

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：34509

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07259

研究課題名（和文）『脳の領域選択的な脆弱性』と領域特有の血管環境の関連性

研究課題名（英文）Relationship of selective vulnerability and vessel environment in the brain

研究代表者

水谷 健一（Mizutani, Ken-ichi）

神戸学院大学・薬学研究科・特命教授

研究者番号：40469929

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）：本研究は、加齢や神経疾患で観察される脆弱性が、脳の領域選択的な脈管系の構造的特徴、あるいは加齢による領域選択的な血管老化が関与する可能性に着目した。その結果、VEGFR1陽性の内皮細胞を指標として、老齢では領域選択的に血管密度の減少が観察されることが見出され、また、アルツハイマー病モデル動物の脳血管を詳細に観察したところ、特徴的な毛細血管の周囲でアミロイドの蓄積が若齢から優先して観察された。今後、本研究を発展させ、老齢脳やアルツハイマー病脳における限られた組織領域が、何故脆弱であるのかを血管老化の観点からさらに分子的に追求することで、脳疾患の治療や予防に応用可能な技術を見出したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

毛細血管は全ての組織の機能維持に必須の役割を担うが、血管は加齢に伴って質的・量的に劣化することが知られている。このため、加齢に伴う脳機能の低下を抑えるためには、血管老化を予防することが重要と考えられており、効率的な血管老化予防法・治療法の確立が望まれている。本研究で見出された老齢脳や病態脳における領域選択的な血管老化に関する萌芽的知見が、今後、脳の老化や病態の解明に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Selective vulnerability refers to the fact that neural subpopulations in different region may be more prone to death in response to specific types of pathological states of brain aging. In this study, we focused on the relationship of selective vulnerability and vessel environment in the brain, and utilized VEGFR1-DsRed mice that expressed a red fluorescent protein in vascular endothelial cells to visualize cortical capillaries clearly. We found that cortical capillary density preferentially decreased in some region of aged VEGFR1-DsRed mice and Alzheimer's disease model mice. These results suggest that aging or neurodegenerative diseases target specific brain regions correlated with vascular degradation.

研究分野：脳血管老化

キーワード：脳老化 神経疾患 血管環境 血管老化 VEGF

1. 研究開始当初の背景

脳は、神経細胞、グリア細胞、ミクログリア、内皮細胞、ペリサイトなどから成るが、これらの構成細胞の中で神経細胞は虚血に脆弱であるのに対して、内皮細胞は虚血に耐性を持つことが知られている。また、虚血に応答する神経細胞の中でも、その脆弱性は均一ではなく、組織部位によって大きく異なり、選択的脆弱性(selective vulnerability)の存在が古くから指摘されており (Stroke 1981)、無(低)酸素血症や心停止などの全脳虚血で、細胞死が優先的に観察される領域の存在が示されている。例えば、大脳皮質では皮質内に帯状の層状壊死と呼ばれる現象が観察されるが、このような選択的脆弱性が認められる原因としては、脆弱な神経細胞周囲では優先的に老化する血管が局在するといった仮説と、神経細胞自体の不均一性(例えば低酸素応答性などが異なる)に起因するとした仮説があり、古くから論争があるが、結論には至っていない。申請者は、これまでの研究から、大脳皮質を構成する毛細血管は、形態的・分子的な特徴が領域特異的に明瞭に区別され、これによって構築される領域特有の血管環境が神経の発生・発達に重要な役割を果たすことを明らかにしている(Cell Reports 2019)。このことは、組織内で、虚血に比較的耐性を示す毛細血管と脆弱な毛細血管の存在、あるいは、組織修復に寄与する特殊な内皮細胞が存在し、これが脳の老化や病態の発症・進展と密接に関連する可能性を示唆している。本研究では、加齢や神経疾患で観察される脳内部位選択的な脆弱性は、脳の領域選択的な脈管系の構造的特徴、あるいは加齢による領域選択的な劣化が関与する可能性に着目した。

2. 研究の目的

種々の神経疾患で観察される脳内部位選択的な脆弱性は、脳の領域選択的な血管系の構造的特徴、あるいは加齢による領域選択的な劣化が関与する可能性を明確化することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 血管リポーターマウス (VEGFR (血管内皮成長因子受容体) 1-DsRed BACtg) を用いて、加齢に伴う血管密度の変化を画像解析で定量的に評価できる実験系を模索した。例えば、ImageJを用いたマニュアル解析では、撮影画像のコントラストの強弱によって数値が影響を受け易いことから(図1)、Auto Local Threshold 機能を用いて任意の場所を中心とする円中の輝度の平均値を閾値とする Mean 手法を用いて自動的な解析を検討した。

