

2024 年 7 月 31 日

<研究課題> グリンパティックシステムに基づく加齢認知機能障害の新規治療薬開発

代表研究者 ジョンスホプキンス大学医学部 精神科 Research Associate 長谷川 祐人
共同研究者 ジョンスホプキンス大学 精神科 教授 神谷 篤

【抄録】

現在高齢化が加速度的に進む日本は、患者数が 100 万人を超える認知症患者の多い国の一つであり、脳機能を保持した健康寿命の延伸を実現するために、老化に伴う認知機能障害に対する治療法、予防法の開発は、社会的に極めて重要な危急を要する課題である。なかでも術後せん妄は、術後の高齢患者によくみられる合併症で生命予後にも大きな影響を与えるが、その分子および細胞メカニズムは十分に解明されておらず、有効な治療薬はいまだ存在しない。近年、脳内で生じた老廃物を排出するグリンパティックシステムが発見され、加齢によるその機能低下と認知機能障害への影響の可能性が注目されている。本研究では、高齢のマウスに対して腹部手術を行い、腹部手術による全身性炎症が脳内で過剰なグルタミン酸産生をもたらし、それに伴うグリンパティックシステムの機能低下が、認知機能障害を引き起こすことを明らかにした。

1. 研究の目的

術後せん妄は特に高齢患者においてよく見られる重大な合併症で、注意力や思考力の低下など認知機能障害がみられる。術後せん妄の病態生理の一つとして、全身性および中枢神経系の炎症が注目されている。全身性炎症は主にグリア細胞などによって制御される脳内炎症を引き起こし、それに伴って、急性および一過性の認知機能障害を引き起こすと考えられている。我々のグループは以前、ストレスによるうつ病モデルマウスを用いた実験において、脳内の炎症により過剰となったグルタミン酸の産生を抑制することで、社会回避や意欲低下などの抑うつ関連行動を改善したと報告している (Zhu et al., Neuropsychopharmacology, 2019) が、脳内炎症と認知機能障害に対する詳細な分子メカニズムは明らかになっていない。

体内で生じる老廃物や有害物は、リンパ系システムを通して体外に排出される。脳内でも神経活動に伴って老廃物が生じるが、中枢神経系には解剖学的なリンパ管が存在

せず長年その機構は不明であった。近年、動脈周囲の血管周囲腔を流れる脳脊髄液が、脳内グリア細胞の 1 つであるアストロサイト上に発現するアクアポリン 4 受容体 (AQP4) により生み出される勾配を利用して細胞間隙に流れ込み (間質液)、細胞間隙から静脈周囲腔を介して中枢神経外に排泄されるグリンパティックシステム (グリア系+リンパ系) が発見され、加齢によるその機能低下と認知機能障害への影響の可能性が注目されている。

そこで本研究では、腹部手術による脳内炎症が、過剰なグルタミン酸性を引き起こし、それに伴うグリンパティックシステムの機能低下が、認知機能障害を引き起こすことを明らかにする。

2. 研究方法と経過

老齢マウスを対象に、手術モデル (吸入麻酔、1 時間の腸管攪拌) を作成した。手術直後と手術から 3 週間後で認知機能の評価する行動実験を行った。また蛍光タンパク質を結合したトレーサーを脳脊髄液中に直

接投与し、脳全体に灌流後、認知機能に必要な脳部位における蛍光シグナルの分布を観察した。さらに各群のマウスから脳を取り出し、グルタミン酸量を測定した。

3. 研究の成果

3-1. 高齢マウスに対する腹部手術によって、短期記憶、空間認知機能の障害が生ずる

腹部手術が認知機能に与える影響を調べるため、新規物体認識テスト、新規位置認識テスト、そしてバーンズ迷路テストを施行した。いずれのテストにおいても高齢術後マウスでは認知機能が低下し、手術から3週間後では回復していた。このことから、高齢マウスに対する腹部手術によって、一過性の認知機能障害が生じることが示唆された。

