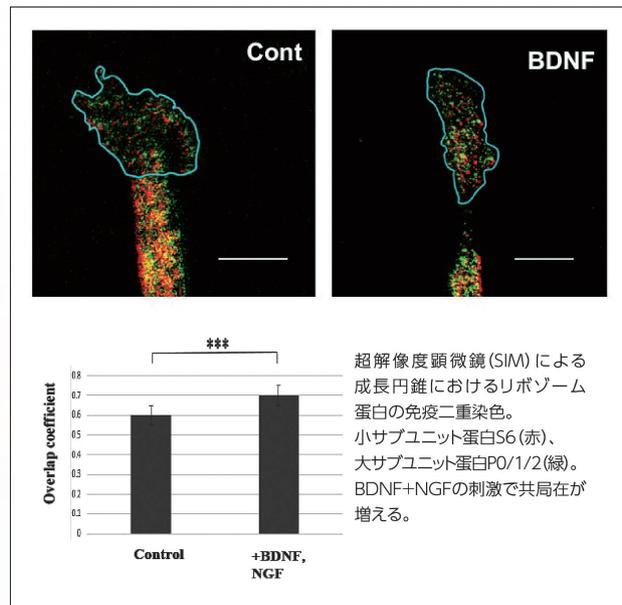


◆腫瘍病態学分野

神経栄養因子に応答した神経細胞の成長円錐におけるリボゾームの動態変化

ラットの後根神経節の感覚神経細胞を培養し、神経栄養因子で刺激すると、発達中の軸索の先端である成長円錐で局所蛋白合成が亢進する。蛋白合成、すなわち翻訳はリボゾームの大小サブユニットが会合し、そこを足場としてmRNAの情報を元にアミノ酸が繋がることによって起こる。しかしこのリボゾームの動態を捉えた研究はなかった。東京科学大(旧医科歯科)の星治教授との共同研究で、超解像度顕微鏡を用い小サブユニットのコンポーネントのS6と、大サブユニットのP0/1/2の共染色像を定量解析した。神経栄養因子の刺激によってこれらのマージが増え、翻訳複合体の形成の亢進が強く示唆された。成長円錐における翻訳機構の動的変化の可視化に成功した。(Neurochem. Res. 49:2774-2784.)

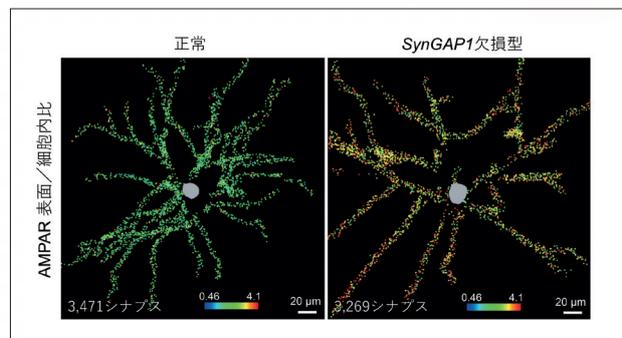


◆細胞病態学分野

AMPA型グルタミン酸受容体の表面／細胞内プールの識別に成功

AMPA型グルタミン酸受容体(AMPA)は脳機能の要となるシナプス伝達に不可欠な分子です。AMPAには、シナプス表面の表面プールとその内部の細胞内プールがあります。表面プールはシナプス伝達を直接的に担う一方、細胞内プールはAMPAの表面プールへの供給を担うとされ、学習の際には、表面プールが細胞内プールからの供給を介して増大すると考えられています。しかし、この2つのAMPAプールが個々のシナプスにおいてどのように配分されているのかは不明でした。細胞病態学分野では、独自のイメージング技術を通じて、マウス脳にてAMPAの表面／細胞内プールの識別に成功しました。正常な大脳皮質ニューロンと学習異常を伴う発達障害モデルである*SynGAP1*欠損ニューロンを比較すると、*SynGAP1*欠損は、個々のシナプスにおけるAMPAの表面／細胞内比を上昇させることがわかりました。このよう

なAMPAの表面／細胞内プールの定量的な理解は、正常と病態におけるシナプス機能の解明に役立つと考えられます。



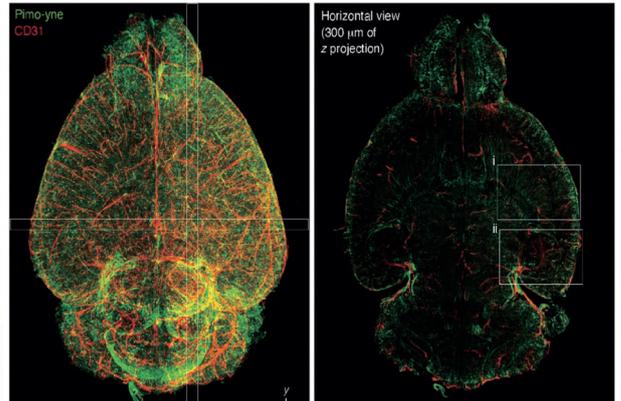
正常マウス(左)と*SynGAP1*欠損型の発達障害モデル(右)の単一大脳皮質ニューロンの各シナプスにおけるAMPAの表面プールと細胞内プールの比率(表面／細胞内比)のヒートマップ。SynGAP1欠損型では大部分のシナプスで表面／細胞内比の上昇が観察される。

