

## 新しい慢性脳低灌流アルツハイマーモデルマウスを用いた新規脳血管保護療法の確立

山下 徹

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経内科学

## 【研究の背景】

近年高齢人口の増加と共に脳血管障害患者ならびに認知症患者が増大の一途をたどり、社会的問題となつてきている。また最近、血管性障害も認知機能障害に大きく関与している可能性が強く示唆されてきている。申請者はこれまでに APP23 トランスジェニックマウスの両側総頸動脈にアミロイドコンストリクターを装着することで緩徐に血管狭窄をおこす慢性脳低灌流アルツハイマー病モデルマウスを新たに開発した。本モデルでは、コントロール群と比較して、①運動・空間認知機能の明らかな増悪、②大脳皮質では老人班の有意な増加、③髄膜-脳実質内血管にアミロイド $\beta$ の沈着と血管周囲にミクログリアが著明な集簇を呈し、④大脳皮質と視床における NLRP3 陽性 inflammasome 形成と IL-1 $\beta$ の有意な増加、⑤neurovascular unit ならびに neurotrophic coupling が破綻し、⑥脳梁における axon-glia junction 構成成分 MAG と Ranvier 絞輪構成蛋白 NF186 の有意な減少がおきること をそれぞれ明らかにし、国際誌に報告してきた (Zhai and Yamashita et al. 2016 年, JAD, Shang et al., 2016 年, JAD, Zhai et al., 2016 年, JAD, Feng et al., 2018 年, Brain Research, Shang et al., 2018 年, Neurosci Res)。以上の結果から本モデルが血管性障害を伴った認知症の優れた動物モデルであることが明らかにされてきた。

## 【目 的】

本研究では上述の慢性脳低灌流アルツハイマー病マウスモデルに対して、フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボン投与しその治療効果を検討することが主な目的である。

## 【方 法】

APP23 マウスモデル 16 週齢オス 計 48 匹を準備し、そのうち 16 匹は、Sham 手術のみとして APP23 (コントロール) 群とした。残り 32 匹に直径 0.75 mm のアミロイドコンストリクターを両側総頸動脈に取り付けることで、緩徐に脳血流が低下する慢性脳低灌流 (Chronic Cerebral Hypoperfusion: CCH) モデルを作成した。慢性脳低灌流開始して 2 週間後に 32 匹中 16 匹には edaravone 50mg/kg を隔日で腹腔投与を行い (APP23+CCH+Eda 群)、16 匹には vehicle を同様に隔日で腹腔投与を行った (APP23+CCH+vehicle 群)。(図 1 参照)

この間、ロータロッド、8 字迷路テスト等の運動や高次機能評価もあわせて経時的に行い、6 か月齢と 12 か月齢のタイムポイントで各群 6 匹ずつ還流固定後、免疫組織学的解析も行った。Nissl 染色とともにアミロイド $\beta$ 、リン酸化タウならびに酸化ストレスマーカー等を免疫組織学的に評価を行った。

