

課題番号 66

## 老化・アルツハイマー病モデル動物における脳神経形態変化と 認知機能の解析

### [1] 組織

代表者：末永 叔子  
(東京福祉大学大学院心理学部)  
対応者：領家 梨恵  
(東北大学加齢医学研究所)  
分担者：亀谷 秀樹  
(埼玉工業大学人間社会学部)

研究費：物件費 14 万 8 千円，旅費 9 万 9 千円

### [2] 研究経過

医療技術の発展とともに平均寿命は伸びる傾向にある。この高齢化社会では高齢者が健康で自立した生活を送ることが重要となってくる。高齢者の生活の質を維持するためには、身体的健康を維持するのみならず認知機能の低下をいかに防ぐかが問題となる。老年認知症の中でもアルツハイマー病 (AD) 者の割合はもっとも多いが AD の根本的な治療法は現在までのところ見つかっておらず、新規な治療法の開発が望まれている。

AD 患者の脳はアミロイド  $\beta$  (amyloid  $\beta$ 、以降  $A\beta$ ) が多く蓄積し、特に大脳基底核から海馬や大脳皮質などに投射するアセチルコリン神経系の機能不全が報告されている。この機能不全が認知機能障害を生じさせていると推測されており、高度 AD 患者は脳全体に萎縮が生じている。しかし、AD によって生じる脳神経の形態変化の程度と認知機能低下の関連には不明な部分が多い。そのため、本研究では老化・AD モデル動物の脳形態変化と認知機能低下に関する基礎的データを収集することを目的とする。

本年度上半期には主に E メールを用いて研究代表者、加齢研対応者及び分担者と意見交換し、実験デザインを作成した。用いる動物は、入手のしやすさと認知機能課題の成績が安定して計測できることを踏まえてラットを選択した。ラットを使用した AD モデルの作成法はいくつか存在するが、本年度は  $A\beta$  を脳に投与する  $A\beta$  モデルを使用することとした。認知機能課題には、物体再認課題を用いた。再認

課題とはラットが既知の物体よりも、新奇な物体に対してより長く探索行動を示すという生得的な行動傾向を利用した課題である。本研究ではオープンフィールド (以下 OF) 内に物体を提示して課題を行うこととした。課題は物体を最初に提示する見本期と OF から隔離される遅延期、テスト期から構成されている。見本期では同一の 2 つの物体を OF に配置して探索させた。テスト期では見本期に示していない新奇物体と、見本期に提示した既知の物体の 2 つを提示した。ラットが見本期に提示された物体を覚えていれば、新奇な物体をより長く探索する。それぞれの物体に対する探索時間を計測し、新奇物体の弁別率を算出して記憶の指標とした。この課題では非空間的な記憶能力を測定することができる。また見本期とテスト期の間の遅延時間を調整することで、短期記憶と長期記憶の両方を測定可能である。そこで本研究では短期の遅延時間を挿入した場合と長期の遅延時間を挿入した場合の成績を測定することとした。

Voxel-Based-Morphometry (VBM)法による全脳を対象とした脳形態の画像解析を行うため、各課題の後に小動物用 7T-MRI を用いた T2 強調形態 MRI 画像を麻酔下にて取得した。AD モデル動物の脳形態変化を明らかにし、認知機能課題成績との関連を調べる。

さらに  $A\beta$  処置が認知機能および脳形態に及ぼす効果を長期的に検討するため、 $A\beta$  処置から数回に渡って行動課題および MRI 撮像を行う。

以上の実験デザインを元に、7 月から 1 回目の実験を行なった。この実験の目的は、AD モデル動物の作成と、認知機能課題手続きの確立である。そのため MRI 撮像時に使用する麻酔処置が行動実験に影響することを避けるため MRI は行わず、複数の条件下での行動観察を行ない、その結果を比較することとした。この実験結果から短期および長期物体再認のそれぞれの手続きを決定し、12 月より 2 回目の実験を開始した。2 回目の実験ではモデル動物に認知機能障害が生じているのかを測定することと、同動物の脳の MRI 画像を撮像し、認知機能変化と脳の形態的変化の関連を調べることを目的とした。

