

令和 2年 3月

# 濱崎佐和子 学位論文審査要旨

主 査 花 島 律 子  
副主査 渡 邊 達 生  
同 海 藤 俊 行

## 主論文

Constitutive accessibility of circulating proteins to hippocampal neurons in physiologically normal rats

(生理学的に正常なラットにおける海馬ニューロンへの循環タンパク質の恒常的なアクセシビリティ)

(著者：濱崎佐和子、椋田崇生、小山友香、中根裕信、海藤俊行)

令和2年 Brain and Behavior 掲載予定

## 参考論文

1. Short-term heat exposure promotes hippocampal neurogenesis via activation of angiotensin II type 1 receptor in adult rats

(短時間の暑熱曝露はアンギオテンシンII 1型受容体の活性化を介して成熟ラットの海馬神経新生を促進する)

(著者：小山友香、椋田崇生、濱崎佐和子、中根裕信、海藤俊行)

平成30年 Neuroscience 385巻 121頁～132頁

# 学位論文要旨

Constitutive accessibility of circulating proteins to hippocampal neurons in physiologically normal rats

(生理学的に正常なラットにおける海馬ニューロンへの循環タンパク質の恒常的なアクセシビリティ)

海馬を含め脳の大部分は血液脳関門 (BBB) があるため、高血圧などの一部の病態での BBB の破綻によって生じる血中タンパク質の脳への漏出を除けば、生理状態の脳に血中タンパク質が侵入することはないと考えられている。一方、近年では、血中ホルモンであるアンギオテンシン II (Ang II) やグレリンが海馬に直接影響を及ぼす可能性が示唆されている。しかしながら、その証拠は未だ得られておらず、海馬への作用機序についての詳細は解明されていない。本研究では血中ホルモンが正常海馬機能へ与える影響を探る足がかりとして、まず、生理的状态のラット脳において血中タンパク質が海馬ニューロンへ直接的に作用する可能性を検討した。

## 方法

本研究にはロングエバンスラット (7~9週齢・雄) を用いた。海馬への血中タンパク質の侵入は、血中タンパク質であるアルブミン (Alb) と結合する蛍光色素 Evans blue (EB) を指標とした。通常、EB をラットの血中に投与しても、EB-Alb 複合体は BBB を通過しないため、海馬で EB シグナルは検出されない。一方で、高血圧などの血管透過性が亢進した病態脳においては、EB-Alb 複合体が脳へ漏出するため、ニューロピルにおいて EB の赤色蛍光が認められる。このように、EB は血管透過性亢進部位を検出するプローブとしてよく用いられている。本研究ではまず、生理的状态にある個体において、血中由来 EB-Alb 複合体の海馬への侵入を蛍光顕微鏡を用いて調べた。Ang II は *in vitro* 系の実験において、脳微小血管の構造を変化させ血管透過性を高める働きを持つことが知られている。そこで、血中 Ang II 濃度を上昇させた個体でも、同様に EB-Alb 複合体の海馬への侵入を検討した。その結果、血中由来 EB-Alb 複合体を取り込むニューロンが海馬で認められたため、それらニューロンの神経化学的特性を免疫組織化学的に調べた。

## 結 果

生理的状态において、海馬ニューロピルではEB シグナルは認められなかった。一方で、海馬歯状回に局在する細胞がEB-A1b 複合体を取り込んでいた。このEB 陽性細胞は、血中Ang II 濃度の上昇の有無に関わらず、全ての個体において認められた。それらは歯状回門および顆粒細胞下層に局在し、大型で紡錘形あるいは卵型を呈した。これらの細胞はNissl 陽性かつアストロサイトのマーカーであるグリア線維性酸性タンパク質 (GFAP) 陰性であったので、ニューロンであると考えられる。また、それらの一部はパルブアルブミン陽性反応を示した。一方で、増殖細胞マーカーであるブロモデオキシウリジン (BrdU) および未成熟ニューロンのマーカーであるダブルコルチン (DCX) 陰性であった。

## 考 察

血管透過性を亢進させる刺激を与えなくとも、実験に用いた全ての個体で血中由来のEB-A1b 複合体が海馬ニューロンに取り込まれた。これは、海馬歯状回には恒常的に血中タンパク質が到達していることを示している。また、歯状回門および顆粒細胞下層に局在する大型のEB 陽性ニューロンはその局在と形態からインターニューロンの可能性が高い。また、それらの一部はパルブアルブミン陽性を示したことから、GABA 性インターニューロンだと考えられる。一方で、恒常的に神経新生が生じている顆粒細胞下層において観察された小型のEB 陽性ニューロンは、その局在から新生ニューロンである可能性が考えられたが、いずれもBrdU およびDCX 陰性であった。したがって、それらは顆粒細胞ではあるが、少なくとも2週間以内に生まれた新生ニューロンではないと考えられる。

血中由来EB-A1b 複合体を取り込んだニューロンは、いずれも海馬内でシナプスを形成する。このことから、EB-A1b 複合体は海馬外ではなく海馬内、あるいは、その近傍の血管から海馬に移行したと考えられる。

## 結 論

本研究は、循環血液中のEB-A1b 複合体がラット海馬歯状回のGABA 性インターニューロンに恒常的にアクセスすることを示しており、生理的に血管から漏出するタンパク質がインターニューロンに作用して海馬神経回路に常に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

これらの新知見は、海馬のBBB 透過性 に関する従来の概念には再考の余地があり、海馬神経回路に影響を及ぼす血中因子について探索の可能性を示唆している。