

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：32527

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K16434

研究課題名（和文）アルツハイマー病の認知機能障害に対する非薬物的介入の脳内メカニズムの解明

研究課題名（英文）To elucidate the brain mechanisms of non-pharmacological treatment of cognitive impairment in Alzheimer's disease.

研究代表者

角 正美（Kaku, Masami）

植草学園大学・保健医療学部・講師

研究者番号：30646261

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：アミロイド脳室内微量注入によってアルツハイマー病（AD）モデルラットを作成した。このADモデルラットでは、記憶力低下は見られず、記憶保持能力の低下がみられた。本研究では、社会的孤立がADの認知機能障害の出現を早めること、習慣的な自発運動が新規学習を促進させることを実験的に証明した。加えて、強制的な運動に比べて自発的な運動では、海馬と前頭前野のBDNF発現量が上昇しているのが確かめられた。介護事業を中心に行われている「閉じこもり防止」や「習慣的な運動による健康増進」という介入が、認知機能に正の影響を与えていることが、実験動物を用いた基礎的研究からも示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会となって久しい我が国における認知症の社会的コストは上がり続け、基礎研究の推進とエビデンスに基づいたケアの充実が急務である。根治・対症療法において薬物的治療の研究は基礎実験を中心に積極的に行なわれている。一方、アルツハイマー病（AD）を代表とする認知症患者に対して行われる非薬物的介入が認知機能にどのような影響を及ぼすのか、その脳内メカニズムについての基礎研究は十分に行われていない。本研究では介護予防事業などをきっかけに始まった「閉じこもり防止」と「運動処方」という2つの非薬物的介入に焦点を当て、これらの介入がADの認知機能障害に及ぼす影響を調べている点で社会的意義は大きいと言える。

研究成果の概要（英文）：A $\beta$ -infused rats caused impairment of memory retention, while learning memory was intact. In this study, I have experimentally demonstrated that: (1) isolation rearing in adulthood hastens the onset of reference memory deficit in A $\beta$ -infused rats; and (2) acquisition and reversal learning in the Barnes maze task were better facilitated by voluntary exercise than by forced exercise, likely via elevated BDNF in neurons of the hippocampus and the frontal cortex. I hope that this result gave evidences such as “prevention of social isolation in adulthood” and “health promotion by habitual exercise” mainly provided by nursing care services.

研究分野：行動神経科学

キーワード：アルツハイマー病 認知機能障害 習慣的運動 社会的孤立

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会となり10年が過ぎた日本において、認知症の社会的コストは上がり続けており、基礎研究の推進とエビデンスに基づいたケアの充実が喫緊の課題である。薬物的介入の研究は基礎実験を中心に積極的に行なわれているが、根治療法に近づく様な成果は得られていない。一方、介護事業を中心に、非薬物的介入として「閉じこもり防止」や「習慣的な運動による健康増進」などを目的とし、様々なサービスが提供されている。これらの介入が認知機能に正の影響を与えることは、臨床研究によって多くの報告が出されている。しかし、非薬物的介入のメカニズムについて、十分な基礎研究は成されていない。

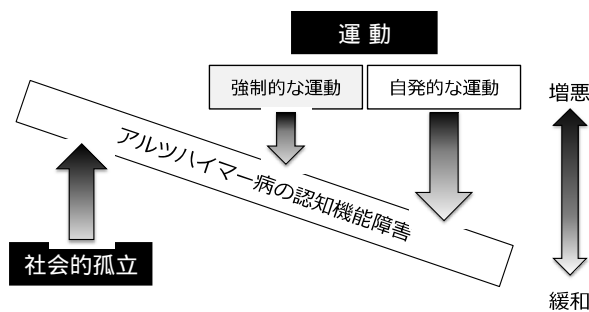
現代社会が抱える「社会的孤立」という問題は、主に成人以後の生活環境を示しており、動物実験をもって発展的にヒトの認知機能に及ぼす社会的孤立の影響を考える場合、性成熟後および老齢期の単独飼育が生体を与える影響を調べることが必須であると考えられる。しかし、先行研究では離乳後早期から単独飼育を開始する実験がほとんどであり、性成熟後や高齢の動物に対する単独飼育の影響を調べた研究は少ない。

心身ともに健康に過ごすために運動は欠かせない。最近では「運動の質」にも焦点が当たり、「自発運動」と「強制運動」による生体への影響の違いが注目を浴びている。自発的な運動とは、意欲的に自分のやりたい内容で無理なく行う運動と言える。このモチベーションの違いが、運動による認知症予防の効果に影響を与える要因となるのか明らかにすることで、テラーメイド医療や介護を提供する者に示唆に富んだ結果を提示できると考えた。

本研究は、アルツハイマー病(AD)モデル動物を用いた基礎的研究ではあるが、生活環境(社会的孤立)や生活習慣(運動)がADの学習・記憶障害にどのような影響を及ぼすのか、そのメカニズムを明らかにすることで、AD患者やその家族、そして非薬物的介入を行なう様々な専門職が自信を持ってケアやサービスを実施するためのエビデンスを提供できると考えられ、社会的意義も大きいと考えた。

## 2. 研究の目的

ADを代表とする認知症患者に対して行われる非薬物的介入が認知機能にどのような影響を及ぼすのか、その脳内メカニズムについての十分な基礎研究は行われていない。本研究では、閉じこもり防止と運動処方という2つの非薬物的介入に焦点を当て、これらの介入がADの認知機能障害に及ぼす影響を調べた。申請時点で、ADモデルラットにおいて記名力に問題はないものの、記憶保持能力に低下がみられることがわかっていた。加え、予備実験において、社会的孤立がADの認知機能障害を引き起こすこと、習慣的な自発運動が認知機能を向上させる可能性があることを掴んでいた。これらの結果を有機的につなげる要素として脳内ストレス応答に着目し、行動科学、組織・生化学的手法を用いてメカニズムの解明を図ることが本研究の目的であった。



