

課題番号 56

新規認知症モデルマウスの行動バッテリー試験解析

[1] 組織

代表者：今野 雅允

(大阪大学大学院・医学系研究科・先進薬物療法開発学)

対応者：領家 梨恵

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

石井 秀始 (大阪大学・大学院医学系研究科・疾患データサイエンス学)

研究費：物件費 20 万円

[2] 研究経過

我々は新規認知症モデルマウスの開発に成功し、認知症発症の新たなメカニズムを解明した。細胞の解糖系に関わる酵素ピルビン酸キナーゼ(PKM)は選択的スプライシングにより PKM1 型、PKM2 型を取ることが知られている。PKM1 型がメインの場合、細胞は好気性代謝を行い、グルコースは解糖系で代謝された後、TCA サイクル、電子伝達系へと流れる。一方で PKM2 型がメインの場合、グルコースは乳酸へと代謝され嫌気性呼吸を行うことが知られている。我々は PKM2 型の酵素を発現する細胞は嫌気性呼吸を行うだけでなく、認知症の原因の一つとして考えられている ω 6 脂肪酸の代謝が亢進することを見出した (Regenerative Therapy 2015)。PKM2 ノックイン (PKM2KI) マウスを作成したところ約 10 週で Y-maze のスコア低下がみられ、認知症を発症していることを見出した。PKM のスプライシングは HnRNPA1、HnRNPA2/B1、PTBP1 のタンパク質コンプレックスにより引き起こされる。これらスプライシングファクターの発現量が少ない場合、PKM は PKM1 型に、多い場合は PKM2 型にスプライシングされることが知られている。世界的に有名な認知症の解析研究として知られる久山町研究により得られたヒト脳を用いた網羅的遺伝子発現解析のデータを再解析してみると PKM 自体の発現は変化していないものの、PKM のスプライシングファクターである HnRNPA1、HnRNPA2/B1、PTBP1 の発現は認知症

患者の海馬領域において有意に発現亢進していることが明らかとなった。しかし、それらの発現がマウスの行動に及ぼす影響は明らかになっていない。

そこで、本共同研究では、老齢 PKM2KI マウスを用いて、認知機能の変化を検討する行動試験を複数組み合わせて測定することとした。

本実験では、老齢 PKM2KI マウスと、対照群として成年野生型 (C57/BL6) マウスを用いた。雌雄の両方を用いた。

基礎データとして神経学的スクリーニングを実施した。洞毛刺激、耳介刺激や上肢筋力の測定を行った。情動または認知機能の測定には、オープンフィールド課題、自発的物体再認課題、自発的交替反応 Y-maze 課題、強制選択 Y-maze 課題および受動的回避学習課題を用いた。

以下、研究打ち合わせ等の開催状況を記す。メールにて研究計画の打ち合わせを行った。PKM2KI マウスを加齢医学研究所へ移送するため、MTA 締結を行った。2020 年 9 月に PKM2KI マウスを加齢医学研究所へ移送した。同月より、行動バッテリー試験を開始した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

神経学的スクリーニングの結果、握力測定において、PKM2KI マウスは雌雄ともに握力の低下が認められた。PKM2KI により上肢の筋力低下が高進していることが示唆された。ほかの神経学的スクリーニングに差は見られなかった。

オープンフィールド課題は、上部が解放された箱の中でマウスを自由に行動させる。活動量、探索行動および不安様行動を測定する。雄マウスにおいて、老齢 PKM2KI マウスは成年野生型マウスよりも立ち上がり反応低下がみられた ($t(5) = 2.58, p < .05$)。総移動距離に差はなかった。PKM2KI マウスに探索様行動の低下が生じたと考えられる。雌マウスに群間差はなかった。自発的新奇物体再認課題は、オープンフィールド上に置かれた物体を記憶していたかを調べる物体記憶課題である。はじめに同一物体を二つ配置する。遅延時間をおいてから、マウスに物体を再び提示するが、二つのうち片方は見たことのない物体に置き換え

られている。マウスが新奇なものを探索する生得的特性を利用する課題である。実験の結果、統計的有意差はみとめられなかったものの、雄において、PKM2KIマウスの成績低下傾向がみられた。被験体数を増やすことにより結果の解釈を明確にすることができると期待される。受動的回避学習課題は、暗い箱での電撃を提示する嫌悪学習である。本来、マウスは明るい部屋から暗い部屋に逃げるが、暗い部屋での嫌悪経験を記憶していると暗い部屋に入ることを避けるようになる。受動的回避学習課題の結果、雌雄ともにPKM2KIマウスは嫌悪記憶学習の成績低下が認められた(図1)。

支持するものであり、大きな成果に結びつく発展性があると考えられる。

[4] 成果資料

今年度の成果は未発表である。

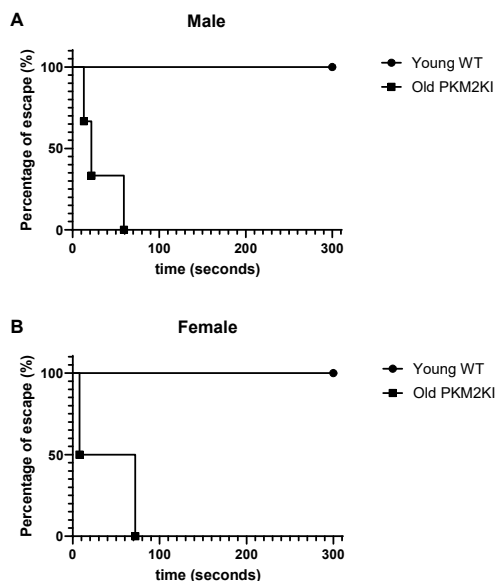


図1、受動的回避学習課題について、雄(A)および雌(B)マウスの受動的回避学習テストにおける回避成功回数の率を時間毎(最大300秒)にした。

これらの結果から、PKM2型の増加は、筋力の低下を引き起こす可能性が示唆された。そして、雄マウスにおいて、筋力の低下は立ち上がり行動に影響を及ぼすことで、探索行動を低下させているかもしれない。また、PKM2型増加により、嫌悪性長期記憶の低下が示唆された。先行研究におけるY-maze課題のスコア低下と一致する結果となった。本共同研究では、被験体数の関係から、結果の解釈に慎重になる必要がある。被験体数を増やすことにより、より明確な結果が得られると期待される。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外若手研究者間のプロジェクトである。若手研究者による交流が増加するきっかけとなり、活発な議論が交わされた。本共同研究で明らかとなったPKM2型の酵素発現増加が認知機能に及ぼす影響は、今後の認知機能低下症状改善の糸口となることが期待される。認知症に対する新しいアプローチを