

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15928

研究課題名（和文）脳弓下器官において血圧調節に関わる神経機構の解明

研究課題名（英文）Brain mechanisms for the control of blood pressure in the subfornical organ

研究代表者

松田 隆志（Matsuda, Takashi）

東京工業大学・科学技術創成研究院・特任助教

研究者番号：90803065

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：特定の神経核に連絡しているSF0のAT1a陽性ニューロンを選択的に活性化させたところ、マウスの血圧が上昇することを確認した。また、OVLTのAT1a陽性ニューロンも同じ神経核に投射しており、人為的に活性化することで血圧上昇が誘導された。また、in vivoカルシウムイメージングを用いてSF0のAT1a陽性ニューロンの活動を選択的に観察する手法を確立した。

この手法を応用して、SF0においてCCKニューロンが塩欠乏状態に応じて活動し、GABA作動性ニューロンを介して水分欲求を誘導するニューロンの活動を抑制することによって飲水行動が抑制されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、sCVOsの1つであるSF0は感知した体液情報を他の器官に伝えて、個体の行動や生理機能を制御することが明らかにされつつある。しかしながら、SF0が関与する血圧調節の詳細なメカニズムは未だ解明されていない。SF0が血圧を制御する仕組みを明らかにすることが出来れば、原因不明である本態性高血圧症を治療するための医学研究を発展させることになる。そのため、申請者は、SF0において体液情報に基づいた血圧制御の神経機構を明らかにすることを目指している。

研究成果の概要（英文）：We confirmed that selective activation of AT1a-positive neurons in the SF0 induced an increase of blood pressure in mice. Optogenetic activation of AT1a-positive neurons in the OVLT also induced an increase of blood pressure. These AT1a-positive neurons projected to the same nucleus. We established a method to selectively observe the activity of AT1a-positive neurons in the SF0 by using in vivo calcium imaging.

By using this technique, we found that CCK neurons in the SF0 were activated under Na-depleted conditions and suppressed water intake behavior via GABAergic neurons through suppression of thirst-driving neurons in the SF0.

研究分野：神経科学

キーワード：脳弓下器官 血圧制御 アンジオテンシン II

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む陸生動物において、体液状態を一定に保つことは生命活動を維持するうえで必須である。脳は体液中の Na<sup>+</sup>やペプチドホルモンを介して体内情報を常に監視しており、それに応じて神経活動を調節して水分・塩分欲求や尿量、血圧などを制御している。脳において例外的に血液-脳関門が欠損している感覚性脳室周囲器官(sCVOs)は、血中のアンジオテンシン II(AngII)などのペプチドホルモン濃度の変化を感知する部位であり、その情報を下流の関連する神経核に伝達している。近年、我々は sCVOs の 1 つである脳弓下器官(SFO)が体液情報に基づいて水分欲求や塩分欲求を制御していることを明らかにした。体液中の水分や塩分は血圧に大きく影響することが知られているが、SFO における血圧調節の詳細なメカニズムは未だ解明されていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、血圧を制御する神経機構において SFO が担う役割を明らかにする。遺伝子改変マウスとウイルスベクターを組み合わせることで SFO において AngII の受容体である AT1a を発現している神経細胞(AT1a 陽性ニューロン)を選択的に活性化させる(計画 I)。また、*in vivo* カルシウムイメージングを用いて、生理的条件下における AT1a 陽性ニューロンの神経活動を解析する(計画 II)。実験計画 I および II を基に SFO が担う体液恒常性維持のための機能解析を行う。

### 3. 研究の方法

#### 【計画 I】 SFO における AT1a 陽性ニューロンの機能解析

我々はこれまでに、SFO において AT1a 陽性ニューロンが血圧制御に関連のあることが知られている神経核 X に投射していることを確認していた(未発表)。そこで、AT1a 陽性細胞に Cre リコンビナーゼ(Cre)が発現している遺伝子改変マウス(AT1a-Cre マウス)の SFO に、Cre 依存的に光駆動性チャネルロドプシン 2(ChR2)を導入すべくアデノ随伴性ウイルス(AAV-DIO-ChR2)を感染させる。次に、神経核 X に青色光を照射して、SFO から神経核 X に連絡している AT1a 陽性ニューロンの神経末端を選択的に活性化させる。活性化と並行して、マウスの頸動脈から血圧を同時測定する。

