

令和 3 年 8 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19262

研究課題名（和文）体温調節に働く脳内Flip-Flopシステムの解明

研究課題名（英文）A flip-flop mechanism for temperature regulation during inflammation

研究代表者

松脇 貴志（Matsuwaki, Takashi）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・准教授

研究者番号：20447361

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：PGE2は脳内の発熱中枢領域に働いて体温を上昇させることで知られている。我々は過去に、PGE2合成酵素の遺伝子欠損マウスが、野生型で発熱を呈するレベルの感染刺激時に強度の体温低下を呈することを見いだした。この結果は感染時には発熱中枢と同時に体温低下を引き起こす機構が活性化されることを示唆しており、本課題ではこの機構の解明を目指した。その結果、低体温時の脳内では複数の低体温中枢候補領域の神経細胞が興奮する。末梢組織からの感染刺激を橋結合腕傍核が仲介し脳内の体温上昇/低下何かを担う領域に情報を伝達する。体温低下機構の感受性が卵巣由来のエストロゲンによって亢進する。などの新たな知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

体温変化は感染時に生体が示す種々の適応反応のうち最も初期かつ鋭敏に起こるものであり、この制御機構の解明により、感染状態が慢性化/病態化するまでの過程を明らかにするとともに、上述した種々の重篤な疾病の予防としての臨床応用が期待される。

また、脳外科領域や長期透析療養における不明熱症状など、臨床において継続的に低体温を維持する需要は一定して存在するものの、古典的な発熱機構の知識のみに基づいた処置に留まっている。体温低下をもたらす機構および因子を明らかにすることは、こうした疾病・疾患に対して内分泌的なアプローチを安全に行う選択肢を提供することにつながり、生物学の基礎研究として応用性が高い。

研究成果の概要（英文）：Hypothalamic preoptic area (POA) is well known as a hyperthermic center. PGE2, a strong pyrogen, induces fever by binding to their receptor in POA. We have recently found that mice lacking Prostaglandin E2 synthesis enzyme (mPGES-1) do not show fever but hypothermic response to immune challenge only when they are at pro-estrus or estrus stage. The findings of our present project established the following hypotheses. 1) There is a hypothermic center which is activated by immune challenges simultaneously with the hyperthermic center. 2) The Parabrachial Nucleus (PBN) in the brainstem receives the infectious information in the peripheral tissues and transports it selectively to the hyper- or hypothermic center in the hypothalamus. 3) Estrogen from the ovary enhances the sensitivity of this hypothermia-driving mechanism.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：低体温 感染 視床下部 エストロゲン PGE2

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

末梢組織での感染情報は中枢神経系へと伝達され、発熱や過食、拒食、痛覚過敏、ストレス系ホルモンの分泌亢進などの中枢制御性のストレス反応を引き起こす。この情報伝達の仲介物質として働く主要なものの一つに、プロスタグランジン (Prostaglandin, PG) 類が挙げられる。PG 類はアラキドン酸から生成されるエイコサノイドの一つで、数種類の PG 類が生体内に広く分布して様々な生理活性を示す。中でも PGE_2 は中枢性の熱源物質である。視床下部視索前野 (Preoptic Area, POA) は発熱中枢として古くから知られている領域で、感染時には PGE_2 が POA に作用することで発熱が引き起こされる。 PGE_2 は PG 類に共通の前駆物質である PGH2 から、最終合成酵素 mPGES-1 によって合成される。我々は内因性の PGE_2 をもたない mPGES-1 遺伝子欠損マウスが、野生型で発熱を呈するレベルの感染刺激時に発熱を呈さないだけでなく強度の体温低下が起こることを見いだした (図1)。

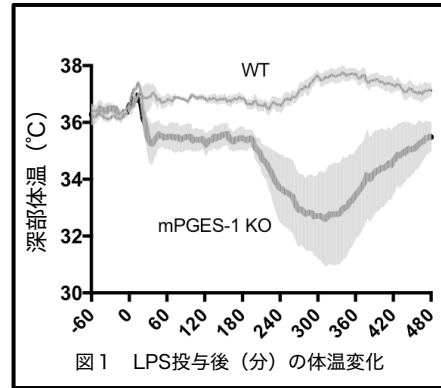


図1 LPS投与後(分)の体温変化

2. 研究の目的

以上の事実をふまえて、我々は感染時の体温変動は発熱中枢—体温低下中枢すなわち POA-DMH の活性化が拮抗することにより制御されているという仮説に至った (図1)。この仮説の検証及び感染性低体温の発生機構の解明を本研究の目的とした。

