

氏名	まんなり てつや 萬成 哲也
学位(専攻分野)	博士(学術)
学位記番号	博甲第827号
学位授与の日付	平成29年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 生命物質科学専攻
学位論文題目	Brain control for sensing of peripheral blood information and maintenance of body homeostasis (脳による末梢血液情報感知とホメオスタシス維持機構)
審査委員	(主査)教授 宮田清司 教授 山口政光 教授 伊藤雅信

論文内容の要旨

生体におけるホメオスタシス維持は、生命活動に必要不可欠なシステムである。よって、ホメオスタシスの崩壊は、病気を発症するだけでなく、死に至る場合もある。血液組成変化などの情報は、末梢神経系だけでなく、脳の特定部位で感知され、ホメオスタシス維持機構が作動する。通常、脳の血管透過性は、血液由来生体分子による神経細胞死を回避するために血液脳関門で著しく制限されている。しかし、感知系脳室周囲器官は、血液脳関門を欠き血液情報を直接感知することができる。感知された血液情報は、視床下部-脳下垂体系を含む脳の自律神経制御中枢へと伝達される。視床下部-脳下垂体系は、バソプレシンやオキシトシンを下垂体後葉から分泌することで、体液のホメオスタシスを維持する役割を担っている。

本申請論文では、序論、第1章「感知系脳室周囲器官における末梢血液情報の transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)による感知機構」、第2章「感知系脳室周囲器官のアストロサイト TRPV1 が signal transducers and activator of transcription 3 (STAT3)活性化と体温調節に関与するメカニズム」、第3章「視床下部-脳下垂体系における Notch シグナリング」から構成されている。序論では、哺乳動物における神経系とホルモンによるホメオスタシス維持機構について概説している。次に、ホメオスタシス維持機構における脳の果たす役割を解説した。第一章と第二章では、脳室周囲器官の TRPV1 が血液情報を直接感知し、Fos や STAT3 などのシグナルを介した脳の情報伝達により浸透圧や体温のホメオスタシスを維持する機構についてまとめている。第三章では、視床下部-脳下垂体系において Notch3-Delta like 4 (DLL4)による細胞間シグナリングが、構造的再構築に関与することでバソプレシン分泌を制御する機構について解説している。

第1章では、感知系脳室周囲器官における末梢血液情報を感知する機構解明を目的とし、センサータンパク質 TRPV1 に焦点をあてている。TRPV1 は、43度以上の温度、機械的/高浸透圧刺激、酸やカプサイシンなどの化学物質によって活性化される。まず、免疫組織化学により、TRPV1 がマウス感知系脳室周囲器官の密なアストロサイトネットワークに発現していることを明らかにした。次に、TRPV1 アゴニストであるレシニフェラトキシンを、静脈内あるいは脳室内投与したところ、アストロサイトに細胞活性マーカーである Fos の発現が観察された。また、TRPV1 アゴニストの投与により、感知系脳室周囲器官のアストロサイトだけでなく隣接した脳部位の神経

細胞に Fos 発現が観察された。しかし、TRPV1 ノックアウトマウスでは、TRPV1 アゴニストによる Fos 発現が観察されなかった。以上の結果より、脳室周囲器官のアストロサイト TRPV1 が末梢血液や脳脊髄液の情報を直接感知し、その情報を神経細胞に伝達していることが明らかになった。よって、アストロサイト TRPV1 は、血液の高浸透圧や酸を直接感知し、体内ホメオスタシス維持に重要な役割を持つことが示唆された。

第 2 章では、感知系脳室周囲器官の TRPV1 が血液や脳内の情報感知だけでなく、炎症性の情報伝達経路に関与することを述べている。TRPV1 アゴニストであるレシニフェラトキシンをマウスの脳室内に投与すると、炎症性のシグナル転写調節因子 STAT3 が活性化された。STAT3 が活性化された脳部位は、主に感知系脳室周囲器官と体温・自律神経中枢であった。興味深いことに、TRPV1 アゴニストにより活性化されたこれらの脳部位は、グラム陰性菌由来のエンドトキシンであるリポ多糖投与により活性化された脳部位とほぼ同じであった。一方、TRPV1 ノックアウトマウスでは、リポ多糖投与による STAT3 活性化がほとんど生じなかった。よって、細菌感染時には、TRPV1 を介し炎症性のシグナルである STAT3 が活性化され、脳の炎症経路が活性化されることが明らかになった。TRPV1 アゴニストの脳室内投与は、一過性の顕著な体温低下を引き起したが、TRPV1 アンタゴニストであるカプサゼピン投与は、リポ多糖投与による発熱を増強した。これらの結果より、脳の TRPV1 は、感染による発熱のオーバーシュートを抑止することで体温ホメオスタシス維持に関与していると考えられる。

第 3 章では、視床下部-脳下垂体系の構造的再構築に関与する細胞間の認識分子として Notch3 とそのリガンドである DLL4 について焦点をあてている。マウス視床下部のバソプレシンやオキシトシン産生神経では細胞体と樹状突起に Notch3 が発現しており、求心性の神経終末部に DLL4 が発現していた。また、下垂体後葉では、オキシトシンの神経終末部に DLL4、グリア細胞に Notch3 の発現が見られた。神経内分泌が昂進する持続的浸透圧刺激をマウスに負荷すると、DLL4 の発現量が減少し、慢性・急性浸透圧刺激の両方で Notch3 の活性化により生じる内部フラグメント転写調節因子発現量の増加が見られた。以上の結果より、視床下部-下垂体後葉系の構造的再構築において Notch3-DLL4 による細胞間シグナリングが関与していることが示された。

