

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Phenethylamine is a substrate of monoamine oxidase B in the paraventricular thalamic nucleus
別タイトル	視床室傍核のモノアミン酸化酵素Bはフェネチラミンを代謝する
作成者（著者）	小畑, 洋平
公開者	東邦大学
発行日	2022.03.16
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：船戸弘正 / タイトル：Phenethylamine is a substrate of monoamine oxidase B in the paraventricular thalamic nucleus / 著者：Youhei Obata, Mie Kubota Sakashita, Takaoki Kasahara, Masafumi Mizuno, Takahiro Nemoto, Tadafumi Kato / 掲載誌：Scientific Reports / 巻号・発行年等：12(1):17, 2022 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第1037号
学位記番号	甲第716号
学位授与年月日	2022.03.16
学位授与機関	東邦大学
DOI	10.1038/s41598 021 03885 6
その他資源識別子	<a href="https://www.nature.com/articles/s41598 021 03885 6">https://www.nature.com/articles/s41598 021 03885 6</a>
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD41776837">https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD41776837</a>

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

小畑洋平より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第716号

学位申請者 : お 小 畑 洋 平

学位論文 : Phenethylamine is a substrate of monoamine oxidase B in the paraventricular thalamic nucleus

(視床室傍核のモノアミン酸化酵素Bはフェネチラミンを代謝する)

著 者 : Youhei Obata, Mie Kubota-Sakashita, Takaoki Kasahara, Masafumi Mizuno, Takahiro Nemoto, Tadafumi Kato

公表誌 : Scientific Reports

論文内容の要旨 :

モノアミン神経伝達系は様々な脳機能や精神神経疾患に深く関連することが知られている。モノアミン神経伝達物質を分解する重要な酵素としてモノアミン酸化酵素 (MAO) がある。MAO には、MAO-A と MAO-B の二つのサブタイプがあり、それぞれ別の遺伝子によってコードされている。脳内において、MAO-B は背側縫線核や視床室傍核 (PVT) に最も高発現している。PVT は視床上部に位置する比較的小さな神経核で、側坐核、扁桃核、島皮質、内側前頭前皮質など情動機能に深く関与する脳部位に密に投射しており、動物実験においてはPVT がストレス反応、嗜癖行動、恐怖条件付け、抑うつ様行動等に重要な役割を果たすことが見出され、近年注目を集めている。一方で、PVT 自体にはモノアミン産生ニューロンは存在しない。PVT は背側縫線核のセロトニン作動性ニューロンや青斑核のノルアドレナリン作動性ニューロンからの投射は受けているものの、過去の生化学的研究からはセロトニンやノルアドレナリンを代謝するのはMAO-B ではなく MAO-A であるとされている。MAO-B はドパミンやフェネチラミン (PEA) への親和性が高いとされるが、主要なドパミン神経核である中脳腹側被蓋野からの PVT への投射は乏しく、また、PEA は微量アミンであり PVT における神経伝達物質としての作用は知られていない。したがって、PVT における MAO-B の基質は明らかでない。PVT における MAO-B の基質を同定することは、モノアミン神経伝達や PVT の機能がどのように精神神経疾患の病態に関わっているかを調べるために重要である。本研究では、CRISPR/Cas9 システムを用いて MAO-B ノックアウトマウスを作製し、PVT やその他の微小脳部位 (尾状核-被殻、側坐核、島皮質、視床下部室傍核、後頭皮質、中脳腹側被蓋野、背側縫線核) に

