

脳浮腫の発生メカニズムを解明

～脳内温度の上昇を介した新たなメカニズムの発見～

1. 発表者：

小山 隆太（東京大学大学院薬学系研究科 薬学専攻 准教授）
星 雄高（東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 博士課程2年生）
岡部 弘基（東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 助教）
柴崎 貢志（群馬大学大学院医学系研究科 医科学専攻 准教授）
船津 高志（東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 教授）
松木 則夫（東京大学 理事・副学長）
池谷 裕二（東京大学大学院薬学系研究科 薬学専攻 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ 虚血による脳浮腫を経時的に評価する実験系の立ち上げに成功しました。
- ◆ 蛍光温度プローブを利用し、虚血後に脳内温度が上昇することを発見しました。また虚血後の脳浮腫の発生が温度受容体 TRPV4 の活性化を介していること、そして TRPV4 の阻害により脳浮腫を抑制できることを発見しました。
- ◆ 本研究は、これまで不明であった脳浮腫の新たな発生メカニズムを提唱しました。また、TRPV4 が脳浮腫の新たな治療ターゲットとなることを示しました。

3. 発表概要

東京大学大学院薬学系研究科の小山隆太准教授らの研究グループは、脳浮腫が生じる新たなメカニズムを明らかにしました。

脳浮腫は、脳組織に水分が過剰に溜まることで脳が膨張した状態です。脳浮腫は脳梗塞などの虚血状態によって発生し、致死率が高く、後遺症が生じることが問題となっていました。しかし脳浮腫の詳細な発生メカニズムは未だ解明されておらず、有効な治療法も十分に確立されていません。

研究グループは、虚血性の脳浮腫において脳内温度が上昇することを生体外実験系で発見し、温度受容体の一つである transient receptor potential vanilloid 4 (以下 TRPV4、注1) の活性化が脳浮腫の発生に関与することを明らかにしました。

本研究から、脳内温度の上昇が脳浮腫に関与することや、その原因分子が明らかにされました。本研究の結果が、脳梗塞などに伴う虚血による脳浮腫を抑制する治療薬の開発に繋がることを期待されます。

4. 発表内容：

研究の背景と経緯

脳浮腫は、脳組織に水分が過剰に溜まることで脳が膨張した状態です。脳浮腫は急速に進行し、一度発生すると重篤な後遺症が残ることや、死に至ることも多いため、その発生メカニズムの解明は大きな課題となっています。しかし、これまでに脳浮腫発生のメカニズムは十分明らかになっておらず、有効な治療法や治療薬の確立は遅れています。

脳浮腫は、主に脳梗塞などの虚血状態によって発生することが知られています。多くの先行研究は虚血による細胞死に着目し、虚血モデル動物を用いた検討が積極的に行われてきまし

た。一方、虚血による脳浮腫形成を経時的に検証することで、そのメカニズムを探求する報告はありませんでした。

研究方法と発見の内容

研究グループは、マウス急性脳スライス標本、および蛍光温度プローブ（注2）を用いることで、脳浮腫の発生における温度変化と温度受容体 TRPV4 の関与を経時的に調べました。

1) 虚血誘導性脳浮腫の発生に TRPV4 が関与する

脳浮腫は、しばしば脳梗塞などの虚血を発生要因とします。脳浮腫には低温療法が適用されることがあるため、我々は、脳浮腫への温度の関与に興味を持ちました。そこで、27°Cから34°C以上で強く活性化し、温度受容体として機能するイオンチャネル「TRPV4」が脳浮腫に関与する可能性を検証しました。具体的には、マウスから摘出した急性脳スライスに OGD（oxygen glucose deprivation；酸素・グルコース欠乏）処置を行い、虚血を模倣した状態を誘導しました。虚血処置後に経時的観察をした結果、急性脳スライスの断面積と含水量が有意に増加し、脳浮腫状態が誘導されました。さらに、この生体外実験系での脳浮腫は TRPV4 の特異的阻害薬である HC-067047 の処置や、TRPV4 のノックアウトマウス由来の急性脳スライスを使用することで抑制されました。また、TRPV4 の特異的活性化薬である GSK1016790A を急性脳スライスに処置することのみによっても脳スライスの断面積が増加しました。以上の結果から、虚血時には TRPV4 の活性化によって脳浮腫が生じることが示唆されました。

2) 虚血誘導性脳浮腫の発生に脳温度の上昇が関与する

TRPV4 は温度感受性受容体であるため、虚血処置によって脳スライスの温度が上昇している可能性を調べました。著者の一人である岡部博士が開発した蛍光温度プローブを使用したところ、虚血処置後に脳スライス内の細胞温度が上昇することが分かりました。そこで、次に急性脳スライスに高温処置をおこなったところ、温度依存的に脳スライスの断面積が増加しました。さらに、これらの現象は TRPV4 の特異的阻害薬である HC-067047 の処置によって抑制されました。以上のことから、虚血性脳浮腫には温度上昇とこれによる TRPV4 の活性化が関与することが示唆されました。また、虚血状態を伴うことが報告されている傷害性脳浮腫モデルにおいて、TRPV4 ノックアウトマウスでは脳浮腫が誘導されていないことも確認しました。

