

氏 名	もりた しょうこ <b>森田 晶子</b>
学位(専攻分野)	博 士 ( 学 術 )
学 位 記 番 号	博 甲 第 6 5 3 号
学位授与の日付	平成 25 年 3 月 25 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	<b>The blood-brain communication by the circumventricular organs</b> (脳室周囲器官による脳-血液間情報交換機序の解析)
審 査 委 員	(主査)教授 中島敏博 教授 遠藤泰久 教授 山口政光

## 論文内容の要旨

哺乳類の脳では血管新生が出生直前まで生じ、血液脳関門が未完成であるが、脳神経系の発達と成熟に伴い血管新生は停止して安定化する。生体脳では脳と血管間の分子透過性が著しく制限され、血液中の分子は脳に侵入しない。これは神経細胞の異常興奮や細胞死を防ぐため重要なことである。ところが脳弓下器官、終板器官、正中隆起、最後野、下垂体後葉などの脳室周囲器官は血液脳関門を欠くといわれている。感知系脳室周囲器官の脳弓下器官、終板器官、最後野では、浸透圧、イオン、化学物質、病原体といった血液中の情報を感知する。また、分泌系脳室周囲器官である正中隆起や下垂体後葉では血液中へペプチドホルモンを分泌する。このような脳室周囲器官の特徴から、この部位は脳の窓とも言われている。しかし、血液脳関門を欠くにもかかわらず神経へのダメージを与えず、どのようにして血液中の情報を得ているのか。また、ペプチドホルモンはどのようにして神経終末から血液中へ放出されているのかは全く不明である。これらの疑問に答えるべく哺乳類であるマウスを用いて本研究を遂行した。本論文は第 1 章、第 2 章、第 3 章からなる。

第 1 章では、脳室周囲器官の血管透過性について述べている。脳室周囲器官は、血液脳関門を持たないため高い分子透過性を持つと考えられてきた。しかし、低分子量分子 FITC (分子量 390) および Evans Blue (分子量 961) の透過性は、末梢臓器の腎臓や分泌系脳室周囲器官である正中隆起と下垂体後葉では高いが、感知系脳室周囲器官では低かった。いっぽう、高分子量分子の血清アルブミン (分子量 66,000~70,000) やデキストラン 70,000 (分子量 70,000) の透過性は腎臓と比較していずれの脳室周囲器官でも低かった。低分子量分子の透過性が分泌系脳室周囲器官で特に高いのは、低分子量分子であるペプチドホルモンを分泌するためであると考えられる。また、全脳室周囲器官で高分子量分子の透過性が末梢臓器より低いことから、脳室周囲器官は血液脳関門を完全に欠くのではなく、分子量依存性分子透過性があることを解明した。

第 2 章において、分泌系脳室周囲器官における機能解析をおこなった結果、成体マウスの分泌系脳室周囲器官では細胞増殖マーカー BrdU の取り込み、ペリサイトにおける血管新生マーカー NG2 および PDGFRB の高い発現が認められた。これらのことは分泌系脳室周囲器官では成体でも血管新生が起きていることを示している。さらに、血管内皮細胞のアポトーシスが観察された

ことから、分泌系脳室周囲器官では血管系を持続的に再構築していることを解明した。さらに、血管新生を促進する血管内皮成長因子 VEGF が脳室周囲器官において特異的に高い発現を示し、血管内皮細胞の増殖は VEGF や PDGF のシグナリングを阻害する薬剤 SU-11248 の投与により顕著に低下した。次に、ペプチドホルモン分泌依存的な血管系の構築変化を調べ、ペプチドホルモン分泌における血管系の重要性を調べた。体液浸透圧調節は成体にとって最も重要なホメオスタシス機構のひとつである。2% NaCl 飲水による浸透圧刺激に対して、下垂体後葉は抗利尿ホルモンであるバソプレッシンを分泌する。浸透圧刺激によって下垂体後葉のペリサイトの微細構造が変化し、NG2 や PDGFRB の発現量が増加し、血管透過性が亢進した。これらの結果より、下垂体後葉ではペプチドホルモン分泌亢進に応じて血管構築に変化が起きることを明らかにした。

第3章では、感知系脳室周囲器官においても、分泌系脳室周囲器官と同様に BrdU 陽性内皮細胞、VEGF、NG2 および PDGFRB の高い発現が観察され、血管新生が起きていることを示した。また、感知系脳室周囲器官ではアストロサイトが高密度ネットワークを構築し、アストロサイト間にタイトジャンクションタンパクの発現が認められた。血管透過性は細胞増殖阻害剤 AraC の投与により減少し、アストログリア選択的機能阻害剤  $\alpha$ -AAA 投与により増加した。これらの結果により、持続的血管新生が高い血管透過性を維持するのに必要であり、アストロサイトネットワークが血液脳関門の代わりに血液由来分子による神経ダメージを防ぐことを示した。

