

令和元年6月17日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08615

研究課題名(和文) アルツハイマー病におけるアポEの役割の解明：アポEノックアウトウサギを用いた研究

研究課題名(英文) ApoE roles in Alzheimer's disease using ApoE KO rabbits

研究代表者

小幡 史子(OBATA, Fumiko)

山梨大学・大学院総合研究部・特任助教

研究者番号：80333566

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、高脂血症を発症するウサギモデルを用いて、脳脈絡叢でのコレステロール病理像を正常ウサギ(普通食、コレステロール負荷なし)と比較した。高脂血症と動脈硬化が増すにつれ、脳脈絡叢のコレステロール病理像は、増加した。神経原線維変化・神経変性を観察したところ、陽性神経細胞は、高脂血症ウサギで増加していた。アルツハイマー病の初期症状と関連するとされる領域での神経変性と脳脈絡叢におけるコレステロール病理像には正の相関があった。脳脈絡叢内のコレステロール病理像はウサギのアルツハイマー病モデルにおいて、早期の神経変性の指標となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ほとんどのアルツハイマー病の直接的な原因(遺伝子、環境要因)はまだ明らかになっていない。一方、疫学的な研究から中年期における高脂血症が、老年期でのアルツハイマー病発症と関連があることが報告されている。本研究では、コレステロール食負荷、または、遺伝的に高脂血症となるウサギを用いて、脳内でのコレステロール蓄積とアルツハイマー病様病理像が相関することを示した。このことから、将来的には、脳脈絡叢内のコレステロールの蓄積をアルツハイマー病早期診断に役立てることや、これを標的とした創薬への基礎的なデータを提供する動物モデルを開発するという可能性を示している。

研究成果の概要(英文)：We used hypercholesterolemic rabbit models to assess degree of cholesterol-associated lesion in the choroid plexus compared to normal chow-fed (0% cholesterol diet) animals. The cholesterol lesion was increased as higher degree of hypercholesterolemia and atherosclerosis development occurred. Neurofibrillary tangles/NFTs positive neurons were increased in hyperlipidemic rabbits. These neurofibrillary change-associated neurodegeneration occurred in entorhinal cortex (ENT), hippocampal dentate gyrus (DG), CA1 and CA3 regions that are known to be closely associated with earlier AD pathology. The choroid plexus cholesterol lesions were correlated with these neurodegenerative features in ENT, DG, CA1 and CA3. The results suggest that accumulation of cholesterol lesion within the choroid plexus might serve as an early sign of neurodegenerative changes in AD rabbit model.

研究分野：神経科学

キーワード：rabbit model choroid plexus foam cell cholesterol crystal neurofibrillary tangles neurodegeneration hypercholesterolemia

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血中の高コレステロールとアルツハイマー病の発症が関連することが疫学的に示されてから、血中でコレステロールを運搬するリポたんぱく質とそれを構成するアポリポたんぱく質(例、アポ E)の脳病理像への影響を研究する重要性が考えられた。一方、アルツハイマー病患者では頻りに特殊なアポ E 遺伝子型であるアポ E4 型が見られている。我々は、血中コレステロールおよびアルツハイマー病の両方に関連するアポ E の欠損ウサギを作製し、これを用いてアポ E のアルツハイマー病における役割を、脳外の脂質代謝とともに明らかにする計画を立てた。しかしながら、研究計画の初年度にウサギコロニーで感染症が発生し、動物の全頭処分を行い、保存精子からのコロニーの再構築を余儀なくされた。現在、アポ E ノックアウトウサギは順調に増えており、本年度中には脳の解析を開始できる予定である。

このような状況下、我々は、ウサギの高脂血症モデルで、先にアルツハイマー病様の脳病理像と高次機能低下の報告があるウサギの AD モデルの脳内でのコレステロール蓄積を解析することとした。

2. 研究の目的

ウサギ高脂血症モデルを用いて、脳内のコレステロール蓄積およびアルツハイマー病様病理像を解析する。

3. 研究の方法

1) 野生型ウサギ 16 週齢に、0%コレステロール食(普通食、コントロール) 0.3%コレステロール食(高脂血症と動脈硬化を発症する)または、2%コレステロール食(AD 様病理像の報告のあるモデル)を 16 週間与える。体重、摂餌、血中脂質(総コレステロール、中性脂肪、HDL-C)を毎週計測する。大動脈および脳を採取し、動脈硬化(Sudan IV 染色) 脳内のコレステロール蓄積(HE 染色)、アルツハイマー病様病理像(ビルシヨウスキー銀染色)の検出を行う。

