2025 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	**糖尿病母体の仔における中枢神経炎症発症機序の検討** **ーリポカリン 2 と Glucagon-Like Peptide-1 応答の観点からー**
キーワード	①リポカリン 2、②Glucagon-Like Peptide-1、③糖尿病合併妊娠

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏　名	リ　コクキョウ 李　国姣
配付時の所属先・職位等 （令和 7 年 4 月 1 日現在）	東京医科大学糖尿病・代謝・内分泌内科学分野、ポスト・ドクター
現在の所属先・職位等	東京医科大学糖尿病・代謝・内分泌内科学分野、ポスト・ドクター
プロフィール	中国出身。東京大学にて医学博士号を取得後、現在は東京医科大学病院 糖尿病・代謝・内分泌内科に所属し、母体高血糖環境が次世代の脳機能および神経炎症に及ぼす影響について研究を行っている。主に神経細胞を中心とした神経炎症機構の解析に取り組んでおり、リポカリン 2（LCN2）を介した細胞応答に着目している。2023 年には国際糖尿病連合年次学術集会にて研究発表を行った。基礎医学研究を通じて、糖尿病による次世代健康影響の解明と、新たな予防・治療戦略への応用を目指している。

1. 研究の概要

近年、糖尿病患者数の増加に伴い、妊娠中の高血糖環境が胎児発達へ与える影響について関心が高まっている。特に、母体高血糖は出生児の代謝異常のみならず、中枢神経系の発達や脳機能にも影響を及ぼす可能性が示唆されている。しかし、その詳細な分子機構については未解明な部分が多い。近年の研究では、神経炎症が神経発達症や神経変性疾患に深く関与することが報告されており、その中でも astrocyte や microglia などのグリア細胞が重要な役割を担うことが注目されている。astrocyte は中枢神経系において neuron の生存維持、栄養供給、炎症応答制御などに関与し、神経環境の維持に重要な役割を果たしている。一方で、炎症環境下では reactive astrocyte へ変化し、神経障害に関与する可能性も報告されている。

リポカリン 2（LCN2）は炎症関連タンパク質として知られており、中枢神経系における神経炎症や細胞障害との関連が報告されている。特に、astrocyte や microglia から分泌されることが知られており、神経炎症環境下における neuron 障害への関与が注目されている。

これまで応募者は、母体高血糖モデルマウス大脳組織に対して RNA-sequencing 解析を行い、LCN2 遺伝子の発現変動を確認した。さらに、qPCR および免疫染色による検証を行い、LCN2 発現増加傾向を確認した。また、免疫染色解析により、LCN2 が neuron および astrocyte において共発現していることを確認した。

さらに、胎盤組織に対する免疫染色解析も行った結果、LCN2 は母体由来で胎仔に移行しているのではなく、胎仔側で産生されている可能性が示唆された。

本研究では、胎仔マウス大脳皮質由来の neuron および astrocyte 初代培養系を用いて、LCN2 刺激による細胞応答解析を行った。また、astrocyte と neuron の相互作用にも着目し、母体高血糖環境下における神経炎症機構の解明を目的として研究を進めた。

2. 研究の動機、目的

近年、糖尿病患者数の増加に伴い、妊娠中の高血糖環境が胎児発達や次世代の脳機能に与える影響が注目されている。特に、母体高血糖は出生児の代謝異常のみならず、中枢神経系の発達異常や神経炎症を誘導する可能性が示唆されているが、その詳細な分子機構については未だ十分に解明されていない。申請者はこれまでに、母体高血糖モデル由来仔マウス大脳皮質においてLCN2発現増加およびastrocyteとの共発現を確認し、LCN2関連神経炎症の関与を見出した。また、胎盤解析から、LCN2が単純な母体由来移行ではなく、胎仔側で産生されている可能性を明らかにした。さらに、LCN2刺激によりneuronでは細胞障害傾向が認められる一方、astrocyteでは活性化や形態変化が誘導される可能性が示唆された。本研究では、胎仔マウス由来のneuronおよびastrocyte初代培養系を用いて、LCN2刺激による細胞応答および細胞間相互作用を解析し、母体高血糖環境下における神経炎症機構の解明と、新規予防・治療戦略への応用につなげることを目的とした。