3-2. 高齢術後マウスでグリンパティックシステムの機能が低下し、グルタミン酸発現が増加する

脳脊髄液に直接蛍光染料を注入し、記憶や空間認知機能に重要であるとされる脳部位における蛍光分布を調べたところ、高齢術後マウスの海馬で脳脊髄液流が減少していた。

さらに、術後グリンパティックシステムの機能低下がみられた海馬におけるグルタミン酸濃度を測定した結果、グルタミン酸が増加していることがわかった。

4. 今後の課題

本研究により、高齢マウスに吸入麻酔を施し、その後に腹部手術を行うと、一時的な認知機能障害が生じることが分かった。これらの行動結果は、脳内炎症に伴う過剰

なグルタミン酸産生によって引き起こされるグリンパティック機能低下の関連が示唆され、現在より詳細な分子メカニズムを追求中である。さらに、過剰なグルタミン酸産生に対する薬理的阻害が、これらの表現型を改善できるかも調査している。我々の研究が、高齢者の術後せん妄の予防と治療のために、分子メカニズムに基づく薬理的介入の開発に貢献できることを願っている。

5. 研究成果の公表方法

5-1. 発表論文

Yang K*, Hasegawa Y*, Hua J, Dower M, Etyemez S, Prasad N, Duvall L, Paez A, Smith A, Lane AP, Ishizuka K, Kamath V, Kamiya A, Sawa A: Immune-related molecular changes in the olfactory epithelium, structural alteration in the olfactory bulb, and psychosis. Mol Psychiatry, PMID: 38321120, 2024. (*These authors contributed equally to this work.)

Hasegawa Y, Kim J, Ursini G, Jouroukhin Y, Zhu X, Miyahara Y, Xiong F, Madireddy S, Obayashi M, Lutz B, Sawa A, Brown SP, Pletnikov M, Kamiya A.: Microglial cannabinoid receptor type 1 mediates social memory deficits produced by adolescent THC exposure and 16p11.2 duplication. Nat Commun, PMID: 37880248, 2023

5-2. 今後の予定

論文投稿 (2024年12月頃を予定)

学会発表 (63rd Annual meeting of the American College of Neuropsychopharmacology, Dec 8-11, 2024. Phoenix, Arizona, USA)

Development of novel drug for age-associated cognitive dysfunction based on the glymphatic system

Primary Researcher: Yuto Hasegawa
Research associate, Johns Hopkins University School of Medicine

Co-researchers: Atsushi Kamiya
Professor, Johns Hopkins University School of Medicine

Abstract

In Japan, where the population is aging rapidly, the number of dementia patient has surpassed one million, making it one of the countries with the highest prevalence of this condition. Developing treatments and preventive measures for age-related cognitive impairment is a socially urgent and critical issue to extend healthy lifespans while maintaining brain function. Among age-related cognitive impairments, postoperative delirium is a common and significant cognitive complication after major surgery in older people. Nonetheless, the molecular and cellular mechanisms underlying the pathophysiology of postoperative delirium remain poorly understood, delaying advances in its prevention and treatment. Systemic inflammation induces neuroinflammation – largely regulated by brain resident immune cells, resulting in acute cognitive dysfunction. Recent studies suggest that deterioration of glymphatic waste clearance system may contribute to cognitive decline in the elderly. In the current study, using an aged mouse model of abdominal surgery, we are investigating whether abdominal surgery-induced systemic inflammation results in excess glutamate production in the CNS, which may affect glymphatic waste clearance system and cognitive impairments.

1. Aim of Research

Postoperative delirium is a significant complication frequently observed in elderly patients, characterized by cognitive impairments such as decreased attention and impaired thinking. One pathophysiological aspect of postoperative delirium is the inflammation of both the systemic and central nervous systems. Systemic inflammation is thought to induce brain inflammation primarily controlled by glial cells, leading to acute and transient cognitive dysfunction. Our research group previously reported that suppressing the production of excessive glutamate, induced by brain inflammation, ameliorated depression-related behaviors such as social avoidance and decreased motivation in a mouse model of chronic stress-induced depression (Zhu et al., Neuropsychopharmacology, 2019). However, the detailed molecular mechanisms linking brain inflammation and cognitive impairment remain unclear.

In the body, waste products and harmful substances are expelled through the lymphatic

system. Similarly, neuronal activity in the brain produces waste, but the central nervous system lacks anatomical lymphatic vessels, leaving its clearance mechanism unknown for many years. Recently, the glymphatic system was discovered, involving cerebrospinal fluid flowing through the perivascular spaces around arteries and entering the interstitial space via aquaporin-4 (AQP4) receptors expressed on astrocytes, a type of glial cell. This fluid then exits the central nervous system through the perivenous spaces, providing a pathway for waste clearance. The potential impact of age-related declines in this system on cognitive function has drawn significant attention.