◆システム脳病態学分野

新規ケミカルバイオロジーツールの開発と3Dイメージング解析

私たちの研究室では、組織透明化技術に適合する新規ケミカルバイオロジーツールの開発に取り組んでいます。本年度は、昨年度に開発した低酸素細胞を特異的に検出するケミカルプローブをさらに改良し、Science Advances誌にてクリック反応を用いた臓器全体の深部染色法を報告し、低酸素域や新生RNAを三次元的に可視化しました(Tamura *et al.* Sci Adv. 2024)。また、低コストでオープンソースの光シート顕微鏡 descSPIM に関する研究(Otomo *et al.* Nat Commun. 2024)、Arc-dVenus マウスを用いた社会的敗北ストレス回路の機能解明(Okuda *et al.* Neuropsychopharmacology 2024)、感覚-運動回路を標的としたジストニア治療の検証

(Yoshioka *et al.* Sci Adv. 2024)など、疾患モデルへの応用を通じて脳病態研究に貢献しました。



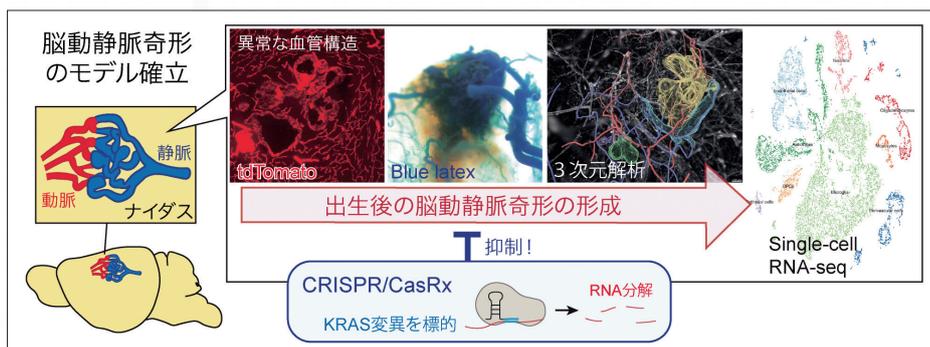
Click3D を使用した低酸素症モデルマウスの全脳低酸素イメージング画像、低酸素(緑)とCD31(赤)

◆システム脳病態学分野

脳動静脈奇形の発症プロセスと治療戦略を解明

脳動静脈奇形は、脳内に動脈と静脈が吻合した異常な血管網を形成し、血管の破裂により出血のリスクが高まる重篤な脳疾患です。しかし、異常な血管網が形成される機序は不明であり、形成を抑制する治療方法もわかっていません。私たちは、当研究所の脳神経外科学分野と共同研究を実施し、脳動静脈奇形に見られるKRAS遺伝子の変異を脳血管に導入することで、脳動静脈奇形を発症するマウスモデルを確立しました(Saito *et al.*, JCI Insight

2024)。透明化技術や1細胞解析から、病態形成の過程を、血管構造、細胞種、遺伝子発現のレベルで明らかにし、遺伝子編集技術CRISPR/CasRxによる治療方法の有用性をはじめて示しました。新生児期からはじまる異常血管の形成過程を模倣するはじめての実験モデルであり、脳動静脈奇形のさらなる形成機序の解明や治療法の開発に寄与することが期待されます。