以上の結果より、マウスの脳室周囲器官では成体でも血管新生が起きていることを明らかにした。発達中の脳血管で血液脳関門が未熟であることから、血管新生は脳室周囲器官が血液脳関門を持たない大きな要因であると考えられる。本研究は、成体脳において持続的に血管を新生している部位があることを初めて証明したものである。脳室周囲器官における血管再構築は、末梢血液情報の感知、ペプチド分泌を行うグリアー血管及び神経-血管ユニットの再構築や血管透過性調節に関与しており、脳-血管間の情報交換に重要な役割を果たしていると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

成体哺乳類の脳では毛細血管の物質透過性が極めて低く、血中の物質が脳に侵入して神経細胞の異常興奮や細胞死を防ぐ機構があり、血液脳関門として知られている。しかし脳室の周囲には血液脳関門機能が欠落している部位が数ヶ所存在し、脳室周囲器官と総称されている。たとえば、脳弓下器官では血液浸透圧の感知、終盤器官では内因性発熱物質受容、下垂体後葉ではペプチドホルモンの神経内分泌を行うなど、重要な生理作用の場である。しかし、脳室周囲器官における血液脳関門機能欠如のメカニズムについてはほとんど解明されていない。

本論文では血管新生と血管透過性の関係に着目し、脳室周囲器官では生体でも血管新生が持続することを発見し、その結果、高い分子透過性を生じていることを示した。具体的には、脳室周囲器官を分泌系と感知系に分類し、分泌系脳室周囲器官では血管新生とアポトーシスが同時進行しており、高浸透圧刺激によりバソプレッシンを神経内分泌させると下垂体後葉の血管構築に変化が起ることを解明した。感知系脳室周囲器官では、持続的血管新生が高い血管透過性を維持しており、アストロサイトネットワークが血液脳関門の代わりに血液由来分子による神経ダメージを防いでいることを示した。本研究において発見された脳室周囲器官における血管再構築は、脳-血液間の情報伝達に重要であり、本論文は先駆的研究として高く評価できる。

これらの研究成果は下記の査読制のある国際科学雑誌 6 編（4 編は申請者が筆頭著者）に掲載

及び印刷中である他、6編の参考文献がある。

[公表論文]

1. Morita S, Oohira A, Miyata S (2010) Activity-dependent remodeling of chondroitin sulfate proteoglycans extracellular matrix in the hypothalamo-neurohypophysial system. *Neuroscience* 166: 1068-1082.
2. Imamura Y, Morita S, Nakatani Y, Okada K, Ueshima S, Matsuo O, Miyata S (2010) Tissue plasminogen activator and plasminogen are critical for osmotic homeostasis by regulating vasopressin secretion. *Journal of Neuroscience Research* 88: 1995-2006.
3. Miyata S, Morita S (2011) A new method for visualization of endothelial cells and extravascular leakage in adult mouse brain using fluorescein isothiocyanate. *Journal of Neuroscience Methods* 202: 9-16.
4. Morita S, Miyata S (2012) Different vascular permeability between the sensory and secretory circumventricular organs of adult mouse brain. *Cell and Tissue Research* 349: 589-603.
5. Morita S, Miyata S (in press) Accessibility of low-molecular-mass molecules to median eminence and arcuate hypothalamic nucleus of adult mouse. *CELL BIOCHEMISTRY AND FUNCTION*.
6. Morita S, Ukai S, Miyata S (in press) VEGF-dependent continuous angiogenesis in the median eminence of adult mice. *European Journal of Neuroscience*.

参考文献

1. Nakamura M, Nakano K, Morita S, Nakashima T, Oohira A, Miyata S (2009) Expression of chondroitin sulfate proteoglycans in barrel field of mouse and rat somatosensory cortex. *BRAIN RESEARCH* 1252: 117-129.
2. Asai H, Yokoyama S, Morita S, Maeda N, Miyata S (2009) Functional difference of receptor-type protein tyrosine phosphatase  $\delta / \beta$  isoforms in neurogenesis of hippocampal neurons. *Neuroscience* 164: 1020-1030.
3. Taniguchi Y, Inoue N, Morita S, Nikaido Y, Nakashima T, Nagai N, Okada K, Matsuo O, Miyata S (2011) Localization of plasminogen in mouse hippocampus, cerebral cortex, and hypothalamus. *Cell and Tissue Research* 343: 303-317.
4. Asai H, Morita S, Miyata S (2011) Effect of pleiotrophin on glutamate-induced neurotoxicity in cultured hippocampal neurons. *CELL BIOCHEMISTRY AND FUNCTION* 29: 660-665.
5. Sugimoto C, Morita S, Miyata S (2012) Overexpression of IgLON cell adhesion molecules changes proliferation and cell size of cortical astrocytes. *CELL BIOCHEMISTRY AND FUNCTION* 30: 400-405.
6. Morita S, Miyata S (in press) Synaptic localization of growth-associated protein 43 in cultured hippocampal neurons during synaptogenesis. *CELL BIOCHEMISTRY AND FUNCTION*.