

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20930

研究課題名（和文）神経核ごとのAVPニューロンの投射先の解析

研究課題名（英文）Analysis of projection targets of AVP neurons for each nucleus

研究代表者

川口 頌平（Kawaguchi, Yohei）

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50907847

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：バソプレシン（AVP）は多様な作用を持つが、その神経核ごとの投射は明らかでない。本研究ではAVPニューロン特異的にCreを発現するAVP-CreマウスにCre依存性に蛍光タンパクを発現するアデノ随伴ウイルスを注入し、それぞれの神経核のAVPニューロンごとに投射先を明らかにすることを目的とした。AVPニューロン特異的にVenusタンパクを発現するAVP-Venusマウスを用いて、AVPニューロンの存在部位を確認したが、本研究で用いたAVP-CreマウスではAVPニューロンでない細胞にもCreを発現していたために正確な評価が困難だった。今後はより特異的な発現をするマウスを用いた実験を検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バソプレシン（AVP）は抗利尿ホルモンとしてだけでなく、概日リズムや社会性、不安、認知、記憶、行動など様々な影響を与えていることが分かっているが、その神経核ごとの投射については明らかにされていない。本研究では神経核特異的にAVPニューロンを標識し、それぞれの神経核に存在するAVPニューロンごとにその投射先を明らかにすることを目的とした。本研究ではAVPニューロンの分布のみで、投射先の確認はできなかったが、神経核ごとのAVPニューロンの投射先が確認できれば、感情・情緒、発達障害や精神疾患の病態への理解、さらには新たな治療法に繋がる可能性もある。

研究成果の概要（英文）：Vasopressin (AVP) has multiple actions, but its projections to individual nuclei are unclear. In this study, we injected an adeno-associated virus that expresses a Cre-dependent fluorescent protein into AVP-Cre mice that express Cre specifically in AVP neurons, and clarified the projection target of each AVP neuron in each nucleus. Using AVP-Venus mice, which express Venus protein specifically for AVP neurons, we confirmed the location of AVP neurons. On the other hand, in the AVP-Cre mice used in this study, Cre was also expressed in cells other than AVP neurons. This made accurate evaluation of AVP neurons difficult. In the future, we are considering experiments using mice with more specific expression.

