

令和 3 年 2 月 25 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17979

研究課題名(和文) 神経血管ユニットによる新たな血液脳関門制御機構と統合失調症病態への関与

研究課題名(英文) Regulation of blood-brain barrier by neuro-vascular units and the involvement in schizophrenia

研究代表者

西浦 継介(Nishiura, Keisuke)

福島県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：30791024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：セロトニン受容体5-HT1Aが正常ヒト脳微小血管の内皮・周皮細胞に強く発現することを見出した。また新たに開発した共培養系を用いて、セロトニン/5-HT1Aシグナルが内皮CLDN5の発現を誘導することを突き止めた。一方統合失調症前頭前野の微小血管では、protein kinase A (PKA)シグナルが活性化し、血管内皮claudin-5 (CLDN5)陽性シグナルが減少・途絶していることを発見した。このような変化は脳部位特異的で、正常脳では認められなかった。セロトニン/5-HT1A/cAMP/PKAシグナルは脳部位選択的なCLDN5発現や血液脳関門の制御に寄与することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症ではセロトニン仮説等が提唱されているが、その病態は不明である。代表者は統合失調症前頭前野の微小血管選択的にprotein kinase A (PKA)が活性化し、その部位に一致して血液脳関門構成分子であるclaudin-5 (CLDN5)が部分消失していることを発見した。また5-HTが5-HT1A受容体を介して血液脳関門を制御する新規機構を発見した。セロトニン/5-HT1A/cAMP/PKAシグナルの破綻が統合失調症の病態に関与する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We found that the serotonin receptor 5-HT1A is strongly expressed in microvascular endothelial cells and pericyte. Using a novel co-culture system of these cells, we showed that serotonin/5-HT1A signaling regulates endothelial claudin-5 (CLDN5) expression. On the other hand, protein kinase A (PKA) was activated in the microvascular and perivascular regions of the schizophrenic prefrontal cortex (PFC), and the pPKA-positive microvascular endothelial cells occasionally showed focal loss of CLDN5. These alterations were brain-region selective, and not observed in normal brain. Thus, serotonin/5-HT1A/cAMP/PKA signaling contributes to regulate endothelial CLDN5 expression and blood-brain barrier in brain-site specific manners.

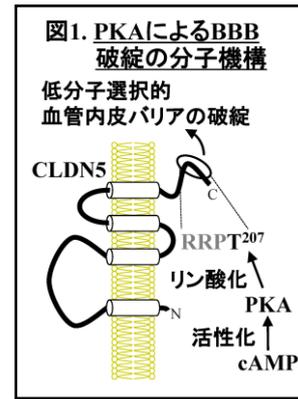
研究分野：病理学

キーワード：神経血管ユニット 血液脳関門 統合失調症 クロロドイン PKA セロトニン モノアミン 血管内皮

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

統合失調症 (Scz)は複数の遺伝・環境要因によって生じると考えられているが、その病因や病態の多くは不明である。近年、Scz と血液脳関門 (Blood-brain barrier; BBB)破綻との関連が示唆されている。例えば、脳微小血管内皮細胞をシールするタイト結合分子 claudin-5 (CLDN5)の遺伝子座は22q11.2領域に存在するが、その欠失症候群ではScz罹患率が20倍に激増する。またCLDN5遺伝子の変異がSczの病態と関連するという報告もなる。研究代表者の所属研究室では以前、「cAMP/protein kinase A (PKA)がCLDN5のT207リン酸化と分解を促進し、低分子選択的なBBBの破綻を惹起する」ことを報告した(図1)。そこで研究代表者はCLDN5およびPKAに着目し、Scz病態への関与を明らかにしようとした。



一方PFCの微小血管近傍は、セロトニン (5-hydroxytryptamine; 5-HT)作動性神経終末に富む。この神経終末は、脳微小血管内皮細胞周囲に豊富に存在する周皮細胞とともに、BBB特有の神経血管ユニットを構成している。またセロトニンは、PFCの活動性やSczの認知機能改善に関わると考えられている。そこで代表者は「神経終末から放出されるセロトニンが周皮細胞の5-HT1A受容体に結合してcAMP/PKA経路を抑制することによって、CLDN5発現が亢進しBBB機能を増強する」という仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

本研究では、神経血管ユニットによる新規BBB制御機構を解明するとともに、Scz病態への関与を明らかにする。対照及びSczの死後脳組織を用いて、脳微小血管とその周囲におけるCLDN5や活性化PKA及び5-HT1A受容体の発現を明らかにする。次に、ヒト脳微小血管周皮・内皮の単独あるいは共培養系を用いて、セロトニン/5-HT1Aシグナルが内皮バリアを増強することを証明する。