3. 研究の結果

1）初代培養系の確立

新生仔マウス大脳皮質よりneuronおよびastrocyteの初代培養系を確立し、雄雌別に分離した上で解析を行った。初代培養系の構築にあたっては、細胞培養条件、播種密度、培養期間などを検討し、安定した解析系の確立を進めた。neuron初代培養では神経突起形成や細胞生存性について評価を行い、astrocyte初代培養では細胞増殖や形態形成について観察するとともに、免疫染色により細胞特性を確認した。

2）LCN2刺激による細胞応答解析

LCN2刺激実験では、組換えマウスLCN2タンパク質を複数濃度で添加し、細胞生存率、細胞数、形態学的変化などについて評価を行った。その結果、neuronではLCN2濃度の上昇に伴い、細胞萎縮および細胞死の傾向が認められた。特に高濃度刺激群では、神経突起の短縮や細胞数減少が観察され、LCN2が神経細胞へ毒性的に作用する可能性が示唆された。

一方、astrocyteではLCN2刺激後も細胞生存が維持され、一部条件では細胞増殖および形態変化の傾向が認められた。さらに、高濃度刺激条件下においても一定の生存性が維持されており、neuronとは異なる応答を示した。また、細胞肥大化や突起変化など、reactive astrocyteを示唆する形態学的変化も観察された。

3）高血糖環境下における神経炎症機構の解析

astrocyteおよびLCN2の免疫染色解析を進めた結果、母体高血糖環境由来細胞においてLCN2発現の増加傾向を確認した。また、LCN2濃度の上昇に伴い、astrocyteにおいて細胞増殖および形態変化の傾向が認められ、LCN2がastrocyte活性化に関与している可能性が示唆された。

これらの結果より、LCN2に対する応答性は細胞種によって異なる可能性が示唆された。neuronでは細胞障害が誘導される一方、astrocyteでは炎症応答や活性化反応が誘導されている可能性が考えられた。

さらに、本研究結果より、astrocyteとneuron間の相互作用が神経炎症進展に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。高血糖環境下で活性化したastrocyteがLCN2関連炎症応答を介してneuron障害へ関与している可能性が考えられ、母体高血糖環境による次世代脳機能異常との関連が示唆された。

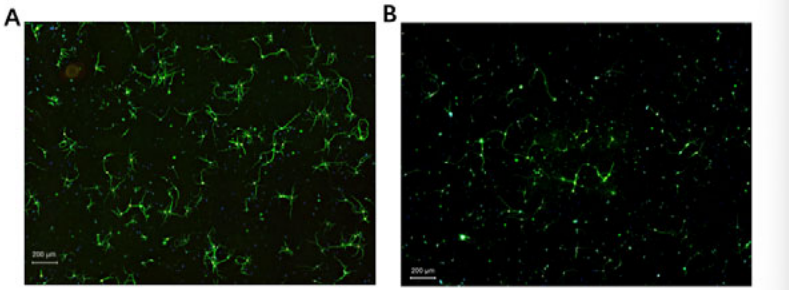


図1. 母体高血糖環境が胎仔由来neuronへ及ぼす影響

正常耐糖能母体由来群（A）では神経突起形成および細胞ネットワーク形成が良好に維持されていた。一方、高血糖母体由来群（B）では神経突起減少および細胞密度低下傾向が認められた。neuronマーカーとしてMAP2（緑）、NeuN（赤）、核染色としてDAPI（青）を用いた。

