

(研究結果報告書)

2017年12月30日

<研究課題>

脳内グリア前駆細胞の分化機構の解明と認知症への臨床応用

代表研究者 京都大学大学院医学研究科 臨床神経学 助教 江川斉宏
共同研究者 京都大学大学院医学研究科 臨床神経学 教授 高橋良輔

(まとめ)

グリア細胞、特にオリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC)は増殖能と多能性を有するが、その調整機構については、多くのことがわかっていない。われわれは、脳内グリア細胞の環境を再現する新たな OPC 3次元培養系を確立した上で、OPC 細胞間シグナルがその多能性と分化能に深く関わることを示した。さらに、それらを調整するエピジェネティクス制御因子を同定し、認知症に関連した神経疾患に対する新たな治療戦略の可能性を示した。

1. 研究の目的

1-1. 脳内グリア細胞の環境を *in vitro* で再現するために、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (oligodendrocyte progenitor cell 以下 OPC)を用いた3次元培養方法を確立する。

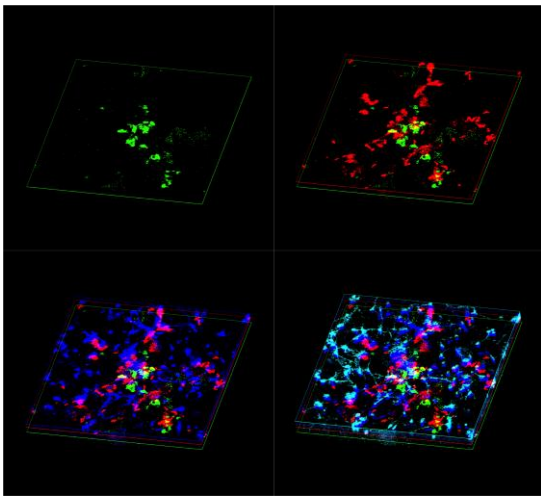
1-2. OPC 特異的に発現する転写因子を調整するエピジェネティック制御因子を同定し、それらがOPCの分化機構にいかに関連するかについて解明する。

1-3. エピジェネティック制御因子を調整することにより、脳内在性のグリア細胞の多能性と増殖能を高めることによって、神経細胞とグリア細胞のネットワークを構築し、認知症に関連した神経疾患の進行を緩和させることができるかを検討する。

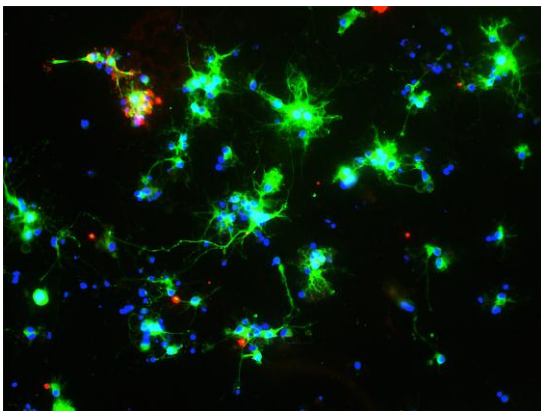
2. 研究方法と経過

2-1. まずラット由来初代培養由来の細胞群から、OPC を分離、純粋培養し、それをコラーゲンとヒアルロン酸と混合することによって、OPC の新たな3次元培養系を確立した。(図1)この系において、OPC は、増殖能を保ち、培養液の調整によって、分化誘導できること

を証明した(図 2)。



(図1) OPC 三次元培養システム



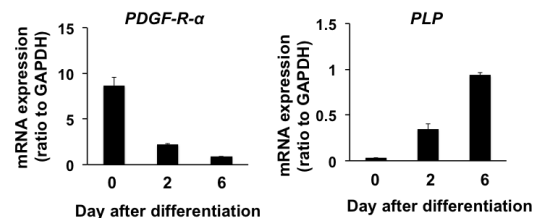
(図2) 緑 GSTpi 赤 MBP オリゴデンドロサイト

2-2. 次に、OPC に特異的に発現する PDGF-Ra や転写因子 Olig2、オリゴデンドロサイト特異的マーカー Myrf, CNP, MBP, PLP の発現量を用いて、経時的に増殖能と分化能を検討できるシステムを構築した。(図 3) これらを持ちいて、エピジェネティック制御因子をノックダウンして、OPC の分化誘

