

令和元年5月13日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10216

研究課題名(和文)アルツハイマー病と血液脳関門不全の関連について小動物用MRIを用いた研究

研究課題名(英文) Study of the relation between Alzheimer's disease and BBB disfunctions using MRI for small animals

研究代表者

中村 祐 (Nakamura, Yu)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：70291440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：Pentylentetrazole単回投与けいれん誘発モデルを用いて、BBB不透過造影剤ガドテリドール(Gd-HP-D03A)を用い、ガドリニウム造影MRI(GdEMRI)手法によりBBBの時空間的变化を観察する方法を確立している。この方法を用いて、APP/PS2 Tgマウス(PS2N1411 x APP(swe))においてBBB損傷がどの程度あるかを検証した。ガドテリドール投与後の時間変化(T1WI)をROIを設定して測定を行った結果、ガドテリドールの脳内への分布が確認され、APP/PS2 Tgマウスにおいては対象マウスに比べて漏出の程度が明らかに大きいことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ADの病態にBBB損傷が関与するか否かについて明確にした研究はない。本研究で用いる造影剤は実際の臨床現場で使用されているものであり、侵襲性が極めて低く安全に臨床応用することが可能である。したがって、本研究結果から、実際のADの病態にBBB損傷が関与するか否かについてMRIを用いて検討が可能となると考えられ、AD患者においてBBB損傷がある可能性が示唆されている。BBB損傷が病態に深く関与しているとするれば、予防や治療(抗体や分子量の大きな薬剤による治療)に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have established the new observation method of space-time changes of BBB with pentylentetrazole-induced single convulsion and with BBB-impermeant contrast medium GadoTeridol (Gd-HP-D03A). With this method, we observed the damages of BBB in APP/PS2 Tg mice(PS2N1411 x APP(swe)). The time-dependent change (T1WI) after the administration of GadoTeridol was examined using ROI. Invasion of GadoTeridol into brain was found, and the invasion of GadoTeridol was apparently found larger in APP/PS2 Tg mice than in control mice.

研究分野：神経化学

キーワード：アルツハイマー病 血液脳関門不全 MRI

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

## 1. 研究開始当初の背景

最近の BBB に関する研究成果で興味深いことは、脳神経疾患進行の初期段階においてすでに BBB 機能不全が起きている可能性があるという点である。加齢に伴う神経変性疾患の代表である AD と BBB の関係について、AD 患者の死後脳においてミトコンドリア数の減少、ピノサイトーシス小胞数の増加、基底膜へのコラーゲンの蓄積、ネクローシス、脳 EC の顕著変化、またガドリニウム (Gd) 増強 MRI 法 (gadolinium-enhanced MRI: GdEMRI) を用いた AD 患者での BBB 透過性促進や脳脊髄液/血清アルブミン比の上昇、更に脳 EC を介したアミロイド タンパクの脳内への輸送が促進されていることが明らかになった。また、AD の進行において T リンパ球の脳浸潤が認められ、老人斑形成などに単球浸潤による脳内炎症反応が関与していることが報告されたことなどから、AD の進行に BBB の機能不全が重要な役割をしている可能性が示唆された。

AD の主症状である認知障害を呈する何十年も前から、脳内で病態変化が徐々に進行している可能性が示唆されていることから、認知障害が発症する以前に治療を開始することは発症を遅らせることになり、老後の QOL を向上することが出来ると考えている。そのためには認知障害発症以前の脳内状態、特に BBB の機能変化を捉えることが必要である。そのためには AD における BBB の変化を長期的に観察する必要がある。

一般に BBB の研究が他の脳研究より遅れていた理由に実験手法、特に *in vivo* 研究の難しさにあった。*in vivo* 研究における BBB の研究手法は、多くの問題点を抱えているにも関わらず、BBB 不透過である 19 世紀に Ehrlich が用いた小さい分子である色素、(エバンスブルー、トリパンプルー)、または大きい分子で分子量の違うペルオキシダーゼ (HRP) や IgG などを、静脈内注射し脳血管および BBB 透過性を観察することにより BBB の損傷状態を評価する手法が、未だ広く用いられている。上述したように AD は加齢に伴う疾患であるため、その初期変化を捉えその後の変化を時空間的に検討することが必要不可欠である。しかし、これら従来の手法では、認知障害実験を行いながら BBB の損傷状態を動物一頭ごと時に時空間的に観察することは非常に難しい。そこで、この問題点を解決するための有用な手法として MRI 法が考えられる。これまでに我々は、小動物用 MRI (MRmini-SA, DS ファーマバイオメディカル、左図) を用いて、他の精神疾患モデル動物であるてんかんモデルマウス及び脳内出血モデルラットの BBB 透過性変化を評価検討してきた (*Brain Res.*, 1530:44-53, 2011)。