#### 【計画 II】 AT1a 陽性ニューロンの神経活動解析

上述と同様の手法を用いて、カルシウムインジケーターである GCaMP6f を導入できる AAV-DIO-GCaMP6f を AT1a-Cre マウスの SFO に感染させる。続いて、SFO の上方に GRIN レンズを挿入し、小型蛍光顕微鏡を接続することによって、*in vivo* において SFO の AT1a 陽性ニューロンの個々の神経活動を選択的に観察する手法を確立する。高血圧誘導時において、SFO における AT1a 陽性ニューロンの活動を解析する。

### 4. 研究成果

#### 【計画 I】

本研究によって、SFO 内の AT1a 陽性ニューロンが視床下部の複数の神経核に連絡していることが明らかとなった。さらに、オプトジェネティクスを用いて、その連絡先の一つである神経核 X に連絡している AT1a 陽性ニューロンのグループを選択的に活性化させたところ、光刺激にตอบสนองしてマウスの血圧が 20~30 mmHg 程度上昇することを確認した。光刺激を止めると、血圧は緩やかに正常状態に戻った。

また、SFO の AT1a を特異的に欠損させたマウスの脳室内に Ang II を投与したところ、コントロールのマウスに比べて Ang II による昇圧作用が減弱するものの完全には消失しなかった。このことから、体液中の Ang II は SFO 以外の神経核に対しても作用することが示唆された。解析を進めたところ、sCVOs である OVLT の AT1a 陽性ニューロンも神経核 X に投射していることを明らかにし、これをオプトジェネティクスを用いて人為的に活性化することによって血圧上昇を誘導することが出来た。これまでの研究成果から、SFO と OVLT における Ang II シグナルは、Na による血圧上昇を担う神経核と同一の神経核に伝達されていることが分かった。

#### 【計画 II】

AT1a-Cre マウスと AAV-DIO-GCaMP6f を用いて、SFO における AT1a 陽性ニューロンの活動を選択的に観察する手法を確立することが出来た。これにより、自由行動下のマウスにおいて、SFO の個々の AT1a 陽性ニューロンの活動を記録することが可能となった。現在、AngII による高血圧誘導時において AT1a 陽性ニューロンの活動が変化するか検討を進めている。

また、この手法を応用して、SFO においてコレシストキニン産生ニューロン(CCK ニューロン)の一部が塩欠乏状態に応じて活動し、抑制性ニューロン(GABA 作動性ニューロン)を介して水分欲求を誘導するニューロン(水ニューロン)の活動を抑制していることを明らかにした。また、別の CCK ニューロンのグループは水分摂取に応じて、体液状態が変化する前に、GABA 作動性ニ

ニューロンを介して、水ニューロンの活動を一時的に抑制し、飲水行動を抑制していることを明らかにした(Matsuda et al., Nature Communications, 2020)。

本研究の過程で、Ang II による高血圧誘導時に sCVOs のミクログリアが活性化していることを発見した。近年、本態性高血圧症の原因として、脳内炎症による交感神経系の活動亢進が関与していることが提唱され始めている。そこで、本研究を発展させ、脳内炎症を起点とした血圧制御機構の解明を目指し、最終年度前年度応募研究課題を提案した。この研究課題が採択されたことから、本研究課題は最終年度(2022 年度)を残して廃止することとなった。

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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsuda Takashi、Hiyama Takeshi Y., Kobayashi Kenta, Kobayashi Kazuto, Noda Masaharu	4. 巻 11
2. 論文標題 Distinct CCK-positive SFO neurons are involved in persistent or transient suppression of water intake	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5692
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-020-19191-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------