

課題番号 40

妊娠母体の低栄養が子の中枢神経系の形態変化におよぼす影響： 小動物用高磁場 MRI 装置を用いた検証

[1] 組織

代表者：桑原 正貴

(東京大学大学院農学生命科学研究科)

対応者：武藤 達士

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

関澤 信一(東京大学大学院農学生命科学研究科)

枡内 亮太(東京大学大学院農学生命科学研究科)

山本 修三(東北大学病院)

研究費：物件費 15 万円

[2] 研究経過

【目的】近年、妊娠中の栄養の偏りが、子の成人後に肥満や高血圧を引き起こす現象が注目されている。妊娠中の飢餓や過剰なダイエットによる栄養不足、さらには精神的ストレスを含めた妊娠中の悪環境が、子の生活習慣病の原因となりうる可能性が指摘されている。その背景の一つに脳内でのエピジェネティックな変化が関与する発症機序があることが本学を始め様々な研究グループから報告されてきている。

低蛋白食を妊娠時に与えたラットと胎盤透過性のデキサメサゾンを経口投与したラットを作製したところ、いずれのラットでもその子の出生時体重は低下する一方、成長後には過体重(肥満)となり、食塩感受性高血圧を発症する。しかしながら、発達過程のどの段階で疾患が発症し、血圧調節中枢にどのような形態変化が起こるかについての検証はなされていない。本研究では、血圧情報が入力される延髄孤束核(NTS)を中心とした第4脳室近傍や交感神経系の重要な中継核である延髄吻側腹外側部(RVL)に着目し、血圧や摂食関連の遺伝子発現、メチル化、容積等に着目し、形態変化を引き起こす可能性を検討していく。

研究打合せとしては、コロナ禍であることから基本的には必要に応じてメールを利用して実施した。移動が可能となった平成2年7月2日に対応者である武藤先生が上京して下さり、研究分担者も含めて詳細な打合わせを実施した。

【計画】妊娠胎児期に低栄養暴露(6%タンパク)下で出産された Wistar ラットを用いる。対照群は非暴露群(25%タンパク)とする。イソフルラン麻酔下で脳 MRI (コンパクト MRI システム、M7 permanent magnet system, 1.05 tesla, Aspect Imaging) を撮像するとともに、摘出脳を用いて、免疫組織化学や遺伝子発現解析を実施する。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

昨年度の結果として、5ヶ月齢の低タンパク食群(LP, n=3) および対照群(CN, n=3) のラットを用いた撮像に成功したことと、今後に必要なであろう研究について以下の様に報告した。図1Cに示すように、脳のサイズを検討したところ、LP では小脳の長径が有意に短かった (11.8 ± 0.1 vs. 12.6 ± 0.1 [mm], $p < 0.05$) ことから、小脳容積を検討した(図1A)。その結果、LP の容積は、図1Bに示すように、小さい傾向を示していた($p = 0.081$)。

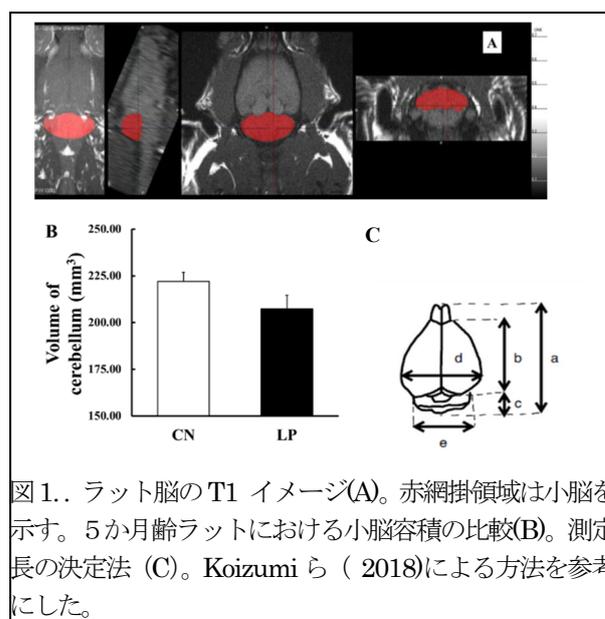


図1. ラット脳の T1 イメージ(A)。赤網掛領域は小脳を示す。5か月齢ラットにおける小脳容積の比較(B)。測定長の決定法 (C)。Koizumi ら (2018)による方法を参考にした。

今後、病理組織学的検討を実施する予定で、プルキンエ細胞の数、密度等を検討していく。なお、LPは、成長後においても過体重になることはなく、むしろ、

対照群と比較して低体重を維持しており、また、摂食量も少ないことから、摂食に関連する機能にLPが影響を及ぼした可能性があり、事実、MC3RのmRNA発現量がLPによって増加していることを突き止めている。ラット以外にも、老化促進マウスなど、その他げっ歯類を用いた低たんぱく曝露や加齢による影響を検討し、低体重であることがエピジェネティックな影響であるのか、また生体にとって悪影響であるのか等、解明していく必要がある。

