

報告書

平成16年度 丸木記念特別奨学研究費A 研究実績報告書

アルツハイマー病の進展過程における
活性化アストロサイトの関与に関する研究：
アミロイド前駆体蛋白トランスジェニックマウスを用いた解析

受賞者 森 隆（埼玉医科大学 総合医療センター 研究部）
共同研究者 吉本 信雄¹⁾，浅野 孝雄²⁾，深津 亮³⁾，野村 恭一⁴⁾

1. はじめに

アルツハイマー病(AD)は、脳の老化を背景に発症し記憶障害を中心とした臨床症状を呈する神経変性疾患である。罹患脳においては、老人斑や神経原線維変性などの特徴的な病理所見が部位選択的に認められる。ADの病態生理の全体像は依然不明であるが、アミロイドβ蛋白(Aβ)の産生と脳内異常蓄積が疾患成立の中心にあると理解されている。近年、ADの病態を進展させる重要な因子として、脳内で異常蓄積されたAβに対する炎症反応、特にグリア細胞(ミクログリア/アストロサイト)の機能・動態に関する研究に注目が集まっている。我々は、これまで脳虚血に起因する梗塞巣周辺でのアストロサイトの活性化とサイトカインネットワークの異常亢進が、遷延性の脳梗塞体積増大と神経症状の増悪に関与することを明らかにしてきた。また、AD病態の重要な危険因子としても知られるアポリポ蛋白EのE4アイソフォームを保有することにより、脳虚血においても梗塞巣と神経症状の増悪をきたすことを、遺伝子改変動物を用いて明らかにしてきた。さらに、そのE4アイソフォーム特異的な神経細胞の脆弱性に、アストロサイトの活性化の異常亢進が関与していることを明らかにしてきた。即ち、アストロサイトの活性化がADと脳梗塞の病態進展の共通機序として、脳損傷の増悪に関与する可能性を世界に先駆け提示してきた。老年性痴呆は、高齢化が急速に進行している我が国においては極めて重要な社会問題であるが、その主要原因であるADと脳血管性痴呆

との間に共通して存在すると想定される病因、即ち、アストロサイトの活性化の役割をさらに追究することにより、そのいずれに対しても有効な新規治療薬の開発が可能になると期待される。本研究は、ADと脳梗塞の両者におけるアストロサイトの活性化の役割を、神経病理学および生化学的見地から探究し、既に部分的に薬効が確認されている新規薬剤の臨床応用を目指すtranslational researchの展開を目的として行った。

以下に記載する2-4の結果の概要は、ADの病態モデル動物として広く認知されているアミロイド前駆体蛋白トランスジェニックマウス(APPSWE, line 2576)に対して、arundic acid (ONO-2506; 10 mg/10 mL/kg), 塩酸ドネペジル(1 mg/10 mL/kg), vehicle(0.1 vol% Tween 80水溶液 10 mL/kg)のいずれかを24時間毎に12ヶ月齢から18ヶ月齢まで6ヶ月間にわたり経口投与し、1ヶ月間の休薬の後にその効果をWild-typeマウスを含めて比較したものである。Arundic acid (ONO-2506)はアストロサイト特異的蛋白(S100B)の産生を抑制し、アストロサイトの活性化を制御することが知られている新規薬剤である。本研究では、対照薬としてADの病態改善薬として本邦においても臨床応用されている塩酸ドネペジルを用いた。

2. アミロイド前駆体蛋白トランスジェニックマウス(APPSWE)の学習障害に対するarundic acid (ONO-2506)の効果

投与開始後の各月1回の頻度で6ヶ月間にわたり施行した水迷路試験における逃避潜時の結果をFig. 1に示す。APPSWE (2576) Vehicle群は、Wild群と比較してpre day 1そして投与開始1カ月後から休薬開始1カ月後までの各セッションにおいて、逃避潜時が有意

1) 埼玉医科大学 総合医療センター 心臓内科
2) 埼玉医科大学 総合医療センター 研究部・脳神経外科
3) 埼玉医科大学 総合医療センター 神経精神科
4) 埼玉医科大学 総合医療センター 神経内科

に延長した(加齢と共に発現し進行するADモデルマウス特有の空間認知障害を示した). APPSWE (2576) ONO-2506 群では, 投与開始1から6カ月後の各セッションにおいて, 逃避潜時がAPPSWE (2576) Vehicle 群と比較して有意に短縮した(ONO-2506の投与により空間認知障害が軽減された). 興味深いことに, 休薬開始1カ月後のセッションにおいてもその効果が維持されていた. 一方, APPSWE (2576) 塩酸ドネペジル群では, 投与開始3そして4カ月後の各セッションにおいてのみ, 逃避潜時がAPPSWE (2576) Vehicle 群と比較して有意に短縮したものの, 投与開始5そして6カ月後, さらに休薬後の各セッションでは, 逃避潜時に有意な変化は認められなかった(薬理効果が投与開始5ヶ月後から失われた).