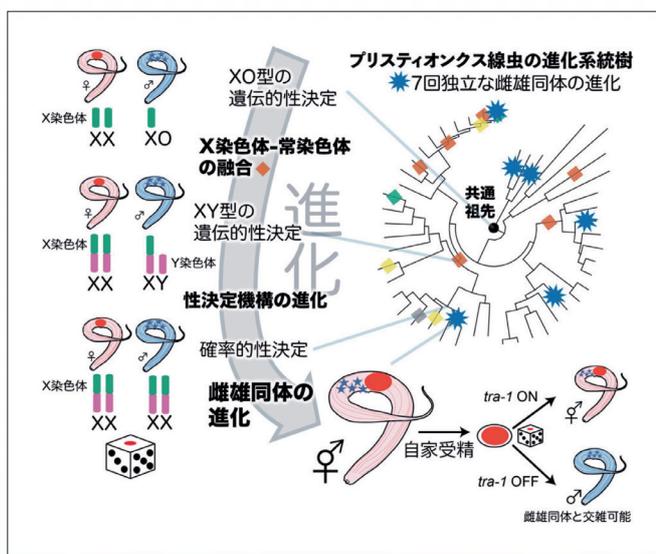


脳動静脈奇形のモデルマウスにおける病態の形成機序と抑止法

◆システム脳病態学分野

新しい生殖システムが生じる進化ダイナミクスを解明

私たち人間は男と女という二つの生物学的性をもっていますが、動物全般には様々な性の在り方があります。線虫を含む一部の動物ではオスとメスだけの種から、メスが精子を作り出し自家受精をする雌雄同体への進化が度々起こっています。なぜそのような進化が何度も起こり得るのかは長年の大きな謎でした。私たちは独国マックスプランク研究所のSommer研究室、東京大学の菊地研究室との共同研究で、雌雄同体を進化させた線虫の遺伝機構を解析し、一部の雌雄同体の種では*tra-1*という遺伝子のON/OFFを介して、確率的にオスを発生させる確率的性決定を進化的に獲得することで、雌雄同体が進化してきたことを明らかにしました。生殖システム、性染色体、性決定システムの進化が相互に関係する進化ダイナミクスを世界ではじめて示しました。(Yoshida et al., Nature Communications, 2024)

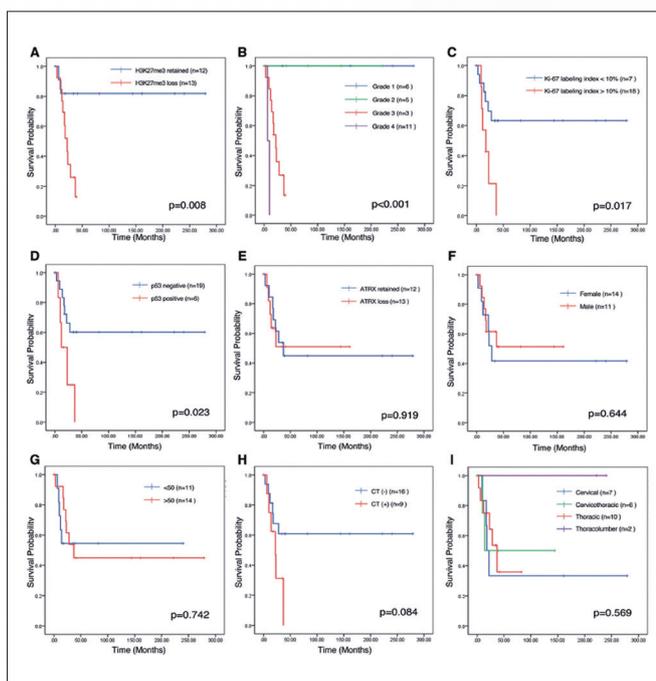


解明された生殖システムの進化ダイナミクス

◆病理学分野・脳疾患標本資源解析学分野

脊髄グリオーマの予後予測に有用な病理マーカーの同定

脊髄グリオーマの臨床・分子病理学的特徴や予後に関するデータは限られ、脳腫瘍において確立されている分子病理学的予後因子が、脊髄原発グリオーマにおいても同様の意義を持つかは不明であった。本研究は、25例の原発性脊髄グリオーマを対象に、臨床・病理学的特徴および免疫染色所見を解析し、H3K27me3の喪失、p53陽性、MIB-1高発現、組織学的悪性所見が、有意に全生存期間の短縮と関連することを明らかにした。特にH3K27me3の喪失は、H3K27M遺伝子変異の有無にかかわらず、予後不良と強く関連していた。また、EZHIP陽性例ではH3K27M陰性であっても悪性の臨床経過を辿る症例があり、H3K27me3の免疫染色は分子プロファイルの代用マーカーとして有用であることが示された。これらの結果は、脊髄グリオーマの病理診断および治療方針決定において、従来の組織学的診断に加えて免疫組織化学的所見を用いた新たな予後予測指標を提案するものである (J Neuropathol Exp Neurol 2024;83:1010-19)。



臨床病理学的因子と全生存期間の関連(Kaplan-Meier解析)