研究分野：神経内分泌

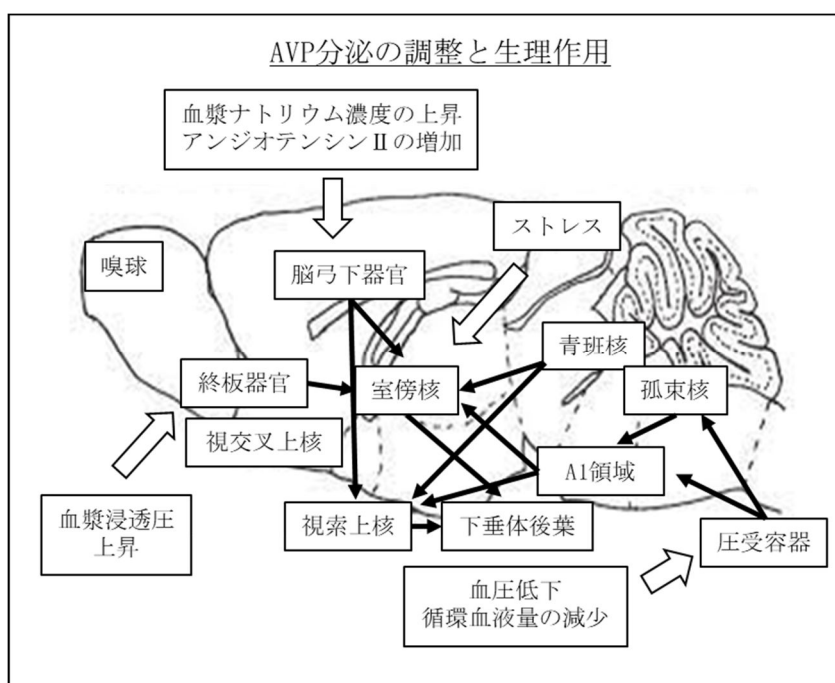
キーワード：AVP 神経回路

## 1. 研究開始当初の背景

バソプレシン (AVP) は抗利尿ホルモンとして古くから知られており、これは視床下部の視索上核 (SON) および室傍核 (PVN) に存在する大細胞性 AVP ニューロンで産生され、軸索輸送により下垂体後葉に運ばれ、血中に分泌されることで、腎臓の集合管主細胞に発現する V2 受容体に結合し水の再吸収を促進することで引き起こされている。そして、この抗利尿ホルモンとしての AVP 分泌は主として血漿浸透圧や循環血液量の変化による調節を受けている。浸透圧受容器は脳弓下器官や終板器官に存在し、血漿浸透圧の上昇がこれらの部位で感知され、SON や PVN の AVP ニューロンを刺激する。また血圧の低下や循環血液量の低下は左房壁や頸動脈洞、大動脈弓にて感知され、孤束核や青班核を介して、AVP 分泌を調整している。

一方で、小細胞性 AVP ニューロンは PVN、嗅球 (OB) 境界条床核 (BNST)、内側扁桃体 (MeA)、視交叉上核 (SCN) に存在しており、これらは下垂体前葉をはじめ、脳内の様々な部位に投射して、

神経伝達物質として作用している。しかし、この神経伝達物質としての AVP は、SCN が概日リズム、PVN、OB、BNST、MeA は社会性、不安、認知、記憶、行動などに影響を与えていると報告されているが、どのように調整され、どの神経核に作用することで、これらの影響を及ぼしているのかが未だ不明な点が多い。



## 2. 研究の目的

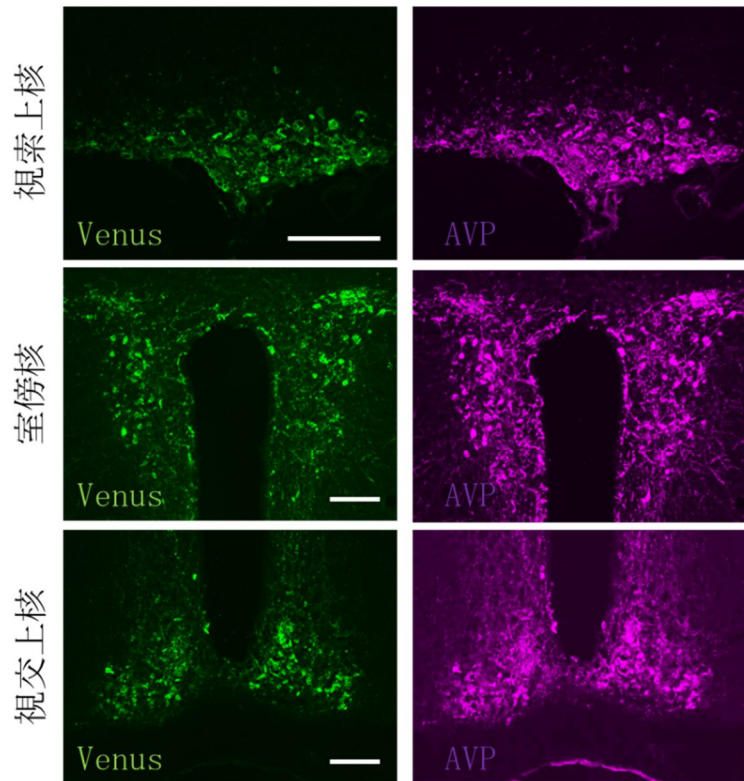
AVP ニューロンの投射を明らかにすることは、神経伝達物質としての AVP の作用部位とその役割を明らかにすることである。これまで、AVP は神経伝達物質として概日リズム、社会性、不安、認知、記憶、行動に影響を与えていると報告されているが、これらに対してどのように AVP 分泌が調整され、また作用するのは明らかになっていない。本研究では、AVP ニューロン特異的に Cre を発現する AVP-Cre マウスに Cre 依存性に蛍光タンパクを発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) を注入することで、神経核特異的に AVP ニューロンを標識し、それぞれの神経核に存在する AVP ニューロンごとにその投射先を明らかにする。各神経核における AVP ニューロンの投射を明らかにすることができれば、感情・情緒、発達障害や精神疾患の病態への理解、さらには新たな治療法に繋がる可能性もある。