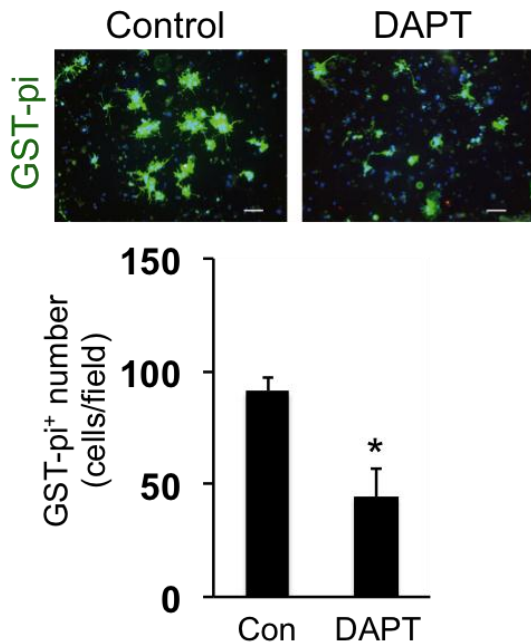
導に影響を与える複数の因子を同定することを試みた。

3. 研究の成果

3-1. OPC の新たな 3 次元培養系を確立して、グリアを多く含む生体の脳内環境に類似するシステム (培養系) の再現に成功し、それを報告した。(文献 1-4) これらのシステムを持ちいて、OPC の細胞密度あるいは、細胞の間の相互干渉を調整するゲルの強度が OPC の増殖能と分化能に重要であることを示した。さらに細胞間シグナルである Notch signal を抑制すると、分化能が低下することがわかった(図 4)。以上の結果から、3 次元培養系における OPC 細胞間のコミュニケーションが自らの増殖能と分化能に関わっていることを示した。これは、OPC が増殖を繰り返し、自ら同士の接触を通して、分化能をたかめていることを示し、脳内在する OPC の増殖能を調整することにより、グリア細胞の造成を促すことができる可能性を示した。



(図 3) 分化過程における OPC: PDGF-Ra mRNA とオリゴデンドロサイト: PLP mRNA 発現変化



(図 4) Notch シグナル抑制すると OPC の分化能が低下する。

3-2. 次に遺伝子の発現パターンを調整するエピジェネティック制御因子が、OPC に特に発現しており、それらをノックダウンすることによって、OPC に特異的に発現する PDGF-Rα や転写因子 Olig2、オリゴデンロイサイト特異的マーカー Myrf, CNP, MBP, PLP の発現量が変化することを確認した、これは、すなわちエピジェネティック因子が OPC の多能性と増殖性に深く関わっていることを示唆しており、状況に応じてエピジェネティック因子を増減させることにより、OPC の増殖能と分化能を調整できる可能性を示した。これらの成果については機関誌に投稿中である。(文献 5)

4. 今後の課題

ノックアウトマウスなどを用いて、どのエピジェネティック制御因子が実際の生体において、OPC の分化多能性を規定しているかを検討する。また、神経変性疾患モデルマウスを用いて、増加した OPC が、生体で実際にニューロンの細胞死の抑制や脳機能の改善に寄与するかについて検討する。

5. 研究成果の公表方法

以下のように、研究成果について機関誌に公表した。

(主要論文)

- 1) **Egawa N**, Lok J, Arai K. Mechanisms of cellular plasticity in cerebral perivascular region." *Progress in Brain Research*. 2016 Volume 225
- 2) **Egawa N**, Lok J, Washida K, Arai K. Mechanisms of Axonal Damage and Repair after Central Nervous System Injury. *Translational Stroke Research*. 2016 s12975-016-0495-1
- 3) **Egawa N**, Takase H, Lok J, Takahashi R, Arai K. Clinical application of oligodendrocyte precursor cells for cell-based therapy. *Brain Circulation*. 2016 2;3:P121-125
- 4) **Egawa N, et al**. A novel

three-dimensional culture system for oligodendrocyte precursor cells. *Stem cells and Development*. 2017 Jul 15;26(14):1078-1085.

- 5) **Egawa N** et al. Differential roles of epigenetic regulators in the survival and differentiation of oligodendrocyte precursor cells, *in*

submission

最後に、貴重な研究助成の機会をいただきました公益財団法人三井住友海上福祉財団の関係者方々に深く御礼申し上げます