3) 虚血によるグルタミン酸受容体の活性化が脳温上昇に関与する

これまで、虚血状態ではグルタミン酸の放出による細胞への興奮毒性（注3）が問題となっていました。そこで、虚血による温度上昇にグルタミン酸が関与する可能性を薬理的に検証しました。その結果、グルタミン酸受容体の阻害薬である CNQX と AP-5 の共処置によって、虚血処置による脳内温度の上昇と脳断面積の増加が抑制されることがわかりました。また、グルタミン酸の処置のみによっても温度が上昇しました。グルタミン酸受容体は主に神経細胞に発現するため、グルタミン酸による脳内温度上昇には神経活動が関与する可能性が考えられます。

今回の結果から、脳梗塞などによって引き起こされる虚血状態による脳浮腫には、グルタミン酸の放出による脳温度の上昇と、これによって誘導される TRPV4 受容体の活性化が関与することが示唆されました。

今後の展開

本研究成果は、脳浮腫の発症メカニズムに温度受容体 TRPV4 が関与するという新知見をもたらしました。この発見は、現在確立されていない脳浮腫の新規治療ターゲットとなり得ます。

また、体温をはじめとして、「温度」は我々が生きていく上で欠かすことの出来ない要素の一つです。それを伝える分子である温度受容体は近年盛んに研究が進められ、生理的機能を担う分子として注目を集めています。本研究グループでは、温度受容体の病態への関与を脳浮腫にとどまらず、他の脳疾患においても検証を進めています。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Journal of Neuroscience*

論文タイトル：Ischemic brain injury leads to brain edema via hyperthermia-induced TRPV4 activation

著者：Yutaka Hoshi, Kohki Okabe, Koji Shibasaki, Takashi Funatsu, Norio Matsuki, Yuji Ikegaya, Ryuta Koyama*

DOI 番号：10.1523/JNEUROSCI.2888-17.2018

アブストラクト URL：

<http://www.jneurosci.org/content/early/2018/05/23/JNEUROSCI.2888-17.2018>

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院薬学系研究科 薬品作用学教室

准教授 小山 隆太

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

Tel：03-5841-4782 Fax：03-5841-4786

E-mail: rkoyama@mol.f.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

注1 TRPV4

TRPV4は「TRP イオンチャネル」という膜タンパク質の一種です。温度センサーとして近年注目を集めており、温度を感知して活性化した TRP イオンチャネルは、温度情報をイオンシグナルに変換して細胞内に伝達します。生体では脳（海馬、視床下部など）をはじめとして、腎臓や皮膚の表皮細胞などにも存在しており、その役割が注目されています。

注2 蛍光温度プローブ

今回使用した蛍光温度プローブは温度によってその構造が変化し、それに伴い異なる蛍光寿命（蛍光がどの程度持続するか）を示します。これを導入した細胞を蛍光寿命顕微鏡下で観察することにより、生きている細胞の温度変化を高い分解能で捉えることができます。

注3 興奮毒性

グルタミン酸は興奮性神経伝達物質として重要な働きを持ちます。虚血時には神経細胞からグルタミン酸が過剰に放出され、細胞への毒性を示すことがこれまで報告されてきました。

9. 添付資料:

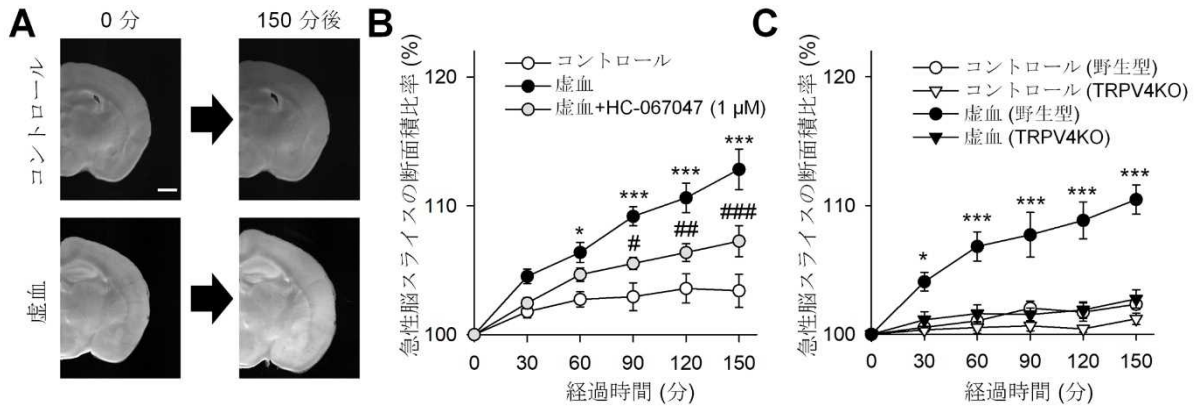


図1 生体外実験系における虚血性脳浮腫は TRPV4 の阻害により抑制される。

(A) 虚血処置を行った急性脳スライスの代表画像。150分後に断面積の増加が観察された。スケールバー: 1 mm. (B) 0分における急性脳スライス断面積に対する各時点での比率。虚血処置を0分から10分にかけて行った群では、断面積が有意に増加した。虚血処置に加えて、TRPV4の特異的アンタゴニストである HC-067047 (1 μM) を処置した群では、急性脳スライスの断面積の増加が優位に抑制された。(C) TRPV4 KO マウスから急性脳スライスを作製し、虚血処置を行った。TRPV4 KO 群では、虚血による急性脳スライスの断面積増加が有意に抑制された。

