

RAGE is essential for oxytocin functions in maternal bonding and nurturing in mice

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-07-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Yamamoto, Yasuhiko メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00054898

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



【研究紹介】

オキシトシンによる母親の養育行動には
パターン認識受容体 RAGE が関わる

RAGE is essential for oxytocin functions in maternal bonding and nurturing in mice

金沢大学医薬保健研究域医学系 血管分子生物学
山 本 靖 彦

はじめに

オキシトシンは9個のアミノ酸からなる環状ペプチドであり、主として脳視床下部の室傍核と視索上核の神経分泌細胞で合成され、下垂体後葉の神経末端から循環中に放出される。その機能として、陣痛誘発時の子宮収縮や授乳時の乳汁分泌作用といった末梢作用が良く知られている。最近になり、オキシトシンの扁桃体や視床下部を中心とする「社会脳」領域への中枢作用があること、つまり、具体的な作用として「信頼や愛情の形成」にも関わることが分かってきた。このような信頼や愛情が必要な最も基本的な単位は“親子”であり、その中でも“母と子の関係”は極めて根本的なものである。子育てはヒトに限らずマウスにおいてもよく見られる社会行動であり、母親による養育行動は「子の生存率を高めるような母親の行動」といえる。

そこで、オキシトシンが社会性行動を引き起こす“愛情ホルモン”として中枢神経作用を発揮するには、末梢循環から脳内へ移行すること、つまり血液脳関門 (blood brain barrier, BBB) の通過が必須となる。しかし、これまでこのような現象の存在そのものや、その通過の分子機構については全く分かっていなかった。

RAGE欠損マウスの母親の下で養育された仔マウスの生存率は低い

当教室では、これまでに、RAGE (Receptor for Advanced Glycation End-products) という分子を中心に、特に、RAGE過剰発現トランスジェニック (RAGE-Tg) マウス、RAGEノックアウト (RAGE-KO) マウスを作製・解析することで、糖尿病、老化、炎症、がんなどに関わる研究を推進してきた^{1,2)}。RAGEとは、グリケーション反応によって生じる後期糖化反応生成物 (advanced glycation end-product, AGE) の細胞膜受容体として当初見出された分子である。そして、そのグリケーション反応とは、非酵素的に生じる生体分子の「錆びや腐食」のような現象のことであり、老化の原因ともいわれているものである。そのような受容体RAGEは、現在では、AGE以外のリガンドも結合することが明らかにされ、トル様受容体などと同様に自然免疫に関わるパターン認識受容体の一員として、様々な病態形成に原因的に関わると考えられるようになってきた³⁾。

実験上、RAGE-KOマウスのホモ接合体コロニーを作製し、実験群の匹数を増やす際、母RAGE-KOマウスを新しいマウスケージに移し環境変化ストレスを負荷すると、

その仔の生存率が著しく低下することを偶然見出した。この現象を確かめるため、RAGE-KOマウスの仔と野生型の仔を生後2日目に入れ替え、RAGE-KOマウスの母親に野生型の仔の子育てをさせる実験を行っても、その後の仔の生存率は野生型の母マウスに養育された仔に比べて有意に低いままであった。このような母親マウスの養育行動の異常は、オキシトシンKOマウス、オキシトシン受容体KOマウス、さらに共同研究者である子どものこころの発達研究センター・東田教授グループが報告したオキシトシン分泌低下をきたすCD38-KOマウスにおいても観察されており^{4,5)}、RAGE-KOマウスの母親はオキシトシンが関わる養育行動に異常があるのではないかと考えた。オキシトシンは血管内皮細胞のRAGEに結合し血液脳関門 (BBB) を透過する⁶⁾。

