

アルツハイマー病モデルマウスにおける  
ニューロン新生制御および記憶・行動障害に関する研究

2014

谷内 信彦

## 要旨

アルツハイマー病は、記憶障害などの認知機能障害を主な臨床症状とする進行性の神経変性疾患であり、アミロイド  $\beta$  タンパク質 ( $A\beta$ ) を主要構成成分とする老人斑の沈着、神経原線維変化、およびニューロンの脱落を病理学的な特徴としている。アルツハイマー病患者では認知機能障害の他に **Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia (BPSD)** と呼ばれる行動異常および精神症状が認められ、患者および介護者の **QOL** を大きく低下させる要因となっている。アルツハイマー病の発症機序は不明な点も多いが、脳内に蓄積した  $A\beta$  がアルツハイマー病発症の中心的な役割を果たしているとする「アミロイド仮説」が広く支持されている。ヒトを含む哺乳動物は海馬歯状回の顆粒細胞下層と側脳室外壁の脳室下帯において、一生を通してニューロン新生が起こっていることが明らかとなっている。しかし、アルツハイマー病の病態への関与については統一された見解が得られていない。そこで本研究は、家族性アルツハイマー病の原因遺伝子として同定されたアミロイド前駆体タンパク質のスウェーデン変異とプレセニン1の欠損変異を過剰発現させた **APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスを用いて、アルツハイマー病の発症に中心的な役割を果たしている  $A\beta$  の蓄積と、ニューロン新生および記憶・行動障害との関係について検討を行い、以下の新知見を得た。

第一章 **APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスを用いた海馬におけるニューロン新生に関する研究

ELISA 法を用いて脳内  $A\beta$  蓄積量を測定した結果、**APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスは加齢に伴って脳内  $A\beta$  (1-40) および  $A\beta$  (1-42) 蓄積量の増大を示した。蓄積している  $A\beta$  分子種を比較したところ、 $A\beta$  (1-42) は  $A\beta$ (1-40) と比較して高い蓄積を示した。さらに、雌性 **APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスは雄性 **APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスと比較して、高い脳内  $A\beta$  蓄積を示した。免疫組織化学により  $A\beta$  の沈着を検討した結果、5ヶ月齢 **APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスは、海馬や大脳皮質においてわずかな  $A\beta$  沈着しか観察されなかったのに対し、9ヶ月齢 **APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスは、海馬や大脳皮質において多数の  $A\beta$  沈着が観察された。少量の脳内  $A\beta$  蓄積量と海馬でのわずかな  $A\beta$  沈着を示した5ヶ月齢 **APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスと、多量の脳内  $A\beta$  蓄積量と海馬での多数の  $A\beta$  沈着を示した9ヶ月齢 **APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>** トランスジェニックマウスを用いて、海馬歯状回の顆粒細胞下層に存在する神経幹/前駆細胞のニューロン新生能を抗 **BrdU** 抗体および抗 **DCX** 抗体を用いた免疫組織化学により検討した。その結果、5ヶ

月齢では APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスと野生型マウスに BrdU 陽性細胞数および DCX 陽性細胞数に有意な差はなかったのに対し、9 ヶ月齢 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスは野生型マウスと比較して BrdU 陽性細胞数および DCX 陽性細胞数の有意な低下を示した。よって、9 ヶ月齢 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスでは海馬におけるニューロン新生が障害されていることが明らかとなった。また、APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスの海馬におけるニューロン新生の障害に雌雄差は認められなかった。以上の結果より、APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスは雌雄ともに A $\beta$  の蓄積に伴って海馬歯状回の顆粒細胞下層におけるニューロン新生が障害されることが明らかとなった。

第二章 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスを用いた二つの脳領域におけるニューロン新生制御に関する研究

9 ヶ月齢 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスを用いて、2つのニューロン新生領域である側脳室外壁の脳室下帯と海馬歯状回の顆粒細胞下層における神経幹/前駆細胞の増殖および短期的生存について抗 PCNA 抗体および抗 BrdU 抗体を用いた免疫組織化学により検討した。その結果、PCNA 陽性細胞数はいずれのニューロン新生領域においても APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスと野生型マウスで有意な差はなかった。一方、BrdU 陽性細胞数は脳室下帯で有意な差がなかったのに対し、顆粒細胞下層では APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスにおいて有意な低下を示した。PCNA はニューロン新生の増殖過程を、BrdU はニューロン新生の増殖および短期的生存過程をそれぞれ反映するマーカーであると考えられることから、9 ヶ月齢 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスの脳室下帯における神経幹/前駆細胞の増殖および短期的生存は正常であるのに対し、顆粒細胞下層における神経幹/前駆細胞の増殖は正常であるが短期的生存は障害されていることが示唆された。二つのニューロン新生領域における A $\beta$  沈着について免疫組織化学により検討した結果、9 ヶ月齢 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスの海馬では多量の A $\beta$  沈着が観察されたのに対し、側脳室周囲や線条体、脳梁では A $\beta$  沈着はほとんど観察されなかった。以上の結果より、APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスは A $\beta$  沈着に伴いニューロン新生過程のうちの短期的生存が障害されることが示唆された。

第三章 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスを用いた記憶障害および行動異常に関する研究

小動物運動解析装置を用いて自発運動量を測定した結果、5 ヶ月齢雄性 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスは野生型マウスと比較して自発運動量に有意な差はなかったが、5 ヶ月齢雌性 APPswe/PS1dE9 トランスジェニックマウスは自発運動量の亢進を示した。また、9 ヶ月齢 APPswe/PS1dE9 トランス

ジェニックマウスは雌雄ともに自発運動量の亢進を示した。ロータロッド試験により運動協調性を評価した結果、5ヶ月齢および9ヶ月齢の APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> トランスジェニックマウスは、雌雄ともに運動協調性の障害を示さなかった。モリス水迷路試験により空間記憶力を評価した結果、APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> トランスジェニックマウスの空間記憶力は雌雄ともに5ヶ月齢の時点で正常であったが、9ヶ月齢で障害が認められた。以上の結果より、APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> トランスジェニックマウスは A $\beta$  の蓄積に伴って空間記憶障害および BPSD 様の行動異常を示すことが明らかとなった。

本研究によりアルツハイマー病モデル APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> トランスジェニックマウスは、A $\beta$  の蓄積に伴ってニューロン新生の障害、空間記憶力の低下および BPSD 様の行動異常を示すことが明らかとなった。本研究の成果はアルツハイマー病の発症機序および病態の解明に寄与するものであり、新たな治療法の開発など臨床応用に結びつく有用な基礎的知見を提供するものである。