3. アミロイド前駆体蛋白トランスジェニックマウス (APPSWE) の $A\beta$ 斑形成に対する arundic acid (ONO-2506) の効果

各薬剤投与による $A\beta$ 斑占有率の結果を Fig. 2 に示した. Wild 群では, $A\beta$ 斑は認められなかった. $A\beta$ 斑占有率は cingulate cortex, entorhinal cortex, hippocampus の3領域全てにおいて, Wild 群に比べ APPSWE (2576) Vehicle 群で有意に増加した. APPSWE (2576) ONO-2506 群そして APPSWE (2576) 塩酸ドネペジル群では, いずれの領域においても $A\beta$ 斑占有率が APPSWE (2576) Vehicle 群に比べ有意に減少した. その効果は, APPSWE (2576) ONO-2506 群の方が優っていた.

次に, 観察された全ての $A\beta$ 斑を ①長径 $25\ \mu\text{m}$ 未満, ② $25\ \mu\text{m}$ 以上 $50\ \mu\text{m}$ 未満, ③ $50\ \mu\text{m}$ 以上の3グループに分類し, $A\beta$ 斑占有率の低下がどのタイプの $A\beta$ 斑に有効に作用したことによるものかを検討した. その結果, APPSWE (2576) ONO-2506 群では, いずれの領域においても3分類された全てのタイプの $A\beta$ 斑の数が有意に減少した. 特に, $50\ \mu\text{m}$ 以上の $A\beta$ 斑の数を有効に減少させる効果を示した. このことは, ONO-2506 が $A\beta$ 斑の maturation を抑制する効果があることを示している. 興味深いことに, APPSWE (2576) 塩酸ドネペジル群でも, entorhinal cortex の長径 $25\ \mu\text{m}$ 未満に分類される $A\beta$ 斑の数を除いて, 他の項目で有意に減少した.

4. アミロイド前駆体蛋白トランスジェニックマウス (APPSWE) の $A\beta$ 斑周囲グリーシスに対する arundic acid (ONO-2506) の効果

各薬剤投与による GFAP および S100 占有率の結果を Fig. 3, 4 に示した. GFAP および S100 占有率は, cingulate cortex, entorhinal cortex, hippocampus の3領域全てにおいて, Wild 群に比べ APPSWE (2576) Vehicle 群で有意に増加した. APPSWE (2576)

ONO-2506 群および APPSWE (2576) 塩酸ドネペジル群では, いずれの領域においても APPSWE (2576) Vehicle 群に比べ有意に減少した.

各薬剤投与による Iba-1 占有率は, cingulate cortex, entorhinal cortex, hippocampus の3領域全てにおいて, Wild 群に比べ APPSWE (2576) Vehicle 群で有意に増加した. APPSWE (2576) ONO-2506 群および APPSWE (2576) 塩酸ドネペジル群では, いずれの領域においても APPSWE (2576) Vehicle 群に比べ有意に減少した. その効果は, APPSWE (2576) ONO-2506 群の方が優っていた.

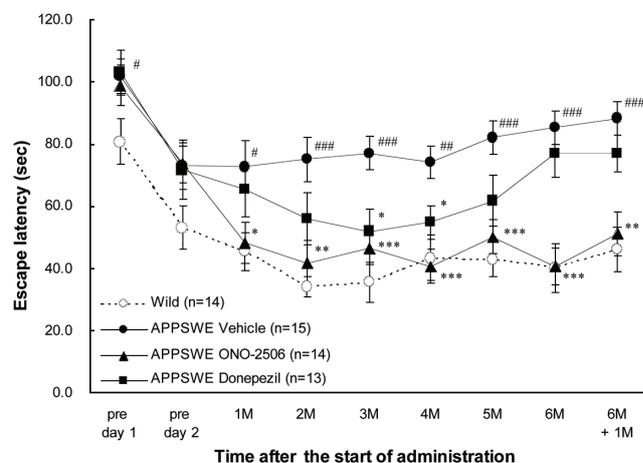


Fig. 1. Effects of ONO-2506 on the escape latency. Data are expressed as the mean \pm standard errors, and the number of animals used is indicated within parenthesis. Differences with $p < 0.05$ (#), $p < 0.01$ (##), and $p < 0.001$ (###) were significant when compared with the wild group (Wilcoxon rank sum test). Differences with $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), and $p < 0.001$ (***) were compared with the APPSWE (2576) vehicle group (Wilcoxon rank sum test).