そこで、まず初めに、合成オキシトシン (ペプチド研) とヒトおよびマウスの精製RAGEリコンビナントタンパクとの直接結合を表面プラスモン共鳴法とELISAプレートで確認したところ、オキシトシンはRAGE細胞外領域の免疫グロブリン様ドメイン3つ (N末端側からV, C1, C2) のうちのVドメインとC1ドメインに結合することが分かった。続いて、初代培養したサル脳毛細血管内皮細胞、ラット脳周皮細胞及びラット星状細胞を含む微小血管単位で構成されるin vitro血液脳関門 (BBB) 透過性アッセイキット (ファーマコセル) を用いてオキシトシンのBBB透過性の検証を行った。使用したサル脳毛細血管内皮細胞上にRAGEが発現しているかどうかを確認し、その確認後、RAGE発現を抑制するためのRAGE small hairpin RNA (shRNA) ベクターとその対照ベクターを用いたRAGE遺伝子ノックダウン実験によりRAGE依存性を検証した。実際のアッセイ直前には、BBBの細胞層を通過するナトリウムイオンの流れを反映する経内皮電気抵抗 (transendothelial electrical resistance, TEER) を指標として、BBBの緊密度 (tightness) が達成されていることを確認しながら行った。その結果、血管側チャンパーにオキシトシンを入れた場合のみ、脳側チャンパーへのオキシトシンの移行が確認でき、逆に、脳側にオキシトシンを入れても血管側への移行は全く検出できなかった。オキシトシンのBBB透過性は、RAGE依存的であり、脳内にごくわずかに移行可能な薬剤と同程度の移行度と判定し、さらに、その移行はRAGE細胞内シグナル伝達系の活性化は必要のないものであった。

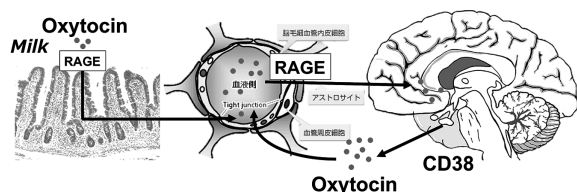


図. 末梢血液中のオキシトシンが脳内に移行するためには、血液脳関門 (blood brain barrier, BBB) を超える必要があり、BBB を構成する脳血管内皮細胞上に存在する RAGE が必要となる。下垂体後葉から末梢血液中にオキシトシンが分泌される際には CD38 が機能している。母乳中のオキシトシンの吸収にも小腸上皮細胞に存在する RAGE が重要な役割を果たす。Receptor for advanced glycation end-products, RAGE.

以上の結果、RAGE はオキシトシンと結合することで、オキシトシンの BBB 通過と脳移行に働いていることが示唆された。実際に、マウスの脳血管内皮細胞上にも RAGE 発現があることを確認し、続いて、RAGE 遺伝子改変マウスを使用した実験で、合成オキシトシン (天然のものと [^{13}C , ^{15}N] 標識オキシトシン) を皮下注射、静脈内投与、鼻腔投与を行い、その脳移行を確認した。時間を追って調べると、野生型マウスと違って、RAGE-KO マウスでは、脳脊髄液、脳内への移行は全く生じないことが明らかとなった。そして、養育行動の異常を認めた RAGE-KO マウスの母親の脳血管内皮細胞に RAGE 発現を戻すことで養育行動がレスキューされるかどうか実験を行ってみると、マウスの仔の生存率は有意に上昇した。確認のためにオキシトシンの脳内移行性を検討してみると、脳血管内皮細胞に RAGE を戻した RAGE-KO マウスではオキシトシンは脳内へ移行していた。加えて、血管内皮細胞だけで RAGE 発現が欠損するコンディショナル RAGE-KO マウスを作製し、その母親の仔の生存率を調べると、野生型に比べ有意に低いことも分かった。

オキシトシンの腸管バリアーの移行にも RAGE が関わる

まとめると、オキシトシンは視床下部の室傍核と視索上核の神経細胞で合成され、下垂体後葉から血液中へ放出される。その後、血中のオキシトシンは血液脳関門 BBB を構成する脳血管内皮細胞上の RAGE と結合し、その後、BBB を透過して脳内に移行することが明らかとなった (図)⁶⁾。脳内に移行することで、オキシトシンは、本来の神経細胞表面に発現するオキシトシン受容体と結合し、「信頼や愛情」などの中枢神経作用を発揮することとなる。

