

## 新生児マウスの脳毛細血管を単離する手法を開発 -脳発達・発育に栄養が与える影響の解明に期待-

### (ポイント)

- 新生児マウス1匹の凍結脳から脳毛細血管を単離する技術を開発しました。
- 新生児マウスの脳毛細血管において、約4,400種類のタンパク質の発現情報を得るとともに、新生児マウス脳毛細血管においてアミノ酸輸送や血管周囲環境維持に関わるタンパク質の発現が変化していることを明らかにしました。
- 今後、出生後の脳毛細血管の機能変化と脳発達・発育に関する研究が加速することで、新生児のアミノ酸等の栄養状態と脳発達・発育との関係の理解が深まり、よりよい脳発達に寄与することが期待されます。

### (概要説明)

熊本大学大学院生命科学研究部（薬学系）の大槻純男教授らの研究グループは、生後7日の新生児マウス1匹の凍結脳から脳毛細血管<sup>\*1</sup>を単離する技術を開発し、プロテオミクス<sup>\*2</sup>により新生児マウスの脳毛細血管における分子変化を明らかにしました。

脳は出生直後から急激に発達・発育します。また、脳毛細血管は、血液から脳への栄養供給を担い、制御しています。これまで新生児マウスの脳が小さくかつ脆弱であるために脳毛細血管の単離が困難であったことが、新生児の脳毛細血管の解析の課題でした。今回開発した技術及び網羅的な分子データは、脳への栄養供給の観点から新生児の栄養状態と脳発達・発育との関係を理解する研究に大きく寄与し、より良い脳発達に貢献することが期待されます。

本研究は日本学術振興会科学研究費助成事業（研究課題/領域番号：21H02649 及び23H04937）、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）生命科学・創薬研究支援基盤事業「超微量・高深度な定量プロテオーム解析のワンストップ支援と高度化」及び国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)の支援を受けて「Fluids and Barriers of the CNS」に日本時間6月23日に公開されました。

## (説明)

### [背景]

脳は出生直後から急激に発達・発育し、ヒトにおいては4～5歳で成人の約80%に達するといわれています。このような急激な発達・発育を支えるためには、血液から必要な栄養が脳に供給される必要があります。また、栄養の供給不足は脳の発達・発育に影響を与えると考えられます。

脳毛細血管は血液脳関門として機能し、血液から脳への栄養供給を担い、制御しています。これまでに新生児マウスの脳毛細血管では、物質輸送に関わる特定の分子の発現や機能が成体マウスと異なっていることが知られていましたが、その全容は不明でした。その大きな要因は新生児マウスの脳が小さくかつ脆弱であるために脳毛細血管の単離が困難であり、詳細な解析ができなかったからです。

本研究ではこの課題を解決するために、1匹の新生児マウスの凍結脳から脳毛細血管を単離する技術を開発しました。さらに、単離した脳毛細血管を最新プロテオミクスにより解析を行い、新生児マウス脳毛細血管のタンパク質発現の全容を明らかにし、成体との比較を行いました。

### [研究の内容・成果]

本研究グループは、成体マウス1匹の凍結脳から高純度に脳毛細血管を単離する技術をすでに確立していましたが、新生児マウス（生後7日）の凍結脳でこの方法を用いた場合、脳毛細血管は単離できませんでした。そこで、新生児脳の脆弱性に対応するために改良を重ねた結果、新生児マウス1匹の凍結脳から脳毛細血管を単離することに成功しました（図1）。さらに、この単離した脳毛細血管を最新プロテオミクスによって解析し、約4,400種類のタンパク質の発現情報を得ることができました。