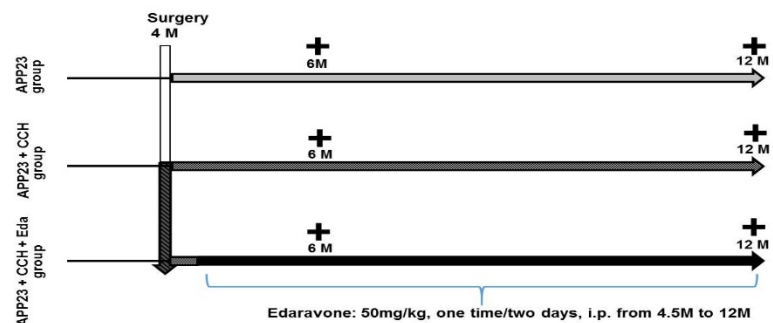


図 1. 実験プロトコール

## 【結 果】

- ① 12 週齢の時点で、エダラボン治療群は vehicle 群と比べてロータロッドにおける運動機能ならびに 8 字迷路テスト上の高次機能が有意に改善を認めた。
- ② 12 週齢の時点で、エダラボン治療群は vehicle 群と比較して、Nissl 染色で評価した大脳皮質、海馬、視床における神経細胞脱落が有意に抑制されていた。
- ③ 12 週齢の時点で、エダラボン治療群は vehicle 群と比較して、アミロイド  $\beta$  オリゴマーならびにリン酸化タウの沈着が有意に低下していた。
- ④ 12 週齢の時点で、エダラボン治療群は vehicle 群と比較して、酸化ストレスマーカーである 3-NT ならびに AGE の発現が有意に抑制されていた。さらにエダラボン治療群は同様にマイクログリアのマーカーである Iba-1 陽性細胞数が減少し、炎症マーカーでもある 1L-1  $\beta$  と NLRP3 の発現も有意に抑制されていることが明らかになった。

## 【考 察】

本研究により、慢性脳低灌流アルツハイマー病マウスモデルにおいて、フリーラジカルスカベンジャー、エダラボンの投与は、酸化ストレスや神経周囲の炎症反応を抑制し、アミロイド  $\beta$  オリゴマーやリン酸化タウの減少とともに運動機能や高次機能の改善効果を示すことが明らかになった。本結果から、酸化ストレス自体が、慢性脳低灌流を伴ったアルツハイマー病の病態メカニズムに重要な役割を持っていることが示唆された。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

当科で近年確立した慢性脳灌流モデルは脳血管周囲では著明な炎症細胞浸潤ならびにアミロイド血管炎を起こし、大脳皮質にもアミロイド  $\beta$  陽性プラークが出現し、空間記憶障害を呈してくるなど脳血管障害を伴うアルツハイマー型認知症の非常に優れた動物モデルである。この新規モデルに、近年 ALS など神経変性疾患にも応用可能となってきたフリーラジカルスカベンジャー edaravone を組み合わせ、その治療効果を検討した本研究結果は、血管性障害を伴った認知症における脳内炎症を抑制する可能性を示唆しており、非常に意義深い。また同時に、現在増加の一途である血管性障害を伴った認知症の予防や治療として、エダラボン投与が有望な治療薬候補となりうることを示唆された。今後も臨床応用に向けて更なる検討が必要と考えている。

## 【参考・引用文献】

1. Feng T, Yamashita T, Shang J, Shi X, Nakano Y, Morihara R, Tsunoda K, Nomura E, Sasaki R, Tadokoro K, Matsumoto N, Hishikawa N, Ohta Y, Abe K. Clinical and Pathological Benefits of Edaravone for Alzheimer's Disease with Chronic Cerebral Hypoperfusion in a Novel Mouse Model. *J Alzheimers Dis.* 7:327-339, 2019.
2. Shang J, Yamashita T, Zhai Y, Nakano Y, Morihara R, Li X, Tian F, Liu X, Huang Y, Shi X, Sato K, Takemoto M, Hishikawa N, Ohta Y, Abe K. Acceleration of NLRP3 inflammasome by chronic cerebral hypoperfusion in Alzheimer's disease model mouse. *Neurosci Res.*143: 61-70, 2019.
3. Shang J, Yamashita T, Zhai Y, Nakano Y, Morihara R, Fukui Y, Hishikawa N, Ohta Y, Abe K. Strong Impact of Chronic Cerebral Hypoperfusion on Neurovascular Unit, Cerebrovascular Remodeling, and Neurovascular Trophic Coupling in Alzheimer's Disease Model Mouse. *J Alzheimers Dis.* 52:113-126, 2016.
4. Zhai Y\*, Yamashita T\*, Nakano Y, Sun Z, Shang J, Feng T, Morihara R, Fukui Y, Ohta Y, Hishikawa N, Abe K (\*Co-first author). Chronic cerebral hypoperfusion accelerates Alzheimer's pathology with cerebrovascular remodeling in a novel mouse model. *J Alzheimers Dis.* 53:893-905, 2016