論文審査の結果の要旨

血液などの体液組成は、環境や老化などにより変化するが体液組成を一定に保つホメオスタシス維持機構が存在している。しかし、このホメオスタシス維持機構に異常が生じると病気を発症する。

申請者は、酸、浸透圧/機械刺激、化学物質を感知することができるセンサータンパク質 TRPV1 に着目し、脳が血液情報を感知する機構を明らかにした。まず、免疫組織化学により、TRPV1 が脳室周囲器官のアストロサイトに存在することを見出した。さらに、TRPV1 アゴニストを、静脈内あるいは脳室内投与すると、脳室周囲器官のアストロサイトに細胞活性化指標である Fos タンパク質と炎症経路活性化指標である STAT3 の活性化が生じることを観察している。しかし、これらのタンパク質の活性化は TRPV1 ノックアウトマウスでは観察されなかった。この研究結果は、血液脳関門を欠く脳室周囲器官のアストロサイトに発現している TRPV1 が、血液や脳脊髄液の情報を直接感知していることを証明したものである。神経細胞は、血液由来分子により障害を受

けやすく、血液脳関門により保護されている。しかし、脳室周囲器官ではアストロサイトがセンサー機能を担うことで、神経死を回避していることを示している。

次に、申請者は神経内分泌における視床下部-脳下垂体系の構造的再構築に関して、細胞間の認識分子 Notch3-DLL4 の機能を明らかにした。まず、免疫組織学により、視床下部の神経細胞には Notch3、終末部には DLL4 が存在し、下垂体後葉のグリア細胞には Notch3、終末部には DLL4 が存在することを明らかにした。さらに、神経内分泌が昂進する刺激を与えると Notch3 が活性化し、細胞間のシグナル伝達が起きていることを明らかにしている。この研究結果は、Notch3-DLL4 が神経-神経あるいは神経-グリア細胞の相互認識に関与し構造的再構築を引き起こすことで神経内分泌を調節していることを示唆するものである。

これら一連の研究は、脳が血液情報を直接感知するメカニズムと血液ホメオスタシスを維持する神経内分泌機構を分子レベルで解明したもので、学術的意義は高い。また、医学・薬学的意義も大きく、血液組成の変化に起因する病気の原因解明や治療方法の開発に貢献する研究である。

学位論文は、申請者が筆頭著者である 2 編を含む、査読性のある下記の国際科学雑誌 3 編に掲載されている。

[公表論文]

- 1) Tetsuya Mannari, Shoko Morita, Eriko Furube, Makoto Tominaga, and Seiji Miyata: Astrocytic TRPV1 Ion Channels Detect Blood-Borne Signals in the Sensory Circumventricular Organs of Adult Mouse Brains. GLIA Volume 61 No.6, pp. 957-971, 2013.
- 2) T. Mannari and S. Miyata.: Activity-Dependent Notch Signalling in the Hypothalamic-Neurohypophysial System of Adult Mouse Brains. Journal of Neuroendocrinology, 2014, 26, 497-509.
- 3) Ayaka Yoshida, Eriko Furube, Tetsuya Mannari, Yasunori Takayama, Hiroki Kittaka, Makoto Tominaga & Seiji Miyata: TRPV1 is crucial for proinflammatory STAT3 signaling and thermoregulation-associated pathways in the brain during inflammation. SCIENTIFIC REPORTS, 6; 26088, 2016 .

参考論文として申請者が筆頭著者である 1 編を含む国際科学雑誌 4 編に掲載されている。

[参考論文]

- 4) Eriko Furube, Tetsuya Mannari, Shoko Morita, Kazunori Nishikawa, Ayaka Yoshida , Masanobu Itoh and Seiji Miyata: VEGF-dependent and PDGF-dependent dynamic neurovascular reconstruction in the neurohypophysis of adult mice. Journal of Endocrinology, VOL.222(1), pp. 161-179, 2014.
- 5) Tetsuya Mannari · Hayato Sawa · Eriko Furube · Shohei Fukushima · Kazunori Nishikawa · Toshihiro Nakashimna · Seiji Miyata: Antidepressant-induced vascular dynamics in the hippocampus of adult mouse brain. Cell and Tissue Research, Volume 358(1), pp. 43-55, 2014 .
- 6) Shoko Morita · Eriko Furube · Tetsuya Mannari · Hiroaki Okuda · Kouko Tatsumi · Akio Wanaka · Seiji Miyata Vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis and dynamic vascular plasticity in the sensory circumventricular organs of adult mouse brain. Cell and Tissue Research, Volume 359(1), pp. 865-884, 2015.
- 7) Shoko Morita · Eriko Furube · Tetsuya Mannari · Hiroaki Okuda · Kouko Tatsumi · Akio Wanaka · Seiji Miyata: Heterogeneous vascular permeability and alternative

diffusion barrier in sensory circumventricular organs of adult mouse brain. *Cell and Tissue Research*, Volume 360(3), pp. 497-511, 2016