また、同時に行っていた別の研究により、母乳中にもオキシトシンが含まれており、そのオキシトシンは小腸粘膜上皮細胞に発現する RAGE によって腸管バリアーを超え、血中に移行することが分かった (図)⁷⁾。出生後の子どもが母乳を飲むことにより、オキシトシンが吸収され血中へ移行し、さらに脳内へ輸送される、そのステップに RAGE が関わっていることが明らかとなった。

おわりに

オキシトシンの脳内移行とその作用発揮による“母子の絆”や“愛情”の基盤には、BBB に存在する RAGE が必須の分子であるということが分かった。これらの成果は、

自閉症スペクトラム障害を含む、統合失調症や反応性愛着障害などの精神疾患に対する新たな治療手段の開発を提供することにもなり得ると考えられる。研究の成果は、育児放棄、虐待など、今日の少子化時代において深刻化する社会問題の解決の一助になる可能性も秘めておりさらに研究を進めている。

本研究成果は、当研究室と子どものこころの発達研究センター・東田陽博研究室、神経解剖学・堀修研究室、機能解剖学・尾崎紀之研究室、脳・脊髄機能制御学・中田光俊研究室、そして公立小松大学・山本博先生との共同研究によって成し遂げられました。改めて共同研究者の皆様に感謝いたします。

また本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業、日本学術振興会「国際的な活躍が期待できる研究者の育成事業」、金沢大学先魁プログラム 2018、2017 年度武田生命科学助成、日本医療研究開発機構 (AMED) 戦略推進部脳科学研究戦略推進プログラム (脳プロ) の支援を受けて実施されました。

文 献

- 1) Yamamoto Y, Yamamoto H. RAGE-mediated inflammation and diabetic vascular complications. *J Diabetes Invest* 2011; 2(3): 155-7.
- 2) Yamamoto Y, Yamamoto H. Controlling RAGE to conquer diabetic vascular complications. *J Diabetes Invest* 2012; 3(2): 107-14.
- 3) Yamamoto Y, Yamamoto H. RAGE-mediated inflammation, type 2 diabetes and diabetic vascular complication. *Front Endocrinol* 2013; 4: 105.
- 4) Takayanagi Y, Yoshida M, Bielsky IF, Ross HE, Kawamata M, Onaka T, Yanagisawa T, Kimura T, Matzuk MM, Young LJ, Nishimori K. Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(44): 16096-101.
- 5) Jin D, Liu HX, Hirai H, Torashima T, Nagai T, Lopatina O, Shnyder NA, Yamada K, Noda M, Seike T, Fujita K, Takasawa S, Yokoyama S, Koizumi K, Shiraishi Y, Tanaka S, Hashii M, Yoshihara T, Higashida K, Islam MS, Yamada N, Hayashi K, Noguchi N, Kato I, Okamoto H, Matsushima A, Salmina A, Munesue T, Shimizu N, Mochida S, Asano M, Higashida H. CD38 is critical for social behaviour by regulating oxytocin secretion. *Nature* 2007; 446(7131): 41-5.
- 6) Yamamoto Y, Liang M, Munesue S, Deguchi K, Harashima A, Furuhashi K, Yui T, Zhong J, Akther S, Goto H, Eguchi Y, Kitao Y, Hori O, Shiraishi Y, Ozaki N, Shimizu Y, Kamide T, Yoshikawa A, Hayashi Y, Nakada M, Lopatina O, Gerasimenko M, Komleva Y, Malinovskaya N, Salmina AB, Asano M, Nishimori K, Shoelson SE, Yamamoto H, Higashida H. Vascular RAGE transports oxytocin into the brain to elicit its maternal bonding behaviour in mice. *Commun Biol* 2019; 2: 76.
- 7) Higashida H, Furuhashi K, Yamauchi AM, Deguchi K, Harashima A, Munesue S, Lopatina O, Gerasimenko M, Salmina AB, Zhang JS, Kodama H, Kuroda H, Tsuji C, Suto S, Yamamoto H, Yamamoto Y. Intestinal transepithelial permeability of oxytocin into the blood is dependent on the receptor for advanced glycation end products in mice. *Sci Rep* 2017; 7(1): 7883.