を促す物質が含まれるか、またその場合にいかなる分子メカニズムが関わるか、検討した。



脳脊髄外部から脳脊髄内へ流入した分子が、脳脊髄の神経回路の修復を促すことを発見した。

【目 的】

血液の中に、神経突起の伸長を促す物質が含まれるか検証した。またそのような作用がある場合に、どのような分子メカニズムで、血液が神経突起の伸長を促すかを検討した。

【方 法】

8 週齢のメスマウス(C57BL/6j)から血清を採取した。また生後 1 日齢のマウスから、大腦皮質の神経細胞の分散培養系を作成した。培養している神経細胞へ、成体マウスから採取した血清を添加し、培養後に細胞を固定し、抗 TuJ1 抗体を用いて免疫染色をおこなった。TuJ1 陽性の神経突起長を計測し、神経突起長が長くなっている場合に、その培養系の中に神経突起の伸長をうながす物質が含まれると判断した。分子メカニズム同定のため、阻害剤アレイ(市販品)を用いたスクリーニングを行った。また、生化学的なアプローチとして、血清をあらかじめトリプシンや DNase などで酵素処理後に神経細胞培養に添加したり、あらかじめ血清を分画した上で神経細胞へ暴露するなどして培養し、その後に神経突起長を計測した。

【結 果】

成体マウスの血清に、神経突起の伸長を促す作用があった。各種酵素処理実験を行った結果、神経突起の伸長の促進には、血清中のタンパク質が関与することがわかった。また分画実験では、神経突起伸長活性を持つフラクションを獲得することができた。神経突起の伸長活性をもつ分画を質量分析へ進め、分析結果には既知の神経突起作用をもつ物質など複数

の物質が含まれることがわかった。薬理的なスクリーニングにおいても、複数の受容体阻害剤が、血清による神経突起の伸長効果を阻害する効果が得られた。

【考 察】

血液の中には、髄鞘の修復だけでなく、神経突起の伸長を促す分子も含まれることがわかった。また、そのメカニズムに関しても、既知の受容体が関わる可能性が推察された。現在、候補分子と薬理的スクリーニングの結果を組み合わせ、キーとなる分子の同定の探索を試みている。分子を同定次第、in vivo での神経突起の伸長における同定因子の寄与を解析する予定である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

神経回路の傷害は種々の脳神経疾患で認められるものであり、それが症状の発症や悪化に関連すると指摘されている。しかし、現時点で、中枢神経系の神経回路を修復させる医薬品はなく、神経回路の修復薬の開発は、患者や患者によそう家族、そして医療従事者から切望されている。本研究で得られる神経回路の修復を促す分子は、神経回路の修復薬のシーズになりうる可能性がある。今後、マウスの in vivo 実験およびヒト細胞で神経回路の修復効果を検討し、さらに産学連携を推進することで、ヒトの中枢神経疾患の治療薬の創出へ繋げていきたい。

【参考・引用文献】

Kuroda M, Muramatsu R, Maedera N, Koyama Y, Hamaguchi M, Fujimura H, Yoshida M, Konishi M, Itoh N, Mochizuki H, Yamashita T. Peripherally derived FGF21 promotes remyelination in the central nervous system. *J Clin Invest.* 2017;127(9):3496-3509.