### 3. 研究の方法

研究期間内には、神経核ごとの AVP ニューロンの投射先を解析する。以下の2種類のマウスを相補的に用いることで、より正確な解析を行うことが可能となる。

1 AVP ニューロンに Venus タンパクを発現する AVP-Venus マウスを用いて、視床下部外の AVP ニューロンの分布を確認する。

2 AVP ニューロン特異的に Cre を発現する AVP-Cre マウスに Cre 依存性に蛍光タンパクを発現する AAV を注入することで、神経核特異的に AVP ニューロンを標識したマウスを作成する。AVP-Venus マウスでの結果を参照しながら、それぞれの神経核の AVP ニューロンごとの軸索分布を明らかにする。



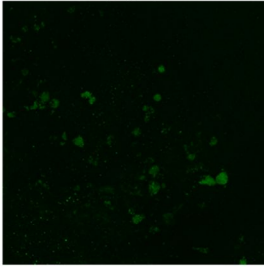
AVP-Venusマウスの  
AVPニューロンにおけるVenusの発現

### 4. 研究成果

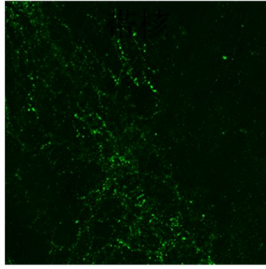
本研究では AVP ニューロン特異的に Venus タンパクを発現する AVP-Venus マウスを用いることで、AVP ニューロンの細胞体が存在する神経核の確認を行い、嗅球、ブローカーの対角帯核、外側中隔核、分界条床核、室傍核、視索上核、正中隆起、内側結節核、扁桃体内側核、中脳水道周囲灰白質、脳室周囲に Venus 発現を認めた。さらに AVP-Cre マウスに投与するにあたって、Cre 依存性に蛍光タンパクを発現する適切なアデノ随伴ウイルスの検証を行い、本研究に適切なアデノ随伴ウイルスを見出し、AVP-Venus マウスを用いて見出した神経核に、検証したアデノ随伴ウイルスを投与することで、各神経核における AVP ニューロンの投射先を明らかにしようとしたが、本研究で用いた AVP-Cre マウスにおける Cre の発現が、AVP ニューロンではない神経細胞にも発現していることが判明したために、現在保持している AVP-Cre マウスでは正確な評価ができなかった。そのために正確な評価のために transgenic ではなく、今後は knock-in マウスを用いた実験を検討している。