◆脳神経外科学分野

髄液中のDNAから脳幹部神経膠腫の髄膜播種診断に成功

血液、尿や脳腫瘍では髄液より微量な壊れた腫瘍DNAを同定することで、脳腫瘍や癌の診断を行う診断技術をリキッドバイオプシーといいます。新潟大学脳研究所脳神経外科を中心としたグループはリキッドバイオプシーの中でも、感度・特異度ともに極めて高い、cell free DNAに早期から着目し同定法を確立しました。本研究では脳幹部神経膠腫の髄液中cell free DNAからヒストン蛋白のH3K27M変異を同定することで、髄膜播種が診断できることを証明しました。脳幹部神経膠腫は脳幹に発生し、その局在から手術や生検術が困難であり、予後不良とされる小児悪性脳腫瘍です。脳幹部神経膠腫は、その局より予後は極めて不良です。髄液播種は腫瘍の進行を示す所見であり、今後はこの髄液播種の新しい診断方法の臨床応用を確立できるよう研究を進める予定です。本研究成果は、2025年1月9日、科学誌「Pediatric Blood and Cancer」のオンライン版に掲載されました。

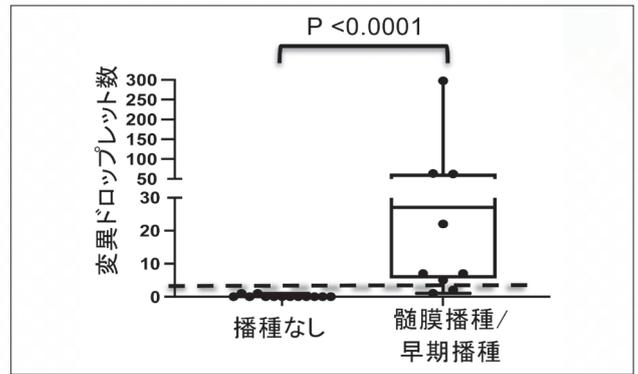


図1.2群における変異ドロップレット数

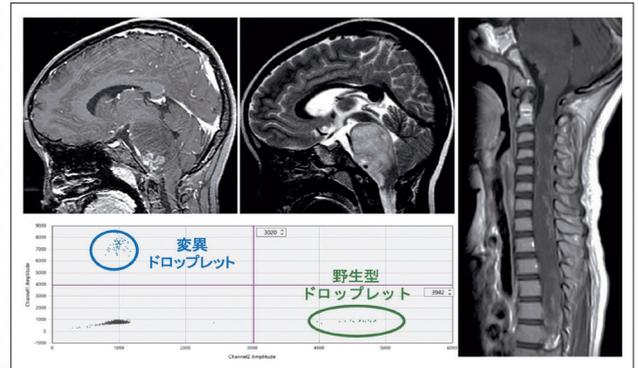


図2 早期播種した症例。腰椎穿刺で採取した髄液から変異ドロップレットが検出された。

◆脳神経内科学分野

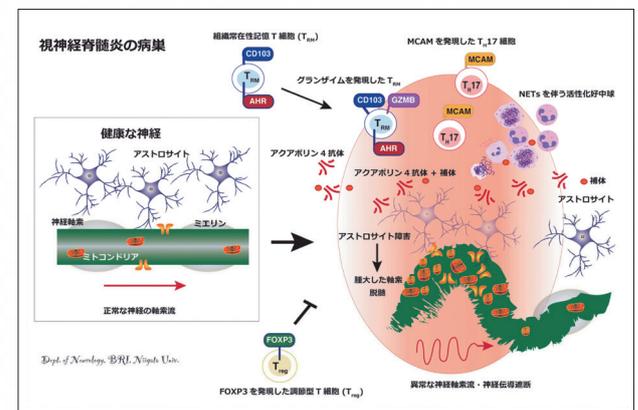
指定難病「視神経脊髄炎」「多発性硬化症」の炎症を正負に制御する免疫ダイナミクスを同定—好中球とT細胞制御を目指した新たな治療法に道—

指定難病「視神経脊髄炎(NMO)・多発性硬化症(MS)」は、視神経、脊髄や脳に炎症が起こり、視力の障害、手足の麻痺、しびれや認知機能障害などの症状が現れる神経難病です。近年、増加している疾患群で、多くは社会の生産活動の中核を成す20歳から40歳代の若年成人に発症するため、再発や症状の進行を抑止することは、社会にとって重要な課題です。

本研究では、視神経、脊髄に炎症を繰り返す指定難病「視神経脊髄炎」において、ステージ依存性に炎症を正負に制御する「新しい免疫ダイナミクス」を同定しました。①NMOの初期・早期活動性病変には細胞外DNAトラップ (NETs) を示唆するシトルリン化ヒストンを持つ活性化好中球やインターロイキン (IL)-17を産生する能力を持つ T_H17/T_C17 が集積する、② $CD103^+$ 組織常在性記憶T細胞 (T_{RM}) は、NMOのステージに関係なく存在しますが、特に初期・早期には細胞傷害性顆粒ランザイムを発現する、③NMOの初期・早期には、炎症を制御する力を持つ調節性 $FOXP3^+T_{reg}$ の集積することを明らかにしました。NETsを示唆するシトルリン化ヒストン陽性シグナルや T_H17/T_C17 の数は、NMOの病変の大きさとの正の相関を示すことから、NMOの病変の拡大に寄与している可能性が想定されました。