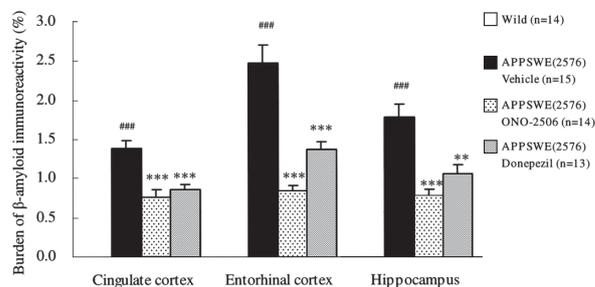


Fig. 2. Effects of ONO-2506 on the burden of β -amyloid immunoreactivity. Data are expressed as the mean \pm standard errors, and the number of animals used is indicated within parenthesis. Differences with $p < 0.001$ (###) were significant when compared with the wild group, while differences with $p < 0.01$ (**) and $p < 0.001$ (***) were compared with the APPSWE (2576) vehicle group (Wilcoxon rank sum test).

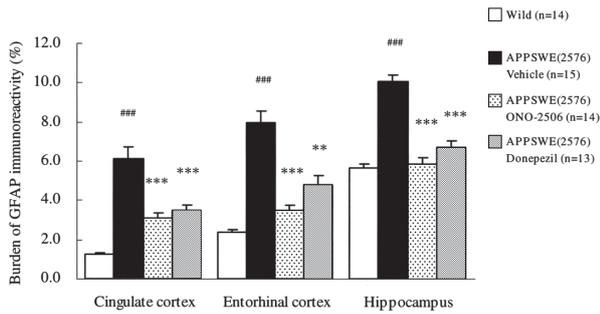


Fig. 3. Effects of ONO-2506 on the burden of GFAP immunoreactivity. Data are expressed as the mean \pm standard errors, and the number of animals used is indicated within parenthesis. Differences with $p < 0.001$ (###) were significant when compared with the wild group, while differences with $p < 0.01$ (**) and $p < 0.001$ (***) were compared with the APPSWE (2576) vehicle group (Wilcoxon rank sum test).

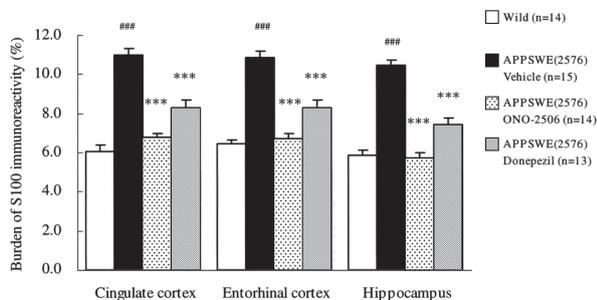


Fig. 4. Effects of ONO-2506 on the burden of S100 immunoreactivity. Data are expressed as the mean \pm standard errors, and the number of animals used is indicated within parenthesis. Differences with $p < 0.001$ (###) were significant when compared with the wild group, while differences with $p < 0.001$ (***) were compared with the APPSWE (2576) vehicle group (Wilcoxon rank sum test).

おわりに

これまで、AD 罹患者に対するアセチルコリンエステラーゼ阻害剤（塩酸ドネペジル）あるいは非ステロイド系抗炎症剤（イブプロフェン）の有効性が報告され、その一部は既に臨床応用されている。さらに、世界の研究グループが、新たなメカニズムからADに対する治療法を模索している。しかし、従来の研究はAD病態のみを対象としていることから、ADと脳血管性痴呆に共通する病態形成機序が存在するという観点が欠落していた。本研究の成果は、ADと脳血管性痴呆等の老人性痴呆のみならず、頭部外傷、てんかん、ダウン症、退行性脳病変を含む痴呆全体を対象とする画期的な治療法への展開が期待される。

謝 辞

本研究は、平成16年度丸木記念特別奨学研究費Aおよび日本学術振興会研究費補助金(C)(18500279)により行われた。研究の一部は、米国南フロリダ大医学部 精神神経科 Jun Tan 博士、エール大学 医学部 免疫学教室 Terrence Town 博士との国際共同研究として行われた。

文 献

Takashi Mori, Terrence Town, Jun Tan, Nobumichi Yada, Yuko Horikoshi, Junki Yamamoto, Taiji Shimoda, Yoshihisa Kamanaka, Narito Tateishi, Takao Asano. Arundic acid ameliorates cerebral amyloidosis and gliosis in Alzheimer transgenic mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006;318(2):571-8.