



Title	The tight junction protein occludin modulates blood-brain barrier integrity and neurological function after ischemic stroke in mice
Author(s)	杉山, 慎太郎
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92891
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	杉山 慎太郎
論文題名 Title	The tight junction protein occludin modulates blood-brain barrier integrity and neurological function after ischemic stroke in mice (タイトジャンクション蛋白質オクルディンはマウスの虚血性脳卒中後の血液脳関門の完全性と神経機能を調節する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>血液脳関門 (BBB) の破綻は、脳損傷や神経障害の一因となる。脳内では、血管内皮細胞間にタイトジャンクション (TJ) と細胞間接着複合体が形成され、BBBが形成・維持されている。BBBのTJではクローディンファミリーのクローディン-5、TAMPsのオクルディン、裏打ち蛋白のZO-1が高発現している。クローディン-5は、これまで注目され、多くの研究がなされてきたが、ロックアウトにより低分子量の物質は漏出するが大分子量の物質は漏出せず、クローディン-5だけでは脳梗塞後のBBB破綻の病態を説明することが難しいと考えられる。一方で、オクルディンはTJで最初に同定された膜貫通型タンパク質であり、多くのin vitroの研究によりBBBの完全性維持におけるその重要性が示唆されているが、脳梗塞後のBBB完全性維持におけるオクルディンの役割は、in vivoでのエビデンスがなく不明な点も多い。本研究では、オクルディンロックアウトマウス (KO) を用いて、脳梗塞後の急性期から慢性期にかけてのオクルディンの動態と機能を明らかにすることを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>Photochemically induced thrombosisモデルを用いてマウスに脳梗塞を作成し、TJ蛋白の発現や、梗塞体積、BBB完全性、神経機能や血管新生について評価した。野生型マウス (WT) では、脳梗塞後にオクルディン、クローディン-5、ZO-1のmRNA発現は急性期から低下し、オクルディンと同じTAMPsファミリーのトリセルリンは脳梗塞後6時間まで維持されていたが、その後徐々に減少した。免疫蛍光染色では、脳梗塞の24時間後、オクルディンの発現が低下し、WTでもKOでもクローディン-5とZO-1の発現が低下していた。</p> <p>脳梗塞後の梗塞体積、BBB完全性、神経機能 (Grid testおよびCylinder test) を評価すると、KOでは、WTよりも梗塞体積が増大し、完全性のマーカーであるエバンスブルーの血管外漏出が増大し、また、神経機能が急性期から慢性期まで悪化し、死亡率が上昇した。なお、脳梗塞後の脳血流量に差はなかった。</p> <p>また、KOでBBB障害が重度であることから、BBBの重要な構造・機能成分であるクローディン-5とZO-1の発現量について検討すると、KOではWTよりクローディン-5とZO-1のmRNA発現量が梗塞側と非梗塞側の両方で低下し、免疫蛍光染色でも発現が低下していた。</p> <p>KOでは脳梗塞後の神経機能低下が慢性期まで続いたため、分子量10kDaのフルオレセインイソチオシアナートデキストランの血管外漏出を調べると、脳梗塞後7日後の血管外漏出がWTよりもKOで増大した。生理的な状態では、フルオロセイン、分子量4kDaのフルオレセインイソチオシアナートデキストラン、Sulfo-N-hydroxysulfosuccinimide-ビオチンの漏出についてWTとKOの間に差はなかった。</p> <p>オクルディンが細胞増殖やアポトーシスに関与していることから、脳梗塞後の血管内皮細胞におけるKi-67発現を解析したところ、KOでは血管内皮細胞におけるKi-67陽性の細胞数がWTに比べ減少していた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>オクルディンロックアウトマウスでは、クローディン-5とZO-1の発現が低下し、脳梗塞後では梗塞体積の増大と血管外漏出が増加し、急性期から慢性期に至るまでBBB障害を惹起し、血管新生も抑制されることが明らかとなり、これらが神経学的な悪化をもたらすと考えられた。</p> <p>本研究により、オクルディンは生体内で虚血性脳卒中後の急性期から慢性期にかけて重要な役割を果たすことが明らかになった。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 杉山慎太郎

	(職)	氏名	
論文審査担当者	主査	大阪大学教授	望月 秀樹
	副査	大阪大学教授	原田 彰宏
	副査	大阪大学教授	岡村 康司

論文審査の結果の要旨

血液脳関門 (BBB) の破綻は、脳損傷や神経障害の一因となる。BBBのタイトジャンクション (TJ) ではクローディンファミリーのクローディン-5, TAMPsのオクルディン, 裏打ち蛋白のZO-1が高発現している。クローディン-5は、よく研究されてきたが、単独で脳梗塞後のBBB破綻を説明することが難しい。オクルディンはTJで最初に同定された膜貫通型タンパク質であり、in vitroではBBBの完全性維持における重要性が示唆されるが、脳梗塞後のBBB完全性維持におけるオクルディンの役割は、in vivoでのエビデンスがなく不明な点も多い。本研究では、オクルディンノックアウトマウス (KO) を用いて、脳梗塞後急性期から慢性期のオクルディンの動態と機能を明らかにすることを目的とした。KOでは、クローディン-5とZO-1の発現が低下し、脳梗塞後では梗塞体積の増大と血管外漏出が増加し、急性期から慢性期に至るBBB障害を惹起し、血管新生も抑制され、これらが神経学的な悪化をもたらすと考えられた。本研究により、オクルディンは生体内で脳梗塞後の急性期から慢性期にかけて重要な役割を果たすことが明らかとなり、BBBのTJを標的とした脳梗塞後の治療の発展に貢献することが期待される。

よって博士(医学)の学位授与に値する。