2) 遺伝的に高脂血症を示すウサギ、Watanabe hereditary hyperlipidemic (WHHL)を用いて(1)と同様に解析する。WHHL ウサギは low-density lipoprotein receptor (LDLR)に突然変異を持ち、機能欠損となるため、肝臓での速やかなコレステロール回収ができないために、普通食摂餌下で自然に高脂血症を発症するモデルで、AD 様の病理像および高次機能低下の報告がある。

4. 研究成果

1) 高脂血症ウサギでは、脳におけるコレステロール病理像が脈絡叢に増加することを観察した。脳脈絡叢にはコレステロールを蓄えた泡沫細胞(fc)が蓄積した(図1)。また、これが重度に進んだ超高脂血症ウサギでは、泡沫細胞が崩壊し、脈絡叢内で高濃度になったコレステロールがコレステロール結晶(cc)を形成した(図1)。コレステロールは血液脳関門を超えないことが知られているが、脈絡叢でのコレステロール蓄積と高脂血症との関連に関しては今まで報告がなかった。

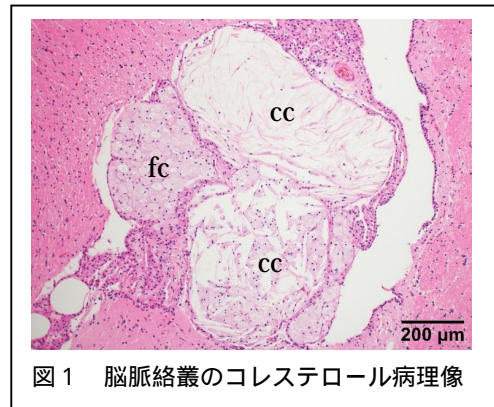


図1 脳脈絡叢のコレステロール病理像

2) 高脂血症ウサギでは、神経原線維変化が観察され、それらはアルツハイマー病の初期に変化が起こる部位、臭内皮質(ENT)、海馬の DG, CA1, CA3 領域に集中していた。これに対し、膨大後部皮質(RSP)や鼻周囲皮質(PER)などの大脳新皮質はアルツハイマー病では後期に病理像が現れる部位で、我々の高脂血症ウサギでは神経原線維変化は蓄積していなかった。ウサギの AD モデルでは、神経原線維変化が起こるといった報告はあったものの、どの領域にどれだけ起こっているか、また、どの程度の高脂血症でどの程度脳病理像が増加するかといった研究はなされていなかった。

3) 脳脈絡叢でのコレステロール病理像の蓄積と、神経原線維変化の出現頻度の相関を解析したところ、両者には正の相関があった。また、脈絡叢でのコレステロール病理像と ENT, DG, CA1 および CA3 での神経原線維変化の増加との間には統計的な有意差が集中していた。このことから、ウサギの AD モデルにおいて、脈絡叢におけるコレステロール病理像の検出は、初期のアルツハイマー病の指標となる可能性が示唆された。

表 脈絡叢コレステロール病理像 (%) 対 神経原線維変化

	% positive neurons			mean diameter		
	correlation coefficient	p value	significance	correlation coefficient	p value	significance
ENT layers II/III	0.189	0.388		-0.477	0.021	*
ENT layers V/VI	0.551	0.006	*	-0.657	0.001	*
DGd	0.657	0.001	*	-0.488	0.018	*
CA3	0.433	0.044	*	-0.31	0.16	
CA1	0.511	0.013	*	-0.039	0.858	
PERI layers II/III	0.35	0.120		-0.305	0.191	
PERI layers V/VI	0.463	0.035	*	-0.219	0.353	
RSPv layers II/III	0.483	0.047		0.101	0.700	
RSPv layers V/VI	0.409	0.086		0.176	0.323	

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Obata F, Minai R, Wang C, Ning B, Niimi M and Fan J. Dietary cholesterol increases neurodegenerative pathology through the blood-cerebrospinal fluid barrier in rabbits. Neuroscience 2016, society for Neuroscience, November 13, 2016, San Diego.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年：
 国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年：
 国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。