今年度は、昨年度に必要な性を示した実験を実施する以前に、血圧調節機構として重要であると考えられている延髄が、血圧を神経学的に制御する心血管系調節の中核として非常に重要な部位であり、この領域の中でも孤束核(NTS)は圧受容器求心性情報を入力する最初のシナプス部位としての役割を担っている。NTSニューロンは、グルタミン酸作動性投射を尾側腹外側延髄(CVLM)にあるニューロンに送り、抑制性GABA作動性投射を吻側腹外側延髄(RVLM)にあるニューロンを介して機能していることから、NTS圧感受性ニューロンの活性化は、CVLMニューロンの興奮を誘発しRVLMニューロンの抑制をもたらす。哺乳類の中枢神経系における主要な興奮性神経伝達物質としてはグルタミン酸が、代謝型グルタミン酸受容体(mGluR)を介して作用し、セカンドメッセンジャーシグナル伝達カスケードを開始する神経調節物質にもなる。mGluRはGタンパク質共役型受容体であり3つのグループに分類され、グループIのmGluRはGqタンパク質であり、グループIIおよびIIIのmGluRはGiタンパク質である。グループIのmGluRはホスホリパーゼCシグナル伝達カスケードを刺激するが、グループIIとグループIIIはアデニル酸シクラーゼ経路を阻害する。mGluRは延髄、特にNTSに存在し、自律神経系機能におけるグルタミン酸作動性伝達の調節に大きく寄与することが知られているものの、血圧調節におけるmGluRの働きに関する詳細な検討はなされていない。そこで、自然発症高血圧ラット(SHR)と正常血圧モデルであるWistar Kyotoラット(WKY)を利用し延髄におけるグループII mGluRの血圧調節における役割を明らかにすることを目的とした。

まず、グループII mGluRモジュレーターであるLY379268(mGluR2/3アゴニスト; 0.40 µg/日)およびLY341495(mGluR2/3アンタゴニスト; 0.40 µg/日)を延髄背側部に埋入したミニ浸透圧ポンプにより慢性(6週間)投与した際の、血圧(BP)と心拍数(HR)に及ぼす影響をSHRとWKYで検討した。その結果、アンタゴニストの投与によりBPはSHRで有意に増加したが、WKYでは変化が認められなかった。一方、アゴニストの投与ではSHRのBPは有意に低下した

が、WKYでは変化が認められなかった。HRについてはSHRとWKYとも何れの処置によっても顕著な変化は認められなかった。これらの結果から、延髄においてmGluR2/3アゴニストによる刺激が高血圧の発症を抑制する可能性が示唆された。

さらに、神経伝達に関連する代謝型グルタミン酸受容体(mGluR)遺伝子の発現について分子生物学的及び免疫組織学的に検討を加えた。SHRに対するアゴニストの血圧低下作用は投与終了SHRではアゴニストの投与は対照群と比較してmGluR2遺伝子発現レベルを変化させなかったが、アンタゴニストの投与は発現レベルを増加させた。また、WKYではmGluR2の遺伝子発現レベルに顕著な変化は認められなかった。mGluR3の遺伝子発現レベルは、両系統共に変化は認められなかった。免疫組織学的にも同様な結果が得られた。高血圧発症に関与する延髄背側mGluR2/3の役割を介した神経機構の発見は、血圧調節機構の更なる解明および高血圧の治療戦略における創薬に対して新たな情報を提供するものと思われる。

これらのことから、本研究で見いだされた延髄における神経伝達機構に及ぼす低たんぱく曝露の景況を解明していくことが、今後の課題であると考えられた。

(3-2)波及効果と発展性など

加齢医学研究所における共同研究を通して学外研究者との交流が活性化し、国内外の研究者とともに低たんぱく動物モデルの研究と血圧調節の神経学的機構を機能的および組織形態学的に進める機会を得た。今後は本研究のアピールに加えて、新研究領域の開拓を進めていきたい。

[4] 成果資料

1. Hyakutake, A., Tochinai, R., Sekizawa, S.I., Kuwahara, M. Low protein feeding during late pregnancy suppresses the body mass development of male rat offspring. The 1st ToBeST Symposium @ Seoul.11-16-2019. Korea.
2. Hsu, JCN, Sekizawa, S.I., Tochinai, R., Kuwahara, M. Chronic Stimulation of Group II Metabotropic Glutamate Receptors in the Medulla Oblongata Attenuates Hypertension Development in Spontaneously Hypertensive Rats. PLOS ONE, submitted.