(2) 次に、この定量解析手法を用いて、加齢に伴って大脳皮質の血管密度を定量し、領域選択的に血管密度の減少を確認できるか否かを評価した。

(3) さらに、家族性アルツハイマー病変異を有する APP トランスジェニックマウス (Tg2576) と家族性アルツハイマー病変異 (N141I) を有する PS2 トランスジェニックマウスを交配することでダブルトランスジェニックマウスを作製し、毛細血管周囲で蓄積するアミロイドβタンパク質を詳細に観察した。

(4) また、本実験系を用いて抗酸化作用や抗炎症作用を有する食品由来成分を継続的にマウスに投与させ、血管老化に及ぼす影響を解析することで、食品由来成分の毛細血管老化に対する予防的効果を調べた。

4. 研究成果

(1) 血管リポーターマウスを用いて、VEGFR1 の発現量を指標として、血管密度を安定的に評価可能な実験系を模索した結果、手動で作成した閾値は再現性・客観性に乏しいことから、血管密度をより精確に評価するため、閾値を一定基準で設定することを目的に Auto Threshold 機能と Mean 手法を併用してシグナルを抽出し、抽出された血管を注意深く観察したところ、微小な血管由来のシグナルが抽出されない一方で、大血管由来のシグナルは過大に抽出されていることが明らかとなった。このため、画像全体の輝度値の平均では検出精度が低いことから、さらに改善を加え、検出する任意の点を中心とした円中におけるシグナル強度の平均を閾値とする Mean 手法を用い、血管のシグナルを検出した結果、血管由来の蛍光値が正確に抽出できる解析方法が確立された。つまり、

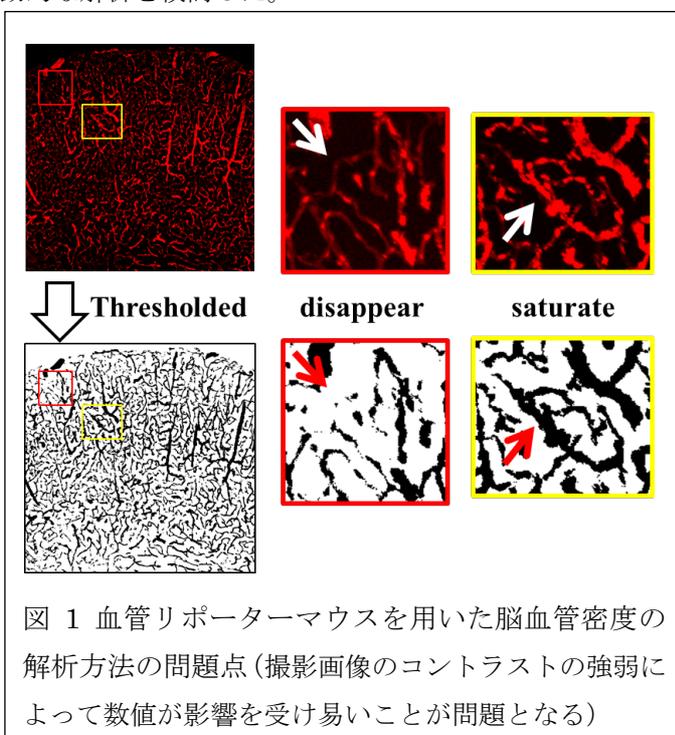


図1 血管リポーターマウスを用いた脳血管密度の解析方法の問題点(撮影画像のコントラストの強弱によって数値が影響を受け易いことが問題となる)

この手法を用いれば、脳における血管密度の加齢変化を再現性良く定量できることが明らかとなった。

(2) そこで、この解析方法を利用して 12 週齢と 44 週齢の血管密度を評価したところ、VEGFR1 陽性の内皮細胞を指標として、44 週齢では優先的に血管密度の減少が観察される領域が存在することが見出され、脳の血管老化に関する選択的脆弱性の可能性が示唆された。

(3) 次に、アルツハイマー病モデルマウスの大脳皮質組織を詳細に観察したところ、特徴的な性質を示す毛細血管の周囲（老化が進行している可能性が示唆される毛細血管の周囲）でアミロイドβが若齢から優先して蓄積することが見出された。このことは、脳の領域選択的な脆弱性が内皮細胞の特徴と密接に関連性がある可能性を示唆していることから、現在、脳部位選択的な脆弱性との関連性をさらに追求している。