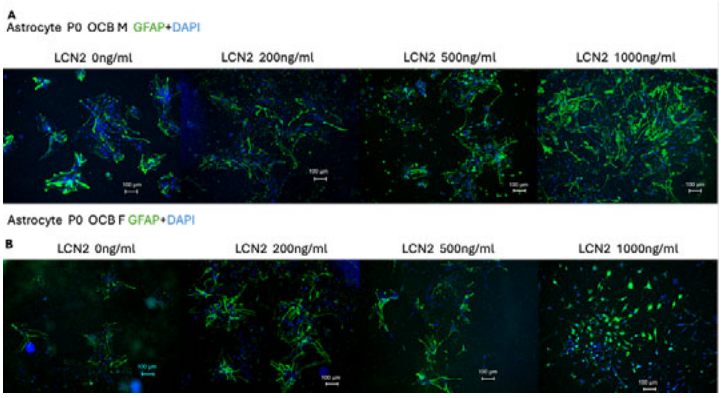


図 2. LCN2 刺激による astrocyte 初代培養細胞の形態変化
正常耐糖能母体由来胎仔マウス大脳皮質より作製した astrocyte 初代培養細胞について、雄性（上段）および雌性（下段）に分け、異なる濃度の LCN2 刺激後に免疫染色を行った。astrocyte マーカーとして GFAP（緑）、核染色として DAPI（青）を用いた。

4）GLP-1 受容体活性との関連解析

GLP-1 受容体活性との関連についても解析系の構築を進めた。リラグルチド投与条件および cAMP 解析条件の検討を行い、LCN2 刺激が GLP-1 シグナルへ及ぼす影響について評価可能な実験系の整備を進めた。

4. 研究者としてのこれからの展望

私は、母体高血糖環境が次世代の脳機能や神経炎症へ及ぼす影響について、基礎研究の視点から病態機構の解明に取り組み、将来的には糖尿病関連疾患の予防および新規治療戦略の構築へつなげたいと考えている。特に、LCN2 を介した神経炎症応答や astrocyte と neuron 間の相互作用に着目し、GLP-1 シグナルとの関連も含めた分子機構の解明を進めることで、次世代健康障害の新たな理解につながる知見を蓄積したいと考えている。

また、今後は GFAP 発現解析や炎症関連分子の評価を進めるとともに、雄雌別初代培養系を用いた解析を継続し、性差による細胞応答性の違いについても詳細に検討したいと考えている。さらに、細胞レベルで得られた知見を個体レベルの病態理解へ発展させることで、母体高血糖環境による神経炎症機構の全容解明を目指したい。

加えて、研究活動を通じて若手研究者として経験を積み重ねるとともに、研究の楽しさや重要性を次世代へ伝えられる研究者を目指している。今後も基礎医学研究に真摯に取り組み、若手女性研究者として多様な視点を活かしながら、研究分野の発展および後進育成にも貢献していきたいと考えている。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

このたびは、若手・女性研究者奨励金によるご支援を賜り、心より御礼申し上げます。ご支援をいただきました企業の皆様、関係者の皆様、ならびに日本私立学校振興・共済事業団の皆様に深く感謝申し上げます。皆様からの温かいご支援は、若手研究者の育成のみならず、将来の医学・医療の発展に大きく寄与するものであると実感しております。

本研究では、母体高血糖環境が次世代の脳機能へ与える影響について、神経炎症という観点から解析を進めております。ご支援により、初代培養系の構築や細胞解析を継続的に実施することができ、研究を推進する上で大きな支えとなりました。

基礎研究は成果が得られるまでに長い時間を要しますが、病態理解や新規治療戦略の構築につながる重要な研究であると考えております。今後も研究活動を通じて、糖尿病関連疾患や次世代健康問題の理解に貢献できるよう努めてまいります。

改めまして、このたびの温かいご支援に深く感謝申し上げます。今後ともご指導・ご支援のほど、何卒よろしくお願い申し上げます。