において、5つの基質候補であるモノアミン物質（ノルアドレナリン、ドパミン、3-メトキシチラミン、セロトニン、PEA）の濃度を測定した。PEAは脳内濃度が他のモノアミン神経伝達物質より数百倍小さいことが知られており、PVTのような微小な脳部位に限局した測定はこれまで行われたことがないが、我々はマイクロウェーブ照射による脳固定と高速液体クロマトグラフィー・質量分析装置を組み合わせることで、微小な脳部位におけるPEA測定に成功した。MAO-BノックアウトマウスのPVTでは、PEA濃度のみが顕著に増加しており、他のモノアミン物質濃度は変化がみられなかった。また、PVT以外の脳部位でも、PEAの上昇が認められた。末梢組織でのMAO-Bノックアウトの影響を除外するために、我々は脳特異的MAO-Bノックアウトマウスも作製し、同様に脳内モノアミン濃度の測定を行った。PEA濃度は脳特異的MAO-BノックアウトマウスのPVTでも上昇していたが、コントロールに対する変化率は全身MAO-Bノックアウトマウスよりも小さかった。血漿中のPEA濃度を測定したところ、全身ノックアウトマウスでは上昇がみられた一方、脳特異的ノックアウトマウスでは変化がみられなかった。過去の研究から、PEAは様々な食物に含有される他、腸内細菌でも産生されること、さらに血液脳関門を通過しやすいことが知られており、全身MAO-BノックアウトマウスにおけるPVTを含む脳内のPEA蓄積には、血中PEA濃度上昇が関与していることが示唆された。また、脳特異的ノックアウトマウスにおいては、血中PEA濃度上昇を認めない一方でPVTにPEA上昇がみられることから、PEAがPVTにおけるMAO-Bの主要な基質であることが示唆された。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 716 号	氏 名	小 畑 洋 平
学位審査担当者	主 査	船 戸 弘 正
	副 査	狩 野 修
	副 査	杉 山 篤
	副 査	中 野 裕 康
	副 査	桂 川 修 一

学位論文の審査結果の要旨 :

本研究では、フェネチラミン (PEA) が視床室傍核 (PVT) に強く発現するモノアミン酸化酵素 MAO-B の基質である可能性を示した。セロトニンやドパミンに代表されるモノアミンは様々な脳機能を制御している。モノアミンはモノアミン酸化酵素によって酸化され活性を失う。モノアミン酸化酵素には MAO-A と MAO-B の 2 つのサブタイプがある。MAO-B は PVT に強く発現している。PVT はストレス反応、依存行動、恐怖記憶、うつ様行動に関与することが知られている。PVT に MAO-B が強く発現するものの、PVT のニューロンはモノアミンを産生しないため、その意義や基質が不明であった。

申請者は MAO-B の生理的意義を明らかにするため、MAO-B の全身性欠損マウスと脳特異的欠損マウスの PVT サンプルを高速液体クロマトグラフィー、質量分析装置を用いて検討した。その結果、MAO-B の基質候補の中からフェネチラミンのみが、全身性 MAO-B 欠損マウスの PVT で増加していることが示された。フェネチラミンはモノアミン神経伝達物質よりも 100 倍以上濃度が低いため、技術的困難さから部位特異的な濃度測定は過去に報告がない。PVT 以外の脳部位でもフェネチラミンの増加が観察された。一方、脳特異的 MAO-B 欠損マウスでは PVT のみに有意なフェネチラミン増加が見られた。検討したいずれの脳部位でも、脳特異的 MAO-B 欠損マウスのフェネチラミン濃度は全身性 MAO-B 欠損マウスより大幅に低かった。全身性 MAO-B 欠損マウスでは血清中フェネチラミン濃度が野生型に比べて大きく増加しているが、脳特異的 MAO-B 欠損マウスの血清中フェネチラミン濃度は野生型と変わらなかった。これらの結果と、フェネチラミンが血液脳関門を通過できることを考慮すると、脳に存在するフェネチラミンの多くは末梢臓器由来と考えられた。脳特異的 MAO-B 欠損マウスの結果から、MAO-B が PVT 局所のフェネチラミン代謝に関与していることが示唆された。

学位審査会では、論文内容のプレゼンテーションに引き続き、審査委員による質疑応答が行われた。遺伝子改変マウス作製手法の根拠、MAO-B 基質の臨床的意義、全身性および脳特異的欠損マウスの結果の解釈、フェネチラミンの生理的意義、質量分析を用いた測定手法等について、多岐にわたる質問があり、申請者はこれらに対する的確に回答した。本研究は、脳部位ごとにフェネチラミンを測定した貴重な研究であり、さらに PVT に強発現する MAO-B の基質がフェネチラミンであることを示唆する独自性の高い研究であることから、学位に相応しい論文であると結論した。