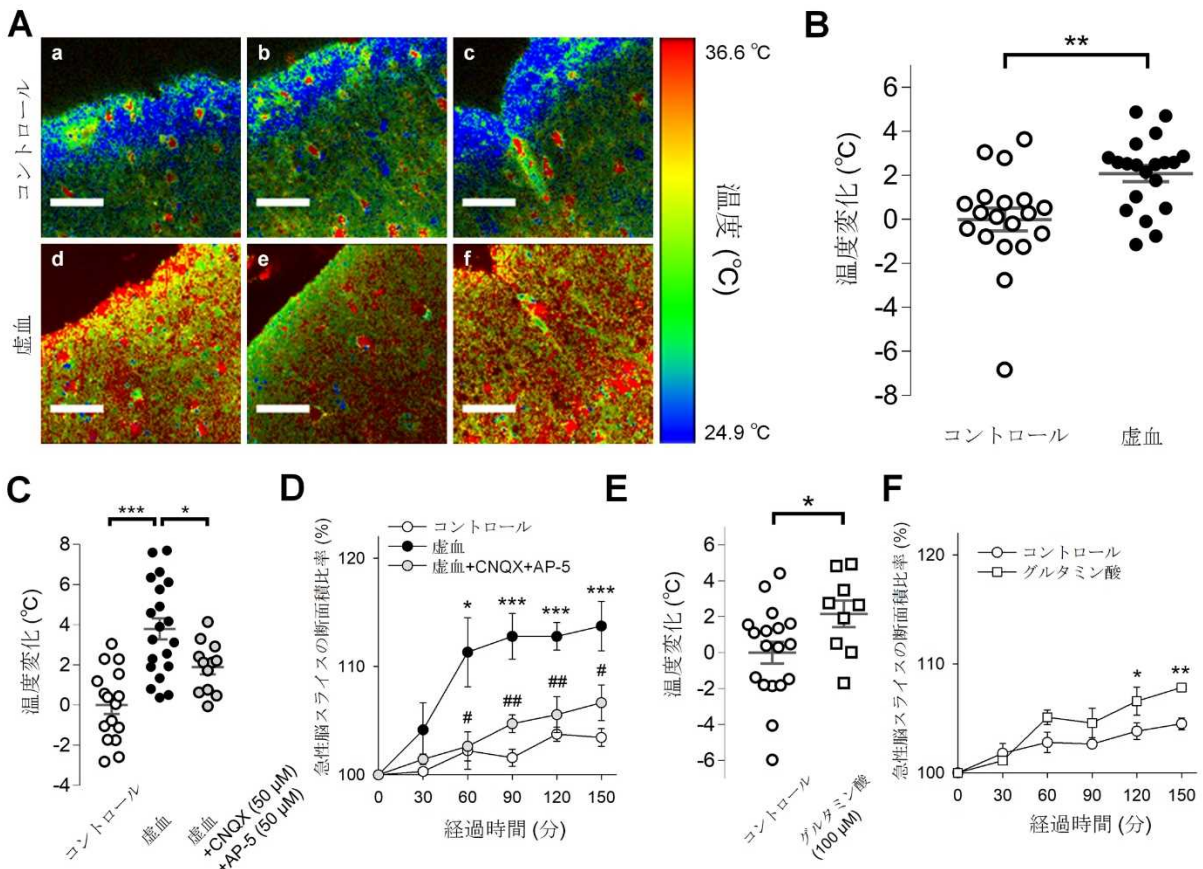


図2 虚血により急性脳スライスの細胞内温度がグルタミン酸受容体依存的に上昇する。

(A) 急性脳スライスの細胞内温度イメージング画像。虚血処置を行った群では、細胞内温度が上昇している様子がわかる。スケールバー: 50 μm . (B) 蛍光温度プローブから見積もられた細胞内温度の差。虚血処置により、平均して 2.12°C 上昇した。(C) 虚血処置による細胞内温度上昇は、グルタミン酸受容体の阻害薬である CNQX (50 μM) と D-AP-5 (50 μM) を共処置することにより抑制された。(D) グルタミン酸の阻害薬を処置することにより、虚血処置による急性脳スライスの断面積増加も抑制された。(E) グルタミン酸の単独処置のみによって、急性脳スライスの細胞内温度が上昇した。(F) グルタミン酸の単独処置により、急性脳スライスの断面積が増加した。