AVP-VenusマウスにおけるVenus発現部位

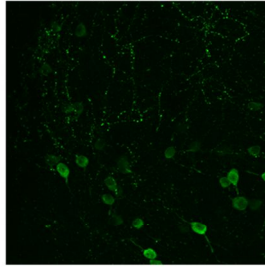
嗅球



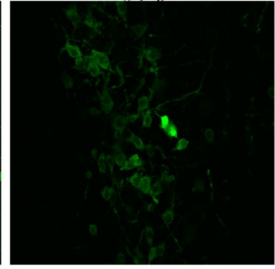
ブローカーの対角



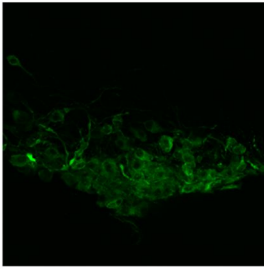
分界条床核



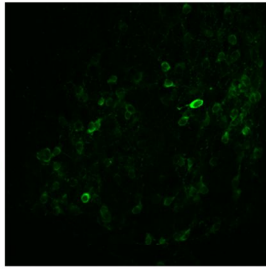
室傍核



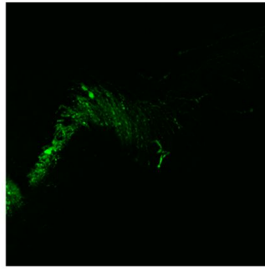
視索上核



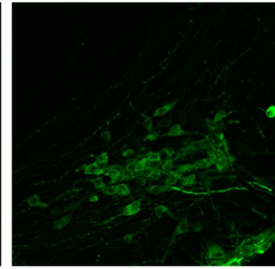
視交叉上核



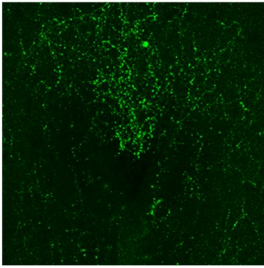
正中隆起



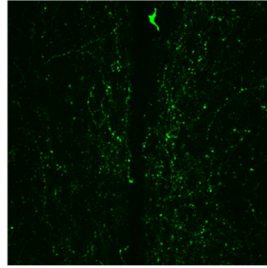
内側結節核



中脳水道周囲灰白質



脳室周囲



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Miwata Tsutomu, Suga Hidetaka, Kawaguchi Yohei, Sakakibara Mayu, Kano Mayuko, Taga Shiori, Soen Mika, Ozaki Hajime, Asano Tomoyoshi, Sasaki Hiroo, Miyata Takashi, Yasuda Yoshinori, Kobayashi Tomoko, Sugiyama Mariko, Onoue Takeshi, Takagi Hiroshi, Hagiwara Daisuke, Iwama Shintaro, Arima Hiroshi	4. 巻 18
2. 論文標題 Generation of hypothalamic neural stem cell-like cells in vitro from human pluripotent stem cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 869 ~ 883
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2023.02.006	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 -

1. 著者名 Kawaguchi Yohei, Hagiwara Daisuke, Tsumura Tetsuro, Miyata Takashi, Kobayashi Tomoko, Sugiyama Mariko, Onoue Takeshi, Yasuda Yoshinori, Iwama Shintaro, Suga Hidetaka, Banno Ryoichi, Grinevich Valery, Arima Hiroshi	4. 巻 35
2. 論文標題 Knockdown of endoplasmic reticulum chaperone BiP leads to the death of parvocellular AVP/CRH neurons in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.13223	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 -

1. 著者名 Kurimoto Junki, Takagi Hiroshi, Miyata Takashi, Kawaguchi Yohei, Hodai Yuichi, Tsumura Tetsuro, Hagiwara Daisuke, Kobayashi Tomoko, Yasuda Yoshinori, Sugiyama Mariko, Onoue Takeshi, Iwama Shintaro, Suga Hidetaka, Banno Ryoichi, Katsuki Takeshi, Ando Fumiaki, Uchida Shinichi, Arima Hiroshi	4. 巻 70
2. 論文標題 Mineralocorticoids induce polyuria by reducing apical aquaporin-2 expression of the kidney in partial vasopressin deficiency	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 295 ~ 304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ22-0339	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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川口 頌平、萩原 大輔、近藤 祐市、津村 哲郎、宮田 崇、Valery Grinevich、有馬 寛
2. 発表標題 視床下部室傍核小細胞性 AVP ニューロンにおける小胞体シャペロンBiPの役割の検討
3. 学会等名 第32回 バゾプレシン・オキシトシン研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 津村 哲郎、萩原 大輔、近藤 祐市、川口 頌平、宮田 崇、有馬 寛
2. 発表標題 妊娠出産が雌性家族性中枢性尿崩症モデルマウスの多尿の進行およびバゾプレシンニューロンの細胞死に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 第48回 日本神経内分泌学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 萩原 大輔、川口 頌平、宮田 崇、有馬 寛
2. 発表標題 バゾプレシンニューロンにおける小胞体ストレスとオートファジーの病態生理学的意義の解明
3. 学会等名 第95回 日本内分泌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 栗本 隼樹、高木 博史、津村 哲郎、蓬臺 優一、川口 頌平、宮田 崇、萩原 大輔、須賀 英隆、安藤 史顕、内田 信一、有馬 寛
2. 発表標題 部分的なバゾプレシン分泌不全状態ではミネラルコルチコイドの作用により多尿が顕在化する
3. 学会等名 第95回 日本内分泌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川口 頌平、萩原 大輔、津村 哲郎、蓬臺 優一、栗本 隼樹、宮田 崇、Grinevich Valery、有馬 寛
2. 発表標題 視床下部室傍核 CRH ニューロンにおける小胞体シャペロン BiP の役割の検討
3. 学会等名 第95回 日本内分泌学会総会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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