

<研究課題> アルツハイマー病に対する
脳内アミリン受容体阻害剤の効果

代表研究者 山口東京理科大学共通教育センター 准教授 木村 良一
共同研究者 京都大学大学院医学系研究科 非常勤講師 井上 明男
山口東京理科大学共通教育センター 講師 黒飛 紀美
山口東京理科大学工学研究科 講師 佐伯 政俊
山口東京理科大学工学研究科 修士課程 2 年 座安 瑞希

【まとめ】

糖尿病はアルツハイマー病との関連が注目され、主にインシュリンに関する研究が多い。しかしながら本研究では視点を大きく変え、アミリンという物質に注目した。アミリン受容体は脳内に広く分布し、アミリンとアルツハイマー病の病因とされるアミロイドベータ (A β) との両方をリガントとし、認知機能を妨げる。本研究では脳内アミリン受容体の阻害剤が海馬由来の短期記憶を改善するかを調査した。

1. 研究の目的

アルツハイマー病は糖尿病患者の罹患率が高く、その原因が広く研究されているが未だ明らかではない。本研究では二型糖尿病患者の膵ランゲルハンス島から最初に抽出されたアミリンという物質に注目した。これまでの研究で我々は、Nanomolar レベルの低濃度の A β が、脳内アミリン受容体を通して、直接海馬の機能を妨げるという結果を得た (*J Neurosci.* 2012)。それは、A β の細胞毒性と認知機能障害において、その治療の標的としてアミリン受容体が有力な候補であることを示している。次の段階として、個体レベルでのアルツハイマー病に対する脳内アミリン受容体シグナルの影響を明らかにしたい。まずは脳内アミリン受容体の阻害剤が、A β 由来の短期記憶障害を改善するかどうかを調べた。試薬やペプチドは直接脳内へ注入する大槽注入法を用い、認知機能計測は Y 迷路

試験を採用した。

本研究はアルツハイマー病と生活習慣病とを、アミリンという物質で結びつけた画期的な研究である。その全貌を明らかにし創薬に繋げることで、人類のアルツハイマー病克服に大きく寄与する。

2. 研究方法と経過

2-1 大槽注入法

アミリン、A β 、アミリン受容体阻害剤 AC253 のペプチドは分子が大きく、血液脳関門も通らないため、大槽注入法を用いて脳内に直接導入した。針先を鋭角に曲げた注射器を用い (図 1 AB)、脳内に 0.01 ml だけ注入した (図 1 C)。脳圧が元に戻り全体にペプチドが行き渡るまで、30 分以上の間隔を空け、行動実験を行った。

2-2 Y 迷路実験

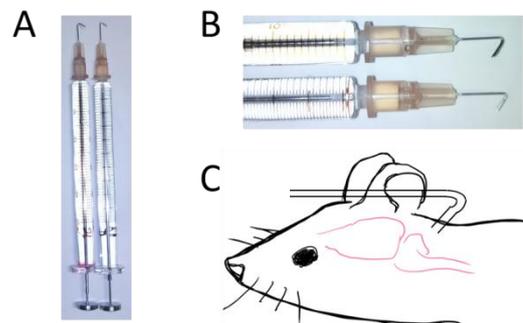


図 1 大槽注入法

認知機能は Y 迷路実験によって評価した。Y 迷路実験装置は購入予定であったが、予算削減のため手作りした。形状は図 2 の通りであり、3 方のアームは違いが無いように作られている。実験では各アームに①

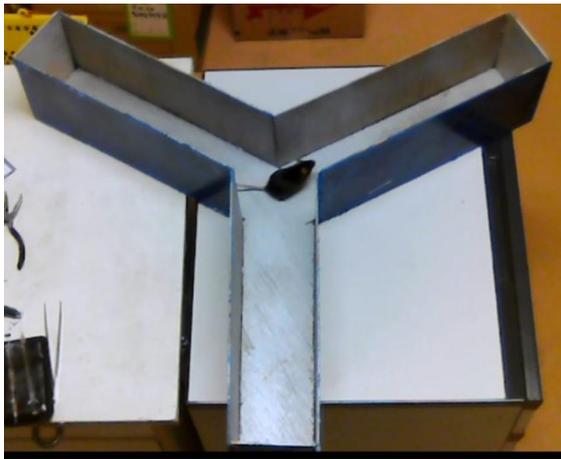


図2 Y迷路実験装置

②③と番号を付け、装置の真ん中に置かれたマウスがどのアームに探索に行ったかを記録した。マウスのアクティビティを示す何回アームに探索を行ったか（アーム侵入回数）は各群において変わらないことを確認したうえで、マウスが直近に探索したアームではないアームを選択した回数（アーム選択正答率）を調べた。例えば①→②と探索して中央に戻ってきたマウスは③のアームを探索しに行くのが正解で、もし①のアームに侵入したのならば、①を探索したのを忘れていたことになり不正解となる。よってアーム選択正答率が高ければ高いほど、認知機能が高いと判断した。

2-3 遺伝子改変モデルマウス

アルツハイマー病モデルマウスである5XFAD マウスを購入、実験予定であったが、予算削減のため実現しなかった。

3. 研究の成果

3-1 スコポラミンの効果

大槽注入法によって脳全体に薬剤が広がり、特に中枢の海馬の短期記憶が低下することを確認するため、スコポラミンの実験を行った。PBS もしくは 0.05 mM のスコポラミンを 0.01 ml 脳内に注入し、30-60 分後に Y 迷路試験を行って認知機能を評価した (図 3A)。アーム侵入回数は PBS 注入群もスコポラミン注入群も差は無かったが、アーム選択正答率は PBS 注入群に対