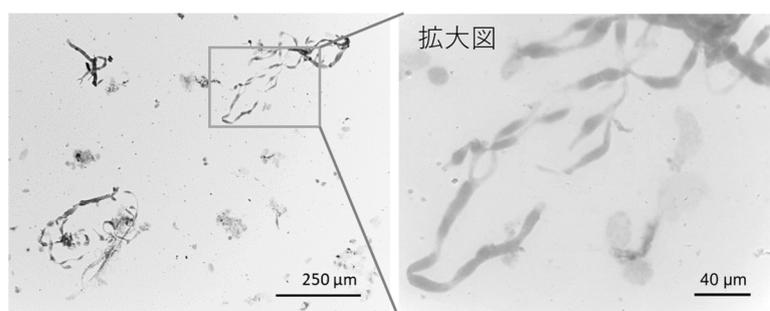


図1 単離したマウス新生児の脳毛細血管

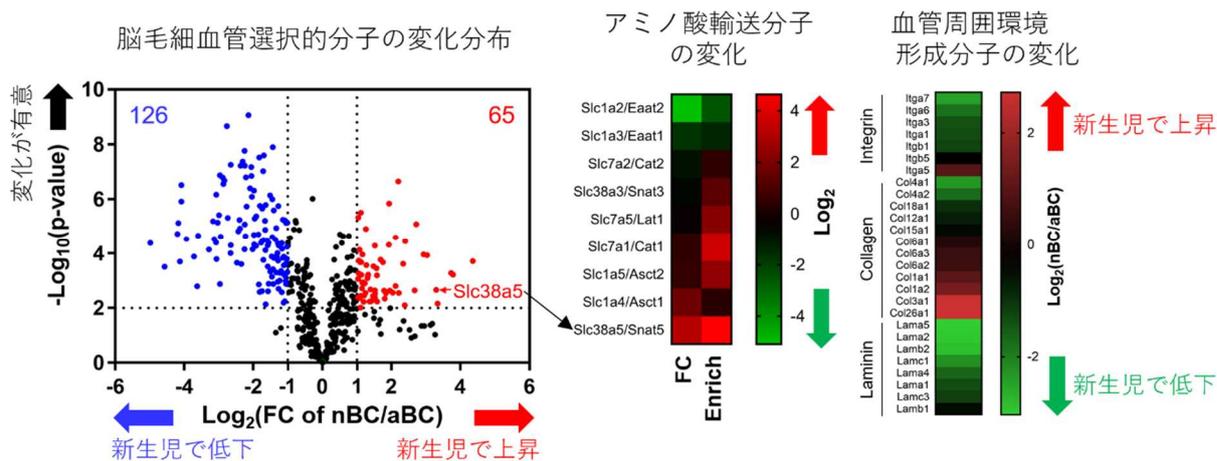
この開発した技術を用いて単離した新生児の脳毛細血管のタンパク質発現情報と、成体マウス脳毛細血管から得たタンパク質発現情報を比較解析した結果、特定のアミノ酸の輸送に関わる分子の発現が新生児マウス脳毛細血管で上昇していることを明らかにしました（図2）。加えて、脳血管の周囲環境を形成するコラーゲン等の分子の発現量や種類も新生児で変化していることを明らかにしました。このようなアミノ酸を輸送する分子や血管周囲環境を形成する分子の発現の違いは、出生後の脳発達・発育の維持に関わっていると考えられます。

## [展開]

今回開発した血管単離技術によって、新生児マウスの脳に関する網羅的な分子情報を効率よく得られるようになり、アミノ酸供給が脳発達・発育に関わっていることを示唆する研究結果を得ることができました。

本技術により出生後の脳毛細血管の機能変化と脳発達・発育に関する研究が加速することで、新生児のアミノ酸等の栄養状態と脳発達・発育との関係の理解が深まり、より良い脳発達に寄与することが期待されます。

図2 成体と比較した新生児脳毛細血管のタンパク質発現変化



## [用語解説]

### ※1：脳毛細血管

動脈と静脈の間の細い血管を毛細血管と呼ぶ。脳の毛細血管は他の組織の毛細血管と構造や機能が異なり、血液脳関門という特殊な機能を有している。そのため、血液中の栄養等は血液から脳に自由に行き来することはできず、脳毛細血管に発現する輸送分子によって供給される分子種や供給速度が制御されている。すなわち、脳毛細血管が脳への栄養供給をコントロールしている。

### ※2：プロテオミクス

特定試料中のタンパク質の種類と量を網羅的に計測する技術。今回は新生児と成体マウスの脳毛細血管をプロテオミクスで解析し、その網羅的なタンパク質の種類と量を比較する事によって、どのような分子の発現が新生児マウスの脳毛細血管で変化しているか解析を行った。

## (論文情報)

論文名：Development of a method for isolating brain capillaries from a single neonatal mouse brain and comparison of proteomic profiles between neonatal and adult brain capillaries

著者：Yudai Hamada, Seiryu Ogata, Takeshi Masuda, Shingo Ito, Sumio Ohtsuki

掲載誌：Fluids and Barriers of the CNS

doi：10.1186/s12987-023-00449-w

URL：https://doi.org/10.1186/s12987-023-00449-w

【お問い合わせ先】

熊本大学大学院生命科学研究部

教授 大槻 純男

電話：096-371-4323

e-mail：sohtsuki@kumamoto-u.ac.jp