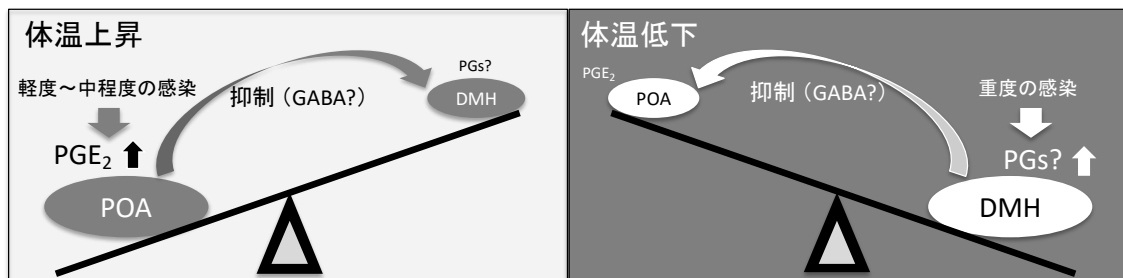


図2【仮説】 Flip-Flopモデルによる感染時の体温調整

3. 研究の方法

マウスの腹腔内に体温測定用のテレメーターを埋め込み、1週間の回復期間をおいたのち種々の薬物を投与し、体温の変化を観察した。

4. 研究成果

実験1：感染性低体温の雌雄差及び性周期依存性

雌雄の C57BL/6J 野生型 (WT) マウスおよび mPGES-1 欠損 (KO) マウスの腹腔内にテレメーターを埋め込み、体温を測定した。感染刺激としてグラム陰性菌細胞膜成分であるリポ多糖 (LPS, 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$) を腹腔内投与し、体温変化を8時間観察した。LPS 投与後の体温について、雄の WT マウスでは発熱を呈したが、KO マウスでは変化しなかった。一方、雌においては WT マウスでは雄と同様な発熱を呈したが、KO マウスでは体温変化を呈さない個体に加え、有意な低体温を呈する個体が多数見られた。これらのマウスを性周期分類した結果、低体温を呈する個体はほぼ発情前期にあることが示された。卵巣を除去した KO マウスでは、LPS 誘

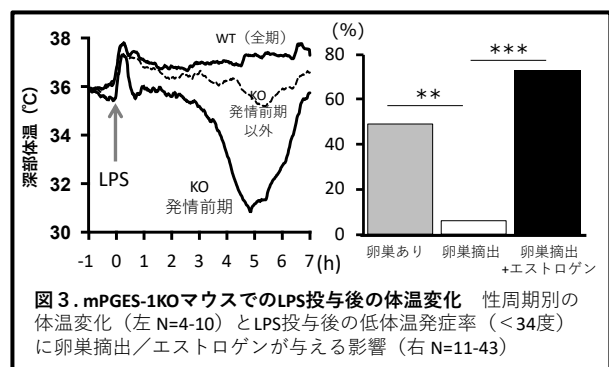


図3. mPGES-1KO マウスでのLPS投与後の体温変化 性周期別の体温変化 (左 N=4-10) とLPS投与後の低体温発症率 (<34度) に卵巣摘出/エストロゲンが与える影響 (右 N=11-43)

誘

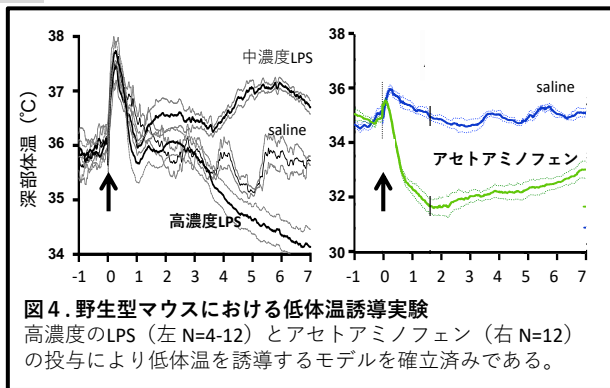
導性の低体温は消失した。さらに、卵巣除去後の KO マウスに発情前期と同程のエストロゲンを処置したところ、約80%の個体でLPS投与後の低体温が見られた。

以上の結果から、**発情前期に血中濃度が増加するエストロゲンがこの低体温誘起機構の反応性を高めることで感染性の低体温を引き起こされることをが明らかとなった。**

そこで、性周期変動の観察がより容易なラットでの mPGES-1 遺伝子欠損動物の作出を試みた。CRISPR/Cas12a 法を用いたゲノム編集を行い、スプライスアクセプター領域の変異によりエクソン2を欠損した mRNA を発現する系統を確立した。この KO ラットは脳脊髄液内の PGE₂ 濃度の LPS 投与による増加が見られない。