本研究により、NMOの免疫病態を包括的に理解するための基盤が確立しました。NMOの免疫ダイナミクスの制御 (好中球及びNETs、 T_H17/T_C17 、 T_{RM} の活性化抑止と、 $FOXP3^+T_{reg}$ の増幅) することで、再発を抑止し、神経を保護する新たな治療法の開発が期待されます。

本研究成果は、神経病理学分野のトップジャーナル「Acta Neuropathologica」の2024年に報告しました。



指定難病「視神経脊髄炎」におけるステージ依存性に炎症を正負に制御する免疫ダイナミクス

◆附属統合脳機能研究センター

硬膜移植後の異常蛋白蓄積パターン可視化による脳アミロイド血管症の病態解明

脳アミロイド血管症(Cerebral Amyloid Angiopathy; CAA)は、脳血管壁にアミロイドβ蛋白(Aβ)が蓄積する疾患である。これまでAβが移植硬膜を介して伝播する可能性が指摘されていたが、タウ蛋白の生体内での挙動は不明であった。

本研究は、幼少期にヒト乾燥硬膜移植を受けた症例を対象に高性能PETリガンドを用い、移植硬膜の対側大脳皮質でのAβ局所集積を検出するとともに、生体で初めてタウ蛋白が移植硬膜から直接伝播し蓄積するパターンを、Aβの血流または脳脊髄液による拡散と対比させて可視化した(Hatakeyama Y, Kimura AM et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2024)。この結果は、両者の異なる病変進展メカニズムを裏付けるものである。今後は症例数の増加と長期経過観察を通じて、神経変性疾患全般への展開や新規治療法開発につなげることが期待される。

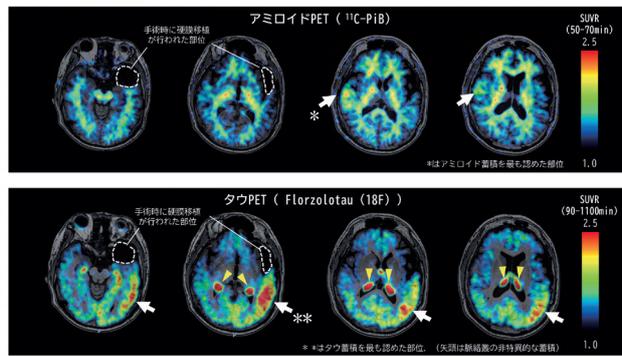


図1. アミロイドPETでは、手術時に硬膜移植が行われた部位の反対側にアミロイド蛋白の蓄積を認めました。一方、タウPETでは硬膜移植が行われた部位に隣接するように、タウ蛋白の蓄積が広がっているのが確認できました。

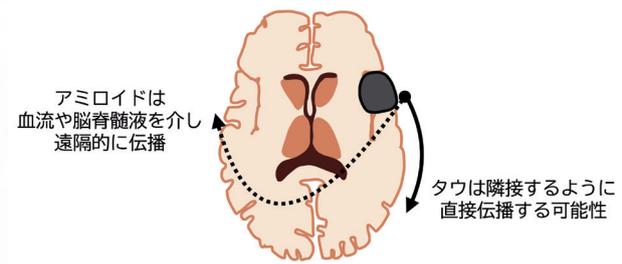
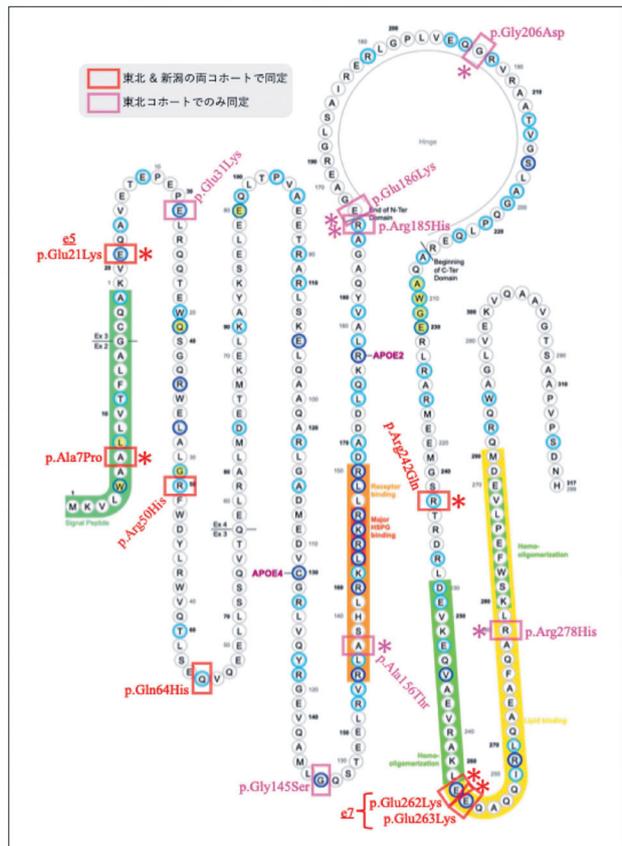


