

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成29年 4月 18日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 富山大学・和漢医薬学総合研究所
 職 名 助教
 研究代表者名 久保山友晴

下記のとおり平成28年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 281002)

1. 共同利用研究 課題名	新規アストロサイト分泌分子による脊髄損傷からの運動機能回復とその機序の解明			
2. 共同利用研究 目的	損傷脊髄においてアストロサイトは、軸索再生阻害をする悪玉だと考えられている。しかし申請者らは過去の自身の研究成果より、脊髄損傷時にアストロサイトから分泌される分子が軸索伸長を誘発し、運動機能を回復させる善玉として機能するのではないかと考えている。そこで本研究では、アストロサイトから分泌されることを申請者らが初めて明らかにした分子 neuroleukin (別名 Glucose-6-phosphate isomerase) の、軸索伸長作用と脊髄損傷における運動機能回復作用、そしてその作用機序の解明を行う。			
3. 共同利用研究 期間	平成 28 年 7 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 久保山友晴	富山大学・和漢医薬学総合研究所	助教	研究の統括、細胞培養実験	
(分担研究者) 東田千尋 谷江良崇	富山大学・和漢医薬学総合研究所 富山大学・和漢医薬学総合研究所	准教授 大学院生	脊髄損傷マウス実験(行動) 脊髄損傷マウス実験(組織解析)	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	分子薬理分野	氏 名	上山健彦

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号: 281002)

6. 共同利用研究計画

申請者らの予備実験の結果、アストロサイトから neuroleukin が分泌されることが初めて明らかになった。Neuroleukin には神経保護作用が報告されていたが、申請者らが培養神経細胞を用いた検討を行ったところ、軸索伸長を誘発することも初めて明らかになった。そこで本研究では、脊髄損傷マウスの損傷部位に neuroleukin を投与した際に軸索伸長が誘発され、運動機能が回復するかどうかを明らかにする。また、どのように軸索伸長を誘発させるのか、その機序の解明を行う。Neuroleukin は、アストロサイトに処置すると neuroleukin の分泌を増加させるというプレリナリーな結果を申請者らは得ており、neuroleukin は神経細胞だけではなくアストロサイトにも作用することが明らかになっている。そこで申請者は受け入れ研究者の上山と協力して、アストロサイトが neuroleukin を分泌する機序についても明らかにする。

7. 共同利用研究の成果

脊髄損傷マウスの損傷部位に対して、損傷直後にリコンビナント neuroleukin を実質内へ単回投与したところ、投与 8 日目以降、後肢運動機能の回復が見られた。また損傷 20 日後に摘出した脊髄組織では、GFAP 陽性アストロサイトで囲まれた損傷領域内での NF-H 陽性軸索密度、及び neuroleukin の発現が、neuroleukin 投与群では有意に増加した。

初代培養アストロサイトに neuroleukin を処置すると、アストロサイト内の neuroleukin 発現量が増加した。また、neuroleukin 処置した培養アストロサイトの培養上清を培養神経細胞に処置すると、軸索伸長作用が見られた。この時、アストロサイトの培養上清中の neuroleukin 量が増加していた。

次に、DARTS 法を用いて、neuroleukin が直接作用するアストロサイト内の分子の探索を行った。その結果、78 kDa glucose-regulated protein (GRP78) が候補として同定された。GRP78 の中和抗体を培養アストロサイトに処置すると、neuroleukin 誘発性のアストロサイトからの neuroleukin の分泌が抑制された。

以上 neuroleukin は、脊髄損傷マウスにおいて軸索伸長を誘発し、運動機能を改善させる作用を示した。Neuroleukin はアストロサイトにも作用し、GRP78 を介して neuroleukin の分泌を誘発することを見出した。Neuroleukin を損傷脊髄に単回投与すると、投与した neuroleukin だけではなく、アストロサイトから分泌される neuroleukin によっても軸索伸長が誘発され、その結果運動機能が回復すると考えている。このような neuroleukin の作用を示したのは本研究が初めてである。以上の研究成果について、現在論文投稿準備中である。

本研究は当初の研究目的をほぼ果たすことができた。Neuroleukin の神経細胞に対する作用の機序に関しては平成 28 年度で明らかにすることはできなかったが、今後明らかにしていく予定である。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

論文

1. Ishii T, **Ueyama T**, Shigyo M, Kohta M, Kondoh T, **Kuboyama T**, Uebi T, Hamada T, Gutmann DH, Aiba A, Kohmura E, **Tohda C**, Saito N. A Novel Rac1-GSPT1 Signaling Pathway Controls Astroglialosis Following Central Nervous System Injury. J Biol Chem (2017) 292(4):1240-1250.

学会発表

2. **谷江良崇**、田辺紀夫、**久保山友晴**、**東田千尋** 細胞外 neuroleukin は脊髄損傷の運動機能障害を回復させる 第 59 回日本神経化学会(福岡市)2016, 9, 8-10.
3. **Tanie Y**, Tanabe N, **Kuboyama T**, **Tohda C**. Extracellular neuroleukin improves hindlimb motor dysfunction of spinal cord injury. Neuroscience 2016 (San Diego, U.S.A.) 2016, 11, 12-16.

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

特になし