MRI 法を用いた研究の利点は同一個体から非侵襲条件下で脳の形態学的、機能生理学的変化を、時空間的に観察できることである。正常な BBB はガドリニウム (Gd) などの造影剤が透過出来ないため、Gd が静脈内に投与されても血管から脳実質内への移行は制限される。しかし BBB の機能不全がある場合は、Gd が脳実質内に漏出し、 $T_1$ -weighted image ( $T_1WI$ ) で高信号を示し、その部位が BBB の破綻領域を示す。同一個体を用い時空間的な検討を行うことで、AD における BBB 損傷の影響や老化のメカニズムを知る上で極めて重要である。

## 2. 研究の目的

血液脳関門 (BBB) は脳内恒常性を維持するために、血液中の分子の脳内移行を厳格に制御している。これまでに BBB 損傷がアルツハイマー病 (AD) を含め様々な中枢神経疾患の病態生理

に深く関与していることが報告されている<sup>1)</sup>。AD は加齢に伴う疾患であるため、BBB の初期変化を捉えその後の変化を時空間的に検討することが必要不可欠である。しかし、従来の BBB 研究手法は認知障害実験を行いながら BBB の損傷状態を動物一頭ごと時に時空間的に観察することは非常に難しい。そこで我々はこの問題を解決するために MRI 法を確立した。既に、他の精神疾患モデル動物について小動物用 MRI を用いた BBB 損傷評価し結果を得ている。本研究では BBB に着目し AD 発症機序及び脳の老化メカニズムの一端を明らかにすることを研究目的とした。

### 3 . 研究の方法

AD モデルマウスにおける BBB 透過性変化を検討するために、トレーサーの選択を行う。次に AD モデルマウスの発育過程にて MRI 法を用いた BBB 透過性変化を検討する。MRI 法では T1WI、T2-weighted image、DWI などの形態学的所見に加え、先に選択した造影剤を用いた機能学的変化を検討する。併せて従来の研究手法であるエバンスブルーを用いた組織学的な検討も行う。

得られた画像は画像解析ソフトを用いて画像のコントラストの表示閾値を一定にし、画像間の補正を行い検討・評価を行う。認知機能に關与する部位に關心領域 (ROI) を絞こみ、信号強度値 (SI) を得る。AD モデルマウスにおける病変部位(特にアミロイド蓄積部位)と BBB 透過性に関して検討を行う。

### 4 . 研究成果

Pentylentetrazole 単回投与けいれん誘発モデルを用いて、BBB 不透過造影剤ガドテリドール(Gd-HP-D03A) を用い、ガトリニウム造影 MRI (GdEMRI) 手法により BBB の時空間的变化を観察する方法を確立している。この方法を用いて、APP/PS2 Tg マウス(PS2N141I x APP(swe)) において BBB 損傷がどの程度あるかを検証した。ガドテリドール投与後の時間変化(T 1 W I) を ROI を設定して測定を行った結果、ガドテリドールの脳内への分布が確認され、APP/PS2 Tg マウスにおいては対象マウスに比べて漏出の程度が明らかに大きいことが判明した。

AD の病態に BBB 損傷が關与するか否かについて明確にした研究はない。また、本研究で用いる造影剤は実際の臨床現場で使用されているものであり、侵襲性が極めて低く安全に臨床応用することが可能である。したがって、本研究結果から、実際の AD の病態に BBB 損傷が關与するか否かについて MRI を用いて検討が可能となると考えられ、AD 患者において BBB 損傷がある可能性が示唆されている。BBB 損傷が AD の病態に深く關与しているとすれば、予防や治療(抗体や分子量の大きな薬剤による治療)に繋がると考えられる。

### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

ABC Dementia Scale: A Quick Assessment Tool for Determining Alzheimer's Disease Severity. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra*. Mori T, Kikuchi T, Umeda-Kameyama Y, Wada-Isoe K, Kojima S, Kagimura T, Kudoh C, Uchikado H, Ueki A, Yamashita M, Watabe T, Nishimura C, Tsuno N, Ueda T, Akishita M, Nakamura Y; ABC Dementia Scale Study Group. 2018 Mar 14;8(1):85-97. doi: 10.1159/000486956. eCollection 2018 Jan-Apr.