行動実験の 2,3 日あとに MRI 撮像を行い、各実験間には約 3 週間の間を空けた。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度得られた成果を以下に示す。

第一に、OF を用いた物体再認課題の手続きが確立できた。本認知機能課題はラットの生得的な行動傾向を利用しているため事前の訓練が必要なく、短時間でデータを収集することができる。ラットに与えるストレスも比較的少なく、非常に汎用性のある課題と言える。

第二に脳室内に A $\beta$  を投与したモデル動物の認知機能の特徴を明らかにすることができた。統制群のラットは短期および長期物体再認課題の両方において新奇物体に対し、有意に長い探索行動を示したのに対し、A $\beta$  群は新奇物体と既知の物体を弁別していなかった(Fig.1)。このことから A $\beta$  処置により短期記憶障害および長期記憶障害の両方が生じていたと推測される。AD 患者では問題解決能力の低下や視空間知覚の変化など、さまざまな認知機能障害が生じるが、記憶障害は AD の初期症状であると考えられている。AD 患者の脳に蓄積していることが知られている A $\beta$  を投与したラットには少なくとも AD 患者にみられるような記憶障害が生じることが示唆された。

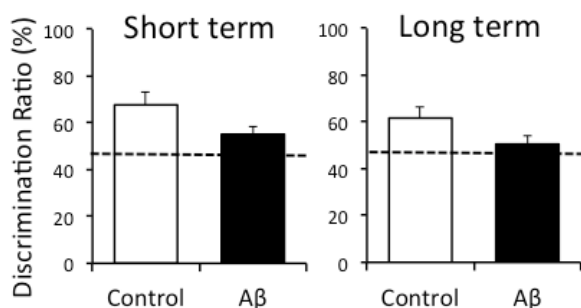


Fig.1 物体再認課題における弁別率(平均値 $\pm$ SEM)。左は短期の遅延時間を挟んだ時、右は長期の遅延時間を挟んだ時の値。50%(点線)よりも数値が高いと新奇物体を既知の物体よりも長く探索していたことを示す。

第三点として、VBM 解析し認知機能課題との関連を検討した。その結果、A $\beta$  投与 3 週間後の再認課題の成績(弁別率)と灰白質体積に中程度の正の相関( $r=0.411$ )が、課題成績と脳室体積間に負の相関( $r=-0.448$ )がみられた。無相関検定の結果、成績と灰白質体積には有意差はなく( $p=0.128$ )、成績と脳室体積に有意傾向がみられるにとどまった( $p=0.094$ )。通常 MRI を用いた VBM 解析には各群 16 匹程度の被験体を用いる。今回は統制群 7 匹、A $\beta$  群 8 匹で実験を行っており、より信頼性のある結果を得るために被験体数を増やす必要があると

考えられる。

さらに本研究では行動実験、VBM ともに A $\beta$  処置から長期間に渡ってその影響を観察していることも特徴のひとつといえる。AD のモデルとして A $\beta$  を投与した動物を用いた研究はいくつかあるが、長期的に A $\beta$  の影響を検討した研究は少なく、投与された A $\beta$  の動向には不明な点が多い、この点についても新たな知見をもたらすと考えられる。現在までに 3 回の行動観察および VBM 解析を行っている。上記の結果は A $\beta$  投与後 1 回目の行動実験および VBM の結果を示しており、現在その後の実験結果について詳細な解析を行っている。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本研究では AD モデル動物として A $\beta$  を脳室に投与したラットを用い、認知機能障害が生じていることを明らかにした。また MRI を用いた VBM 解析を行い、認知機能課題成績と脳形態の間に相関傾向があることが示唆された。研究代表者は科学研究費を受け AD モデル動物の認知機能低下に対する幹細胞移植の効果について研究を行っており、幹細胞に一定の機能回復効果があることを発見した。しかし移植された幹細胞が AD モデル動物の脳形態にどのような影響を与えているかは不明である。本研究で得られた基礎的データをもとに、将来的には AD モデル動物に対する幹細胞移植が脳形態に及ぼす影響を検討することを目標としている。また幹細胞移植の技術的アドバイスを海外の研究者から得ており、本研究を通じ国内外の研究者との交流が活性化した。

### [4] 成果資料

今年度の成果は現段階では未発表である。