実験2：WT マウスでの低体温誘導モデル

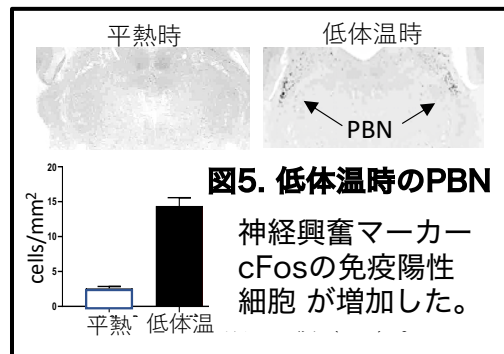
本研究では、mPGES-1 KO 雌マウスに加えて WT 雄マウスへの高濃度 LPS 投与および医療の現場でもしばしば問題になるアセトアミノフェン投与に低体温症モデルの確立に成功した。これらのモデルでは雌だけでなく雄でも強度の体温低下が見られたことから、**体温低下機構は雌雄に共通で保存されている**と考えられる。



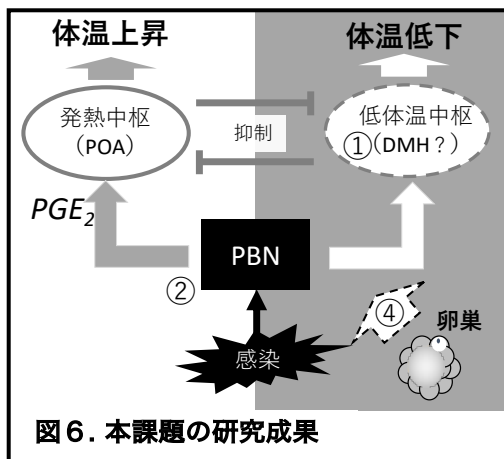
実験3：低体温誘起に重要な脳内領域

中枢神経系内で感染性低体温の誘導に重要な働きを果たす部位を特定するため、WT 及び KO マウスの LPS 投与 5 時間後の脳を薄切し、神経興奮マーカーである c-fos に対する免疫染色を行った。低体温を示す KO では、示さなかった KO や体温が上昇した WT と比較して有意に多い c-fos 陽性細胞数の増加が、視床下部の室傍核や背内側核で認められた。また、視床下部のみならず扁桃体の中心核や外側基底核においても、低体温を示す KO では c-fos 陽性細胞数の増加がみられた。

さらに、脳幹の橋結合腕傍核 (PBN) においても、低体温時の c-fos 陽性細胞数増加すなわち神経細胞の興奮が確認された。PBN は末梢組織から中枢神経系へ感染情報の神経性伝達を仲介する部位である。感染性の発熱時には PBN の神経興奮が見られることが知られているが、我々の今回の結果により、我々は **PBN からの情報が中枢神経系の発熱中枢もしくは体温低下中枢に振り分けられる**機構を仮定して研究を進めている。



以下に本課題の研究成果をまとめる。



- ① 低体温時の脳内では DMH や室傍核、扁桃体などの神経細胞が興奮する。
- ② PBN では体温上昇/低下いずれの状態でも神経細胞が興奮する。
- ③ 体温低下機構の感受性が卵巣由来のエストロゲンによって亢進する。

現在、PBN での RNA-シーケンスを行っている。発熱時もしくは低体温時特異的に PBN で発現が増加する因子や情報伝達系、興奮する神経細胞の特性を同定し、PBN から中枢神経系へ情報伝達系による体温調整機構を明らかにすることを今後の目的としている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kuroda Machi, Matsuwaki Takashi, Tanaka Yoshinori, Yamanouchi Keitaro, Nishihara Masugi	4. 巻 31
2. 論文標題 Convulsive responses to seizure-inducible drugs are exacerbated in progranulin-deficient mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 NeuroReport	6. 最初と最後の頁 478 ~ 483
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/WNR.0000000000001425	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Matsuwaki T, Onishi M, Fujisawa A, Yamanouchi K, Blomqvist A, Nishihara M
2. 発表標題 Hypothermic responses under infectious condition depend on estrous stages in microsomal prostaglandin E synthase-1-deficient mice.
3. 学会等名 The 49th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2019), Chicago, Illinois, U.S.A (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Matsuwaki, Kiseko Shionoya, Robert Ihnatko, Anna Eskilsson, Shigeru Kakuta, Sylvie Dufour, Markus Schwaninger, Ari Waisman, Werner Muller, Emmanuel Pinteaux, David Engblom, and Anders Blomqvist
2. 発表標題 Involvement of interleukin-1 receptors in sickness responses to lipopolysaccharide
3. 学会等名 11th FENS (Federation of European Neuroscience Society) Forum of Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大西正倫、松脇貴志、山内啓太郎、西原真杉
2. 発表標題 プロスタグランジンE2合成酵素欠損マウスにおける性周期依存的な感染性低体温
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒田万智、松脇貴志、山内啓太郎、西原真杉
2. 発表標題 神経細胞の興奮性調節に対するプログラニューリン及びIL-1の関与
3. 学会等名 第3回プログラニューリン研究会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	ブロクビスト アンデルス (Blomqvist Anders)	リンショーピン大学・医学研究科・教授	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------