(4) さらには、本実験系を利用して、抗酸化作用のある食品成分を若齢から継続投与し、大脳皮質の血管密度の加齢変化に影響を及ぼす可能性を評価した。その結果、優先して観察される血管密度の減少が有意に抑制され、予防可能であることが見出された。今後、本研究をさらに発展させ、老齢やアルツハイマー病の脳における限られた組織領域が、何故脆弱であるのかを血管老化の観点から分子的に追求し、脳の老化や病態の予防・治療する技術の開発への応用を目指したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Watanabe C., Imaizumi T., Kawai H., Suda K., Honma Y., Ichihashi M., Ema M. & Mizutani K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Aging of the Vascular System and Neural Diseases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Aging Neuroscience	6. 最初と最後の頁 309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnagi.2020.557384	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 Iwai R., Ishii T., Okamoto T., Fukushima Y., Ichihashi M., Sasaki Y. & Mizutani K.	4. 巻 67
2. 論文標題 Matcha and its components control angiogenic potential.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 119-126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.67.118	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 Shimizu R, Ishihara K, Kawashita E, Sago H, Yamakawa K, Mizutani K, & Akiba S.	4. 巻 535
2. 論文標題 Decrease in the T-box1 gene expression in embryonic brain and adult hippocampus of Down syndrome mouse models.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 87-92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.12.026	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 Leszczynski P., Smiech M, Paronov E, Watanabe C., Mizutani K. & Taniguchi H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Emerging roles of PRDM factors in stem cells and neuronal system: cofactor dependent regulation of PRDM3/16 and FOG1/2 (novel PRDM factor).	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9122603	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 該当する

1. 著者名 石原慶一、水谷 健一	4. 巻 141
2. 論文標題 神経-グリア-血管の連関からなる脳の細胞構築とその破綻	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 YAKUGAKU-ZASSHI (薬学雑誌)	6. 最初と最後の頁 333-334
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.20-00198-F	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 水谷 健一	4. 巻 141
2. 論文標題 時期特異的・領域特異的な血管化が担う、神経幹細胞・前駆細胞の調節機構	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 YAKUGAKU-ZASSHI (薬学雑誌)	6. 最初と最後の頁 335-341
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.20-00198-1	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 Suzuki-Komabayashi M., Yamanishi E., Watanabe C., Okamura M., Tabata H., Iwai R., Ajioka I., Matsushita J., Kidoya H., Takakura N., Okamoto T., Kinoshita K., Ichihashi M., Nagata K., Ema M. & Mizutani K.	4. 巻 29
2. 論文標題 Spatiotemporally Dependent Vascularization Is Differently Utilized among Neural Progenitor Subtypes during Neocortical Development.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1113-1129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.09.048	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 Takashima S., Watanabe C., Ema M. & Mizutani K.	4. 巻 129
2. 論文標題 Interaction of nervous and vascular system is required for proper assembly of the neocortex.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurochemistry International	6. 最初と最後の頁 104481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2019.104481.	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 水谷健一	4. 巻 140
2. 論文標題 大脳皮質における神経・血管の協調的な発生機構～VEGFシグナルの緻密な調節～	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 YAKUGAKU-ZASSHI	6. 最初と最後の頁 521-527
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.19-00221-3	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 長谷川潤、水谷健一	4. 巻 140
2. 論文標題 生体の恒常性を護る「血管化」ダイナミクス	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 YAKUGAKU-ZASSHI	6. 最初と最後の頁 507-508
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.19-00221-F	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 Saio S., Konishi K., Hohjoh H., Tamura Y., Masutani T., Iddamalgoda A., Ichihashi M., Hasegawa H. & Mizutani K.	4. 巻 20
2. 論文標題 Extracellular environment-controlled angiogenesis, and potential application for peripheral nerve regeneration.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 11169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222011169	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9件(うち招待講演 3件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 斎尾真吾、渡部千里、岩井亮太、市橋正光、依馬正次、水谷健一
2. 発表標題 VEGF受容体リポーターマウスの脳における血管老化の組織学的解析
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋尾真吾、渡部千里、岡本正志、市橋正光、依馬正次、水谷健一
2. 発表標題 VEGF受容体リポーターマウスを用いた脳血管老化の組織学的解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水谷健一
2. 発表標題 領域特有の血管網は、固有の微小環境を構築する
3. 学会等名 第63回日本神経化学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水谷健一
2. 発表標題 組織特有の血管環境は、神経分化を調節する
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会（ワークショップ）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水谷健一
2. 発表標題 組織幹細胞の分化を制御する微小環境の解明
3. 学会等名 第29回日本色素細胞学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水谷健一
2. 発表標題 Interaction of neurogenesis and angiogenesis is essential for the proper assembly of the neocortex.
3. 学会等名 第62回日本神経化学会・第42回日本神経科学会 合同大会(Neuro2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水谷健一
2. 発表標題 時期特異的・領域特異的な血管化が担う、神経幹細胞・前駆細胞の調節機構
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会 (但し、感染症問題のため開催中止)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mizutani K
2. 発表標題 Close association between the nervous and vascular systems is essential for brain assembly.
3. 学会等名 16th Meeting of the Asian Pacific Society of Neurochemistry (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水谷健一
2. 発表標題 脳血管の発達・老化と栄養
3. 学会等名 心血管代謝週間CVMW2021 (招待講演)
4. 発表年 2021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
---------	---------