## 3. 研究の方法

本研究では、対照及びSczの脳組織を用い、脳微小血管とその周囲におけるCLDN5やPKA及び5-HT1A受容体の発現を明らかにする。また、ヒト脳微小血管周皮・内皮培養系を用いて、「セロトニン/5-HT1Aシグナルが内皮バリアを増強させる」という神経血管ユニットによる新規BBB制御機構を解明する。

### 1) 対照及びSczの死後脳組織を用いた検討

対照例及びScz例のPFC組織と視覚野組織(対照野)のパラフィン・凍結切片を用いて、微小血管とその周囲におけるCLDN5や活性化PKAの発現を評価した。また血管内皮・周皮・平滑筋マーカーを用いた多重染色により、正常対照脳の微小血管領域における5-HT1陽性細胞を同定する。さらに対照とSczにおけるPFC微小血管領域における5-HT1の発現を比較した。

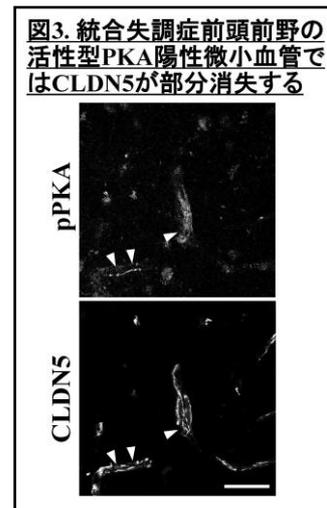
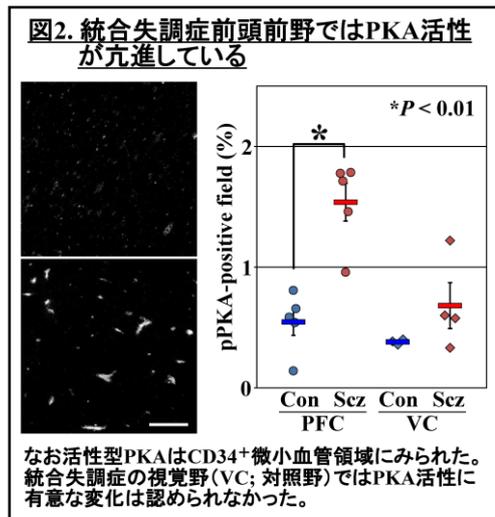
### 2) 細胞培養系を用いた検討

脳微小血管周皮・内皮の性状を保持しているヒト脳由来周皮細胞株HBPCT(山口大学神田教授より供与)とヒト初代脳微小血管内皮細胞hBVEの共培養系を用いて、5セロトニン/5-HT1AシグナルがCLDN5発現に及ぼす影響を検討した。

## 4. 研究成果

Scz群と対照群のPFC(罹患部位)と視覚野(対照野)の脳組織におけるCLDN5の発現を検討したところ、CLDN5陽性シグナルがSczのPFC選択的に減弱していることがわかった。

また Scz の PFC では PKA 活性が顕著に増加し、その多くが微小血管領域に一致すること、活性化型 PKA 陽性微小血管では CLDN5 が部分消失していることを突き止めた(図2、図3)。



また正常ヒト脳組織では、5-HT1A が脳微小血管の内皮・周皮細胞に強く発現することを見出した。また新たに開発した共培養系を用いて、セロトニン/5-HT1A シグナルが内皮 CLDN5 の発現を誘導することを突き止めた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

Nishiura K, Ichikawa-Tomikawa N, Sugimoto K, Kunii Y, Kashiwagi K, Tanaka M, Yokoyama Y, Hino M, Sugino T, Yabe H, Takahashi H, Kakita A, Imura T, Chiba H. PKA activation and endothelial claudin-5 breakdown in the schizophrenic prefrontal cortex. *Oncotarget*, 8: 93382-93391, 2017.

Sugimoto K, Ichikawa-Tomikawa N, Nishiura K, Kunii Y, Sano Y, Shimizu F, Kakita A, Kanda T, Imura T, Chiba H. Serotonin/5-HT1A signaling in the neurovascular unit regulates endothelial CLDN5 expression. *Int J Mol Sci*, 22: 254, 2021.

[学会発表] (計 1 件)

富川直樹、杉本幸太郎、西浦継介、千葉英樹. ヒト脳微小血管モデル培養系におけるクロードイン-5 制御機構. 第 106 回日本病理学会総会. 2017 年 4 月 27-29 日、東京.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.fmu.ac.jp/home/p2/sub3.html>

Facebook

<https://www.facebook.com/pages/福島県立医科大学-基礎病理学講座/212109418952102>

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：千葉英樹、杉本幸太郎、富川直樹、高橋均、柿田明美

ローマ字氏名：Chiba Hideki, Sugimoto Kotaro, Tomikawa Naoki, Takahashi hitoshi, Kakita Akiyoshi.

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。