

課題番号 23

老齡マウスを用いたオートファジー機能低下の病態解明と MRI 位相差強調法 (PADRE) によるアルツハイマー病の超早期画像診断法の基礎的研究

[1] 組織

代表者：米田 哲也

(熊本大学大学院生命科学研究部 医用理工学)

対応者：

舘脇 康子、瀧 靖之、山形 仁

(東北大学加齢医学研究所)

領家 梨恵

(新潟医療福祉大学 心理健康学科)

関根 弘樹

(東北大学大学院医学系研究科 医科学分野)

研究費：物件費 13 万円

[2] 研究経過

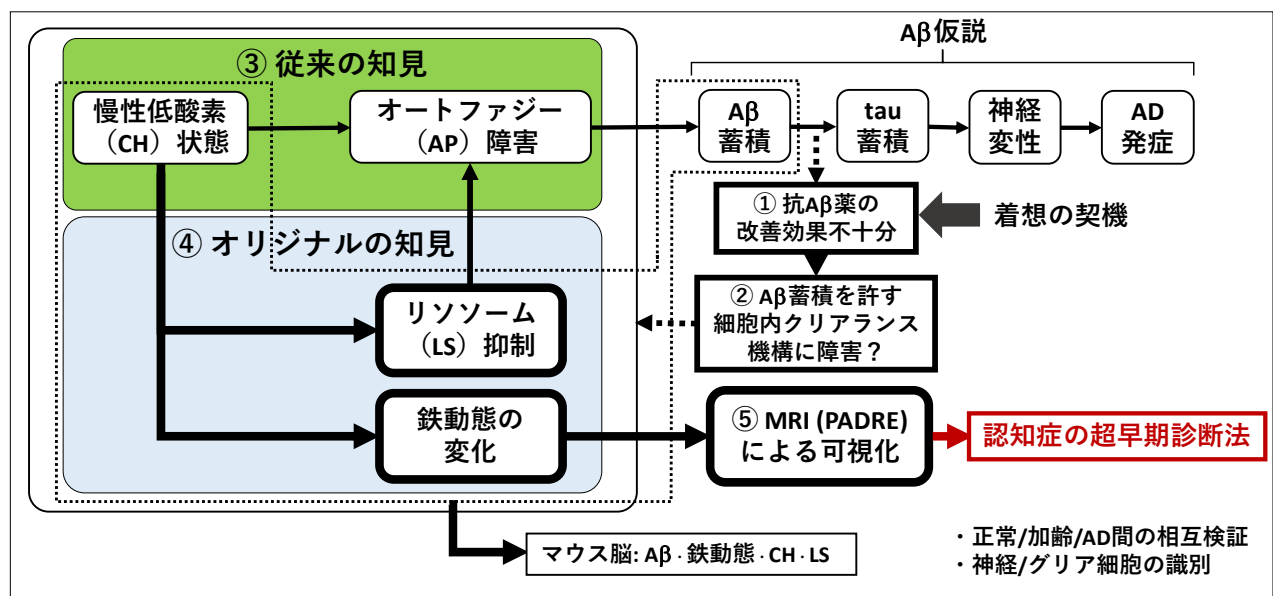
認知症の約 7 割を占めるアルツハイマー病(AD)の原因物質とされるアミロイドβ (Aβ)の標的治療薬の効果が不十分であることが判明し、Aβ蓄積の上流となる病態の解明と進行抑制が急務となった。AD 脳には慢性低酸素状態が生じ、細胞内クリアランス機構のオートファジーに障害がある。加齢研所内の遺伝子発現制御分野において、ある細胞種で慢性低酸素状態が、オートファジーにおける分解機能を担うリソソーム機能を抑制し、細胞内の鉄イオン動態を有意に変化させることが分かり、AD 脳の慢性低酸素状態がリソソ

ーム抑制を介して Aβ蓄積を促進するという仮説を立てた。本研究は、リソソーム抑制が AD 脳の神経細胞とその機能を支えるグリア細胞に生じること、及び鉄イオン動態を可視化する MRI 位相情報を用いた位相差強調画像 (PADRE) が慢性低酸素状態を反映していることをマウス脳により検証し、AD の超早期診断法の基礎検討を行うことを目的とする。