図2. アミロイド蛋白とタウ蛋白の伝播様式の違い

◆遺伝子機能解析学分野

日本人におけるAPOEレアミスセンスバリエントの同定とアルツハイマー病との関連を解明

アポリポタンパクE遺伝子(APOE)はアルツハイマー病(AD)の強力な感受性遺伝子です。近年、欧米ではAPOEの希少なアミノ酸置換を伴う変異(RMVs)の遺伝学的、機能的な意義付けが進み、それらがAD病態に関与することが分かってきました。RMVsは一般的に地域や人種に偏在する傾向にあります。東アジア人ではどうなのか?地域特異性や人種特異性を有するAPOE RMVsは存在するのか?こうした素朴な疑問から、我々日本人を解析対象として、本研究は出発しました。結果、日本人を含む東アジア人に優先的なRMVsを10個同定し、そのうちの2個はADに対して保護的であることが分かりました(Miyashita A et al. J Alzheimers Dis, 2025)。AD脳を特徴付ける老人斑や神経原線維変化との関係はどうなのか?重要な課題の1つとして現在進行形で取り組んでいます。

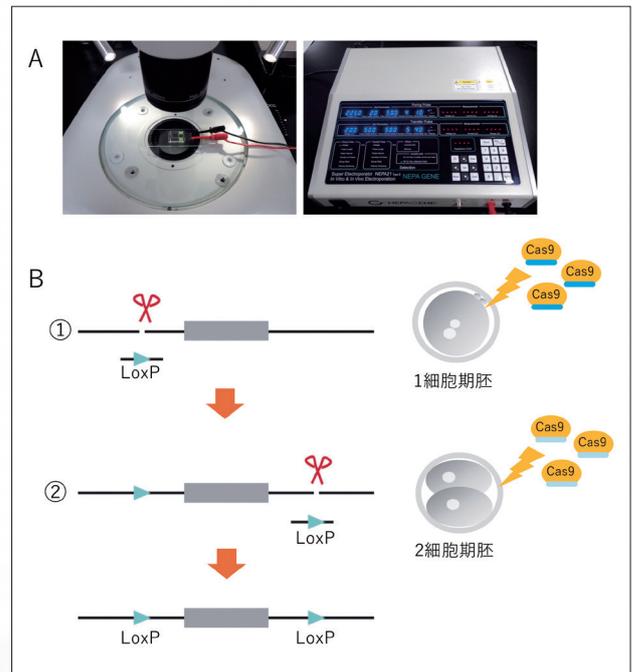


本研究で同定されたAPOE RMVs。14個を同定し、そのうち10個は日本人を含む東アジア人に優先的であった(*)。p.Glu262Lysとp.Glu263LysのRMVsはADに対して保護的であった。

効率的な遺伝子改変マウス作製法の改良

遺伝子改変マウスは、脳や神経の発達、働き、病気のしくみを調べるために大きく役立っています。最近では、CRISPR/Cas9によるゲノム編集技術をマウス受精卵に適用することで、さまざまなタイプの遺伝子改変マウスを短期間で作製できるようになってきました。たとえば、floxマウス(注1)のように、2か所の遺伝子座に特定の遺伝子変異を導入する必要があるマウスでも、胚の1細胞期と2細胞期にそれぞれの改変を加えることによって、一度の胚操作で作出することが可能です(図参照)。私たちの研究分野では、こうした複雑な遺伝子改変マウスをより早く、確実に作製するための方法を改良し続けています。

注1: 標的遺伝子の両側にloxP配列を挿入したマウス。Cre酵素が存在するとloxP配列間の遺伝子が切り出される。そのため、Cre酵素の発現をコントロールすることにより、特定の組織や時期を限定して標的遺伝子を欠失させることが可能となる。



2段階エレトロポレーションによる遺伝子改変マウスの作製

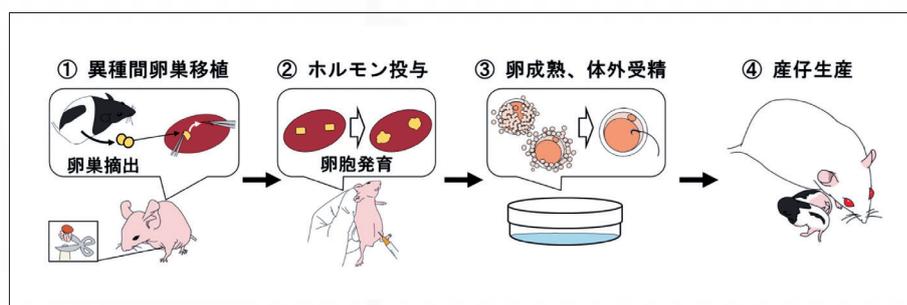
A) CRISPR/Cas9複合体をマウス受精卵に導入するための装置(エレトロポレーター)