認知機能障害に対する生活環境や生活習慣の影響(模式図)

## 3. 研究の方法

### 【ADモデルラット作成と行動実験】

脳室内アミロイドβタンパク質(Aβ<sub>1-42</sub>)持続注入によりADモデルラットを作成。ADモデルラットにバーンズ迷路(多数の穴からゴールの穴を見つける迷路)を学習させ、学習2週間後と5週間後に記憶テストを行なった。

### 【社会的孤立】

13週齢以降、単独飼育群は1匹ずつ、集団飼育群は3匹ずつ、両群とも同じ大きさのケージにて120日間飼育した。単独飼育は他個体との接触、他個体の視認ができない環境とした。

### 【自発運動と強制運動】

自発運動群は回転かごつきケージ内で飼育し、強制運動群はペアとする自発運動群のラットが走行した距離と等距離を強制回転かごとで走行させた。回転カゴや強制運動装置の台数が限られているため、1クール最大、自発運動群4匹、強制運動群4匹を作成した。行動実験では、通

常のバーンズ迷路の学習に加え、学習後に違う穴にゴールを変更した逆転学習も行なった。

【組織化学的解析】

行動実験終了後、灌流固定し脳を摘出した。記憶保持やストレスの関連脳部位とされる海馬、扁桃核、視床下部室傍核、前頭前皮質における c-Fos 陽性細胞数を各群間で比較した。また、6E10 抗体を用いて同部位における Aβ の沈着凝集の程度を調べた。

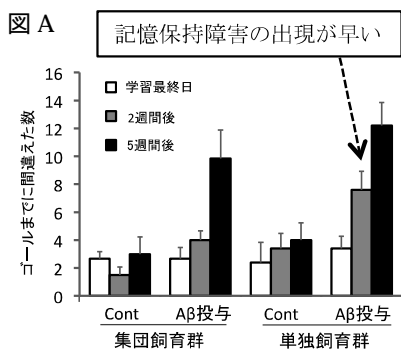
4. 研究成果

【AD モデルラットは長期間の記憶保持が困難になる】

Aβ 投与群も統制群 (Aβ<sub>42-1</sub> 投与群) も新規学習ができ、学習 2 週間後の成績は同程度であったが、学習 5 週間後において Aβ 投与群の成績が有意に悪化した。ヒトの認知症においても、記憶後すぐに想起させるような場合には思い出せるが、それをしばらく経った後に想起させても覚えていないといった症状があり、この AD モデルラットはバーンズ迷路において、その症状をよく表している。

【長期間単独飼育をしたラットが AD を発症した場合、認知機能障害の出現が早まる】

性成熟後に長期間単独飼育したラットに AD を発症させたところ、集団飼育後に AD を発症させたラットに比べ、学習 2 週間後から記憶の保持に障害がみられた (図 A)。この結果をヒトで置き換えるならば、生活環境の変化や社会との関わりの変化の中で孤立した生活が続くことで、AD の進行を早めてしまう可能性を示唆している。AD 治療薬は初期の AD に対し薬効を示しやすいとされている。社会的孤立状態は、AD の不可逆的な進行を早めてしまいかねない、リスクファクターであると言える。行動解析から得られた結果が、脳内のどのようなメカニズムによって生じているのか、組織化学的・生化学的検討に移る予定であったが、2018 年の所属期間移動によって実験環境の整備が間に合わず、以後の検討が行えなかったことが非常に残念である。



【習慣的に自発運動を行ったラットは新規学習と逆転学習の能力が向上する】

迷路課題学習 1 ヶ月前からラットに対し、自発運動か強制運動を行った (両群とも運動量は等しく設定)。結果、強制運動 (FE) 群に比べ自発運動 (VE) 群の方が新規課題の学習スピードが速かった (図 B)。習得 3 日後に行なった逆転学習においても FE 群に比べ VE 群の学習スピードが速かった (図 C)。これらのラットの脳を摘出し、ELISA 法にて BDNF 量を計測したところ、海馬と前頭前野において、FE 群よりも VE 群の発現量が多いことがわかった (図 D)。脳摘出時に副腎摘出も行い重量を検討したが、運動していない群・FE 群・VE 群において統計的に有意な差は見られなかった。

図 B

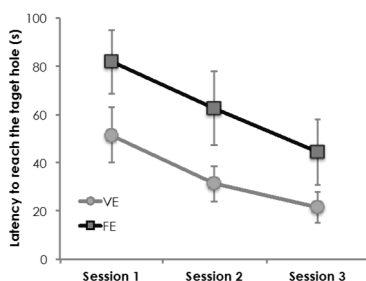


図 C

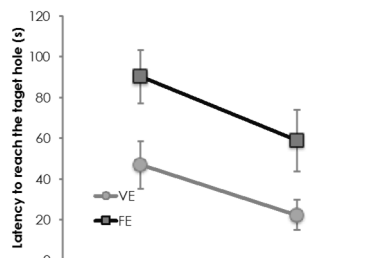
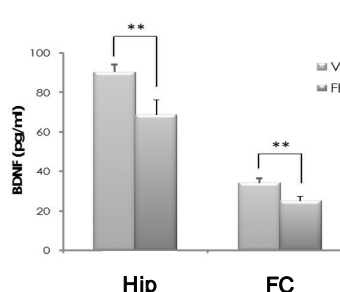


図 D



【習慣的な運