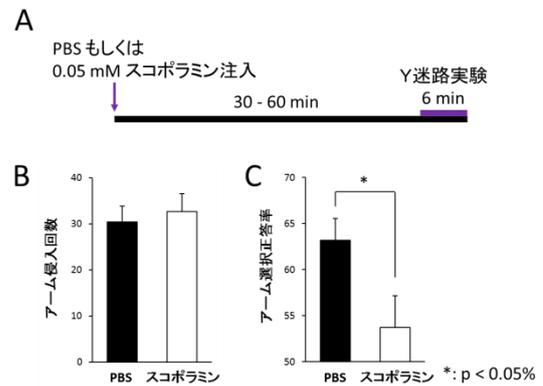


図3 Y迷路実験におけるスコポラミンの効果

して、スコポラミン注入群が有意に低下した (図 3 BC)。大槽注入法による導入が、本実験でも有用であることが示された。

3-2 アミリンの効果

スコポラミンの実験と同様にして、アミリンが海馬由来の短期記憶を低下させるかを実験した (図 4A)。アミリンはペプチドであるため、注入濃度を 0.1 mM に上げた。アーム侵入回数は PBS 注入群もアミリン注入群も差は無い傾向であったが、アーム選択正答率は PBS 注入群に対して、スコポラミン注入群が低い傾向であった (図 4 BC)。各群 5 匹ずつの結果であるので、論文による公表までには引数を増やし、統計的に有意かどうかをも示す予定である。

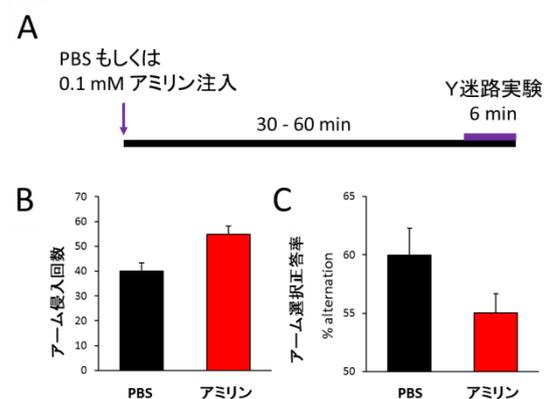


図4 Y迷路実験におけるアミリンの効果

3-3 アミリン受容体阻害剤の効果

アミリンによる海馬由来の短期記憶低下に対するアミリン受容体阻害剤 AC253 の効果を調べた (図 5A)。PBS もしくは 0.5 mM の AC253 を 0.01 ml 脳内に注入した

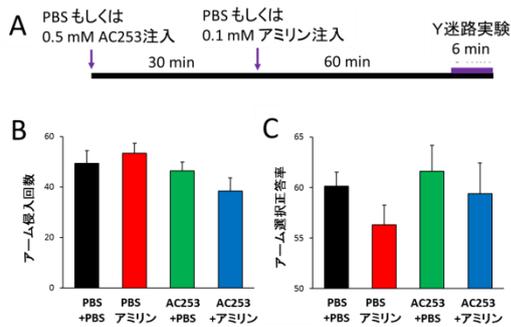


図5 アミリンによる短期記憶低下に対するAC253の効果

30分後に、PBSもしくは0.1 mMのアミリンを0.01 mlを脳内に注入し、60分後にY迷路試験を行った。各群ともアーム侵入回数は差は無かったが、アーム選択正答率はPBS+PBS注入群に対して、PBS+アミリン注入群が有意に低下した一方、アミリン注入前にAC253を注入した場合は有意な低下は見られなかった(図5BC)。AC253によってアミリンによる短期記憶低下が阻止されたことが示唆された。

4. 今後の課題

アミリンと同様に、ABによる海馬由来の短期記憶低下に対しても、AC253によるアミリン受容体の機能阻害で防ぐことができるかを検証する。

また、予算削減で実現していない、アルツハイマー病モデルマウスの実験も、予算を獲得次第開始したい。すでに重度のアルツハイマー病を発症したモデルマウスに、

AC253を脳内に直接注入することで、短期記憶が回復するかどうかを詳細に調べる。一時的にでも短期記憶が戻るようであれば、今現在全く治療方法が確立されていない、重度のアルツハイマー病治療への光明となるはずである。先駆けて、モデルマウスの状態を詳細に調べるため、抗体・蛍光試薬などを購入し、共同研究者である井上と座安が昭和医科大学解剖学講座肉眼解剖学部門講師の井上由理子先生の下で、神経活動可視化の研修を受けた。

5. 研究成果の公表方法

すでに日本神経科学会(幕張メッセ、7月)と北米神経学会(ワシントンDC、11月)の2つの国際学会で実験結果を公表してきた。引き続き精力的に研究を継続し、国際学会で成果を発表しながら、国内の基礎・臨床研究者への公表として、次回の日本認知学会(札幌、平成30年10月)で発表する予定である。

以上のように良好な研究結果が得られているため、ぜひ予算削減で実現しなかったモデルマウスの研究を早急に行い、研究を取りまとめて学術雑誌に公表したい。

以上