A Novel Dementia Scale for Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis Parkinsonism*. Takashi Kikuchi, Takahiro Mori, Kenji Wada-Isoe, Yumi Umeda-Kameyama, Tatsuo Kagimura, Shinsuke Kojima, Masahiro Akishita and Yu Nakamura.

Development of a novel convenient Alzheimer's disease assessment scale, the ABC Dementia Scale, using item response theory. Geriatr Gerontol Int. Umeda-Kameyama Y, Mori T, Wada-Isoe K, Kikuchi T, Kojima S, Kagimura T, Ueki A, Watabe T, Kudoh C, Akishita M, Nakamura Y; and ABC dementia scale study group. 2019 Jan;19(1):18-23. doi: 10.1111/ggi.13552. Epub 2018 Nov 22.

Effect of Yokukansan, a Traditional Herbal Prescription, on Sleep Disturbances in Patients with Alzheimer's Disease. Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism. Hideto Shinno, Ichiro Ishikawa, Nobuo Ando, Jun Horiguchi, and Yu Nakamura. OMICS International. Volume6 Issue1. doi10.4172/2161-0460.1000215. 2016.

Alterations in Rapid Eye Movement Sleep Parameters Predict for Subsequent Progression from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism. Hideto Shinno, Ichiro Ishikawa, Nobuo Ando, Yoshihito Matsumura, Jun Horiguchi, and Yu Nakamura. OMICS International. Volume6 Issue2. doi10.4172/2161-0460.1000218. 2016.

Preliminary evidence that rivastigmine-induced inhibition of serum butyrylcholinesterase activity improves behavioral symptoms in Japanese patients with Alzheimer's disease. Geriatrics & Gerontology International. Japan Geriatrics Society. Nobuyasu bando and Yu Nakamura. doi10.1111/ggi.12865. 2016.

〔学会発表〕(計5件)

EFFECT OF MEMANTINE ON ELECTROENCEPHALOGRAPHIC RHYTHMS IN ALZHEIMER'S DISEASE PATIENTS

T. Mori, N. Tsuno, P. Faber, Y. Nakamura.

The 14th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases and related neurological disorders, 2019

アルツハイマー型認知症患者に対するメマンチン投与の定量脳波学的検討

森 崇洋, 角 徳文, Pascal L. Faber, 中村 祐

第 37 回日本認知症学会学術集会 2018

血管性認知症にアルコール依存症が合併していた 1 例

角友佑豪, 渡邊朋之, 松岡美穂, 中村光夫, 上野祐介, 角 徳文, 中村 祐

第 37 回日本認知症学会学術集会 2018

ADにおけるリバスチグミンの血清ブチリルコリンエステラーゼ活性阻害率と臨床的有用性  
坂東伸泰, 中村 祐

第 33 回日本老年精神医学会 2018

アルツハイマー病患者の抑うつ症状に対する抗うつ薬は効果的か？臨床症状による抗うつ薬効果の予測

檀上淳一，檀上園子，中村 祐

第 60 回日本老年医学会

アルツハイマー型認知症の包括的新規評価スケール(最終版)の検証的研究

森 崇洋，菊池 隆，亀山 祐美，和田 健二，小島 伸介，工藤 千秋，内門 大丈，植木 昭紀，山下 正人，渡部 俊幸，西村 知香，角 徳文，上田 孝，秋下 雅弘，中村 祐

第 32 回日本老年精神医学会 2017

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：今井 秀記

ローマ字氏名：Imai Hideki

所属研究機関名：香川大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号(8桁): 00558512

### (2)研究分担者

研究分担者氏名：伊藤 康一

ローマ字氏名：Itoh Kouichi

所属研究機関名：徳島文理大学

部局名：薬学部

職名：教授

研究者番号(8桁): 30291149

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。