

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和8年4月1日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 順天堂大学
職 名 特任教授
研究代表者 谷田 以誠

下記のとおり令和7年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:24014)

| | | | | |
|---------------------------|---|------------|---|------|
| 1. 共同研究課題名 | 中枢神経組織におけるオートファジー・リソソーム系分解系およびエンドソーム・リソソーム経路の生理学的解析 | | | |
| 2. 共同研究目的 | 中枢神経組織におけるオートファジー・リソソーム分解系やエンドソーム・リソソーム経路の果たす役割を明らかにするために、神経セロイドリポフスチン症(NCL)に關与するカテプシン D やカテプシン F、海馬形成に關与する Rab35 に注目し、貴研究所共同研究先の細胞構造分野の蛍光顕微鏡解析技術と弊センターの最新 In-resin CLEM 技術・電子顕微鏡による超微形態解析技術を用いて、中枢神経組織におけるオートファジー・リソソーム分解系およびエンドソーム・リソソーム経路の生理機能の解明を目指す。 | | | |
| 3. 共同研究期間 | 令和7年4月1日 ~ 令和8年3月31日 | | | |
| 4. 共同研究組織 | | | | |
| 氏名 | 所属等 | 職名等 | 役割分担 | |
| (研究代表者) 谷田 以誠 | 順天堂大学大学院医学研究科 | 特任教授 | 実験統括・In-resin CLEM 解析 | |
| (分担研究者) 山口 隼司 内山 安男 | 順天堂大学大学院医学研究科 順天堂大学大学院医学研究科 | 助教 特任教授 | 電子顕微鏡・In-resin CLEM 解析・3次元解析 電子顕微鏡像の解析 | |
| 5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員 | 分野名 | 細胞構造分野 | 氏名 | 佐藤 健 |

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

(課題番号:)

6. 共同研究計画

カテプシン D^{flox/flox} マウスと細胞特異的プロモーターの下流に Cre リコンビナーゼを発現できる AAV ベクターを用いて、神経細胞・アストロサイト・ミクログリアそれぞれの細胞特異的ノックアウトマウスを作出し、それぞれの細胞における遺伝子欠損がもたらす中枢神経組織のオルガネラ形態異常を明らかにする。また若年型 NCL (ANCL) のモデルマウスと言われる全身カテプシン F ノックアウトマウス、また海馬形成不全を示す中枢神経特異的 Rab35 ノックアウトマウスを用いて、遺伝子欠損がもたらす生理学的・組織学的形態変化を解析する。共焦点レーザー顕微鏡や超解像顕微鏡を用いて、形態学的異常やオートファジー・リソソーム分解系不全の際に認められる p62・ユビキチンの蓄積などを解析する。神経変性や発生異常、オルガネラ異常などが認められる領域については In-resin CLEM・電子顕微鏡による超微形態解析技術をおこなう。

7. 共同研究の成果

成熟した神経細胞におけるカテプシン D の影響を調べるために、カテプシン D^{flox/flox} マウスにマウス脳の血液脳関門を通過でき、Cre リコンビナーゼを発現できるアデノ随伴ベクター-PHP.eB-AAV-CMV-Cre-GFP を 8 週齢にて感染させたところ、20 週を過ぎる頃から生存率の低下が認められた。また 11 月齢のマウスでは神経変性疾患様表現型を示した。このマウス大脳皮質・視床では NeuN 陽性神経細胞が少なく、Iba1 陽性ミクログリア及び GFAP 陽性アストロサイトが増加していた。このときリソソームのマーカーである LAMP1 シグナルを調べると、大脳皮質の II/III 層および IV 層に LAMP1 陽性シグナルの増加が認められた。II/III 層および IV 層の LAMP1 陽性シグナルは GFAP 陽性のアストロサイト内に認められた。In-resin CLEM を用いて、II/III 層のアストロサイト内のリソソームを解析すると、アストロサイト内のリソソームに異常なリソソーム (GROD) が蓄積していた。また、V 層には、ガレクチン 3 陽性ミクログリアのサブポピュレーションが存在しており、V 層のミクログリアのリソソーム内に、変性した神経細胞核が認められた。このことは、大脳皮質では層特異的アストロサイトが存在し、それぞれに食能を介した層特異的な機能があることを成果で初めて示した。全身カテプシン F ノックアウトマウスについては、15 か月齢あたりから神経変性疾患様表現型を呈しはじめており、現在解析中である。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDF ファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係: kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

③ 学会発表を行った主なもの 3 件以内 (学会名、開催日、演題)

・三井 駿、山口 隼司、鈴木 ちぐれ、谷田 以誠、内山 安男: In-resin CLEM による CtsD 欠損神経変性マウス脳組織の高精度な分子局在と超微形態解析、第 131 回日本解剖学会総会・全国学術集会 2026/03/24

・真田 貴人、鈴木 ちぐれ、山口 隼司、角田 宗一郎、三井 駿、谷田 以誠、内山 安男: 神経系特異的なカテプシン B・カテプシン L 二重欠損マウスの加齢に伴う脳領域特異的な病態変化、第 131 回日本解剖学会総会・全国学術集会 2026/03/25

・鈴木 ちぐれ、山口 隼司、三井 駿、真田 貴人、角田 宗一郎、谷田 以誠、内山 安男: 神経特異的カテプシン D 欠損マウスにおける α シヌクレインの可視化とミクログリア活性の関係、第 131 回日本解剖学会総会・全国学術集会 2026/03/26

④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況 (主なやり取りを箇条書き)

メールによる進捗状況・論文化へのやりとり、解析データを持ちよって研究成果へとまとめるための対面での会議、ZOOM による解析データに関する議論