B) 1細胞期胚と2細胞期胚とで2回に分けてCRISPR/Cas9複合体を導入することによって複雑な遺伝子改変を一度に行うことができる。

マウスの体を借りて成熟させたラット卵子から産仔作製に成功

ラットの卵巣を免疫不全マウス腎臓被膜下に移植する異種動物間卵巣移植法(図)により、マウス体内で发育させたラットの卵胞から卵子のもととなる卵母細胞を採取し、体外で成熟、受精させました。その受精卵を仮親のラットに移植することで、ラットの産仔を得ることに成功しました。さらに、この産仔から次世代の個体を得ることに成功し、その研究結果をScientific Reports(<https://doi.org/10.1038/s41598-024-71030-0>)に発表しました。

本手法は遺伝子組み換えラットの作製・維持の一助となるだけでなく、実験動物の生殖技術、畜産の繁殖技術、希少種の育種、病気や事故で死亡した動物卵巣から卵子を取得するなど、生殖医療を含めたあらゆる動物の個体作製への応用が期待できます。



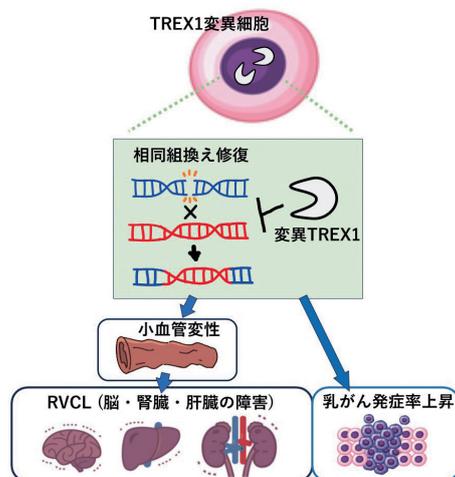
異種動物間卵巣移植法を用いたラット作製法
 ① 摘出したラット卵巣を切り分け、卵巣を除去した免疫不全マウスの腎臓被膜下に移植する。
 ② 移植卵巣内卵胞を发育させるためにホルモン投与を行う。
 ③ 採取した卵母細胞・卵子を成熟、体外受精させる。
 ④ 受精卵を仮親のラットに移植し産仔を得る。

◆分子神経疾患資源解析学分野

遺伝性白質脳症を引き起こす変異タンパク質の毒性分子機序の解明

RVCLは、脳、目、腎臓などの複数の臓器における小血管に障害を引き起こし、脳白質には偽腫瘍性の病変を形成する希少な遺伝性疾患です。RVCLの原因遺伝子は、DNA分解酵素であるエキソヌクレアーゼの遺伝子であるTREX1です。しかし、この遺伝子の変異がどのようにして臓器障害を引き起こすのか、そのメカニズムは明らかではありませんでした。私たちは、このRVCLに関連する変異TREX1タンパク質が二本鎖DNA切断損傷を誘発し、そのメカニズムとしてDNA切断修復機構である相同組換え修復の阻害が関与していることを発見しました。また、この変異を持つRVCL患者においては、遺伝性乳がんの原因となる相同組換えに関連する遺伝子変異と同程度のがん発症リスクの増加が観察されました。この分子メカニズムの解明により、難病であるRVCLの病変形成メカニズムの理解が進むとともに、治療薬の開発が加速することが期待されます。

本研究で明らかになったRVCL分子機序



通常、TREX1は細胞核の外側に局在していますが、RVCLにおける変異TREX1は核内に入り込みます。この核内に存在する変異TREX1によって、本来なら相同組換え修復機構によって完全に修復されるはずのDNA損傷修復が阻害され、二本鎖DNA切断損傷が増加します。さらに、修復された後のゲノムDNAにはDNA配列の欠損変異が蓄積していることが分かりました。