以下、研究活動状況の概要を時間順に記す。尚、研究打ち合わせや実験については加齢医学研究所にて実施された。

■令和 5 年 2 月 (in vivo 実験系 (画像))

- 米田より提供する PADRE に関わる機能についての理解を深めるために、PADRE の方法論やその実現方法を説明した。(舘脇、瀧、山形)
- 上記 PADRE 機能を提供することに当たっての画像データの具体的なフォーマットや入出力仕様について議論し、決定した。(舘脇、山形)
- 応用脳科学研究分野の小動物用 7T MRI (以下、マウス用 MRI と記す) を利用してマウス脳画像を取得する準備として、PADRE 用のマルチスライス・マルチエコー T2*強調画像や脳組織形態画像の撮像プロトコルを、実際のマウス用 MRI を用いて検討し、決定した。(舘脇、山形、領家)



■令和5年7月 (in vivo 実験系 (画像) および in vitro 実験系 (組織/細胞))

- ・対応者側がマウス用MRIを用いて実際のマウス脳のMRI撮像を行うこと、撮像後のマウス脳の脳固定から東北大学医学部の実験動物病理プラットフォームへの病理切片作成の依頼を行うことの実験手順を確認する目的で、老齢マウスとその対照群である若齢マウスのそれぞれ3匹について、MRI実験に関して指導を実施した。(舘脇、山形、領家)

■令和6年1月 (in vitro 実験系 (組織/細胞))

- ・マウスの新生児脳から神経細胞やグリア細胞を低酸素下で培養し、鉄動態とリソソーム関連因子を観測する実験計画を策定した。(関根、舘脇、山形、実験協力者)

■令和6年2～3月 (in vitro 実験系 (組織/細胞))

- ・上記の実験計画に基づき、まず、サンプルとして一つのマウス新生児の生成から育成を行い、その新生児脳の神経細胞やグリア細胞を低酸素下で培養し、鉄動態やリソソーム関連因子を観測する試みを行った。(関根、実験協力者)
- ・低酸素培養の期間を長期間にするなど実験条件を変えて上記の観測を試みた。(関根、実験協力者)

■令和6年3月 (in vivo 実験系 (画像))

- ・若齢マウス、中年齢マウス、老齢マウス、およびADマウスの4群(それぞれ10匹)を、前記令和5年7月に決定したMRI撮像プロトコルを用いて撮像を実施した。(舘脇、山形、領家)
- ・この実験においても、米田が撮像されたMRI画像のレビューなどを実施した。
- ・上記の4群の全ての脳固定と実験動物病理プラットフォームへの病理切片作成の依頼までを完了した。(舘脇、山形、領家)

今年度は、R5年度に収集したマウスの脳検体に対して下記の検討を行った。

・病理学的検討

アミロイドβ、および鉄染色を実施し、光学顕微鏡にてこれらの共局在を調べるために観察を行った。ベールンブルーでの鉄染色にて明らかな染色性が見られず、原因究明のために、蛍光視野での観察、凍結標本での検討などのさらなる実験を行った。しかし、期待した鉄染色が得られず、試薬をかえたりするなど、継続課題となっている。

・画像の検討

In vivo で撮像したMRIを解析したところ、撮像装置や検体の動きによる画像劣化があり、定量解析は困難と判断された。今後は、摘出脳による画像収集を予定する。

[3] 成果

- ・ in vivo 実験系 (画像) の取得したデータ解析を実施した。病理、画像双方にて問題点が明らかとなり、次年度はこれを解決してデータ収集を行う。

(3-1) 研究成果

特記なし

(3-2) 波及効果と発展性など

MRI画像上に生じる信号変化と病理とを直接比較することで、信号変化の起因する病態を明らかにすることができ、新規画像法の方法論の確立やエビデンス構築に寄与する。

[4] 成果資料

なし