In this study, we investigate whether abdominal surgery-induced systemic inflammation increases glutamate levels in the central nervous, leading to aberrant glymphatic waste clearance system and cognitive impairments.

2. Method of research & progression

We prepared a model of abdominal surgery involving inhalation anesthesia with intestinal

manipulation. Behavioral experiments were conducted to evaluate cognitive function at two time points: 1) immediately after surgery and 2) three weeks post-surgery.

We injected the tracer with fluorescent proteins directly into the cerebrospinal fluid. After allowing to perfuse throughout the brain, we observed the distribution of the fluorescent signals in brain regions essential for cognitive function. We also extracted the brain from the mice in each group, and glutamate levels were measured.

3. Result of research

3.1 Memory and Spatial Cognitive impairments induced by abdominal surgery in aged mice

To investigate the impact of abdominal surgery on cognitive function, we performed several memory tests including the Novel Object Recognition Test. Transient cognitive impairments were observed in aged mice subjected to abdominal surgery.

3.2 Disturbance of glymphatic waste clearance system and increased glutamate expression in delirium model

Reduction of glymphatic fluid and excess glutamate production in the hippocampus was induced by abdominal surgery.

4. Future area to take note of, and going forward

Our results suggest that abdominal surgery produces transient cognitive impairments in aged mice, which may result from excess glutamate production and disturbance of glymphatic waste

clearance system. We are currently investigating the molecular mechanisms underlying these phenotypes. Additionally, we are exploring whether pharmacological inhibition of glutamate signaling can ameliorate these phenotypes.

We hope our research will contribute to the development of molecular mechanism-based pharmacological interventions for the prevention and treatment of postoperative delirium in the elderly.

5. Means of official announcement of research results

5.1 Publications

Yang K*, Hasegawa Y*, Hua J, Dower M, Etyemez S, Prasad N, Duvall L, Paez A, Smith A, Lane AP, Ishizuka K, Kamath V, Kamiya A, Sawa A: Immune-related molecular changes in the olfactory epithelium, structural alteration in the olfactory bulb, and psychosis. *Mol Psychiatry*, PMID: 38321120, 2024. (*These authors contributed equally to this work.)

Hasegawa Y, Kim J, Ursini G, Jouroukhin Y, Zhu X, Miyahara Y, Xiong F, Madireddy S, Obayashi M, Lutz B, Sawa A, Brown SP, Pletnikov M, Kamiya A.: Microglial cannabinoid receptor type 1 mediates social memory deficits produced by adolescent THC exposure and 16p11.2 duplication. *Nat Commun*, PMID: 37880248, 2023

5.2 Future plans

Paper submission (Dec 2024)

Conference presentation

(63rd Annual meeting of the American College of Neuropsychopharmacology, Dec 8-11, 2024. Phoenix, Arizona, USA)

Development of novel drug for age-associated cognitive dysfunction based on the glymphatic system

Primary Researcher: Yuto Hasegawa
Research associate, Johns Hopkins University School of Medicine

Co-researchers: Atsushi Kamiya
Professor, Johns Hopkins University School of Medicine

Abstract

In Japan, where the population is aging rapidly, the number of dementia patient has surpassed one million, making it one of the countries with the highest prevalence of this condition. Developing treatments and preventive measures for age-related cognitive impairment is a socially urgent and critical issue to extend healthy lifespans while maintaining brain function. Among age-related cognitive impairments, postoperative delirium is a common and significant cognitive complication after major surgery in older people. Nonetheless, the molecular and cellular mechanisms underlying the pathophysiology of postoperative delirium remain poorly understood, delaying advances in its prevention and treatment. Systemic inflammation induces neuroinflammation – largely regulated by brain resident immune cells, resulting in acute cognitive dysfunction. Recent studies suggest that deterioration of glymphatic waste clearance system may contribute to cognitive decline in the elderly. In the current study, using an aged mouse model of abdominal surgery, we are investigating whether abdominal surgery-induced systemic inflammation results in excess glutamate production in the CNS, which may affect glymphatic waste clearance system and cognitive impairments.