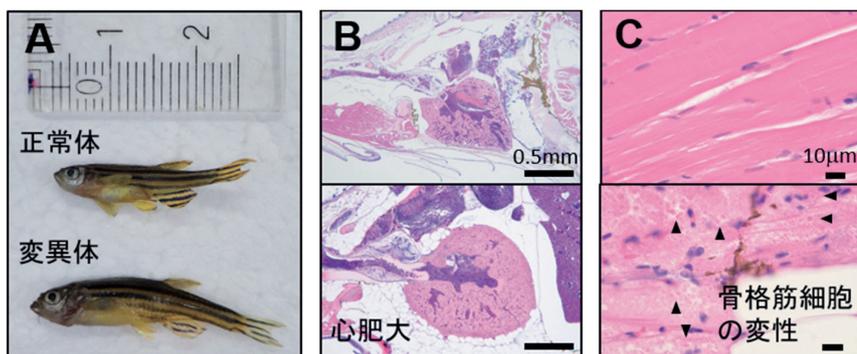
◆脳病態解析分野

神経難病 - 老化への新しいアプローチ

私達の研究室は「難病を克服する」・「障害を支え合う」・「科学の歴史を刻む」という理念のもと、日々研究を続けています。令和6年度はAMED-CREST、脳科学統合プログラムを含めた様々な研究費およびプロジェクトに支えられて、研究室全体および様々な研究室と共同で研究を推進しました(Islam et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2025; Hishida et al., *Mol. Genet. Metab. Rep.*, 2024; Takahashi et al., *Aging*, 2024など)。Islam et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2025はバングラデシュから大学院博士課程に国費留学

生として参加しているMd. Nazmul Islamさんの論文で、OPTNという神経変性疾患で重要な分子に関する解析を培養細胞を中心に用いて明らかにしたのになります。

ところで脳科学統合プログラムは令和6年8月に開始のグラントになります。島根大学の藤田幸先生、東京薬科大学の若菜裕一先生、そして新潟大学の井下結葵先生と一緒に、アルツハイマー病の病態を、これまでとは異なる新しい方向から明らかにしていくものです。画期的な成果が報告できるよう皆熱心に研究をしています。引き続きよろしくをお願いします。



CACT欠損症の原因遺伝子・slc25a20を破壊したゼブラフィッシュ変異体は、脂肪蓄積、心肥大、心筋細胞や骨格筋細胞の変性など、ヒト疾患の組織病理をよく模倣していました。同遺伝子と神経系や老化との関係は現在解析中です。(上段：正常体、下段：変異体) 図A:変異体の大きな魚体には脂肪が蓄積していた。B: 心臓。C: 骨格筋組織。図出典: Hishida et al., *Mol. Genet. Metab. Rep.*, 2024. 本図は CC BY-NC 4.0(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)に基づいて利用・改変。

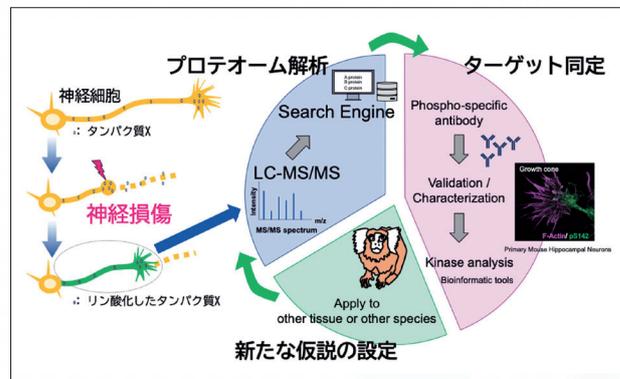
変性と再生の両面から神経疾患の克服を目指す

私たちの研究部門では、基礎研究で得られた深い知見を臨床応用へと繋げる「トランスレーショナルリサーチ」を強力に推進します。

一つ目の柱は、筋萎縮性側索硬化症に代表される神経変性疾患の克服です。疾患発症の鍵となるタンパク質「TDP-43」の異常に着目し、AMED等の支援を受け、これを根本から是正するアンチセンス核酸医薬の開発や、「隠れエクソン」が関与する新たな病態メカニズムの解明に挑戦します。

二つ目の柱は、異常な神経回路が引き起こす難治性疾患、特に「薬剤耐性てんかん」の克服です。神経成長関連タンパク質「GAP-43」のリン酸化に着目し、神経回路の構造的・機能的な変化を、生化学的な視点も加えて時空間的に可視化し、これまで見過ごされてきた治療標的や早期診断マーカーの同定に取り組みます。

両研究者の多角的なアプローチを融合させ、これまで治療が困難であった神経疾患に対する画期的な診断法や治療戦略を創出し、社会に還元することを目指します。



神経損傷後の神経再生のメカニズムと治療標的の探索
(Okada M., *Proteomics, Multi-Omics and Systems Biology in Optic Nerve Regeneration*. Chapter 16, 2025を参考に一部改変して作成)



脳研究所ホームページにて、各分野の研究成果を多数紹介しています。
ぜひご覧ください。

新潟大学脳研究所ホームページ > 研究成果・実績
<https://www.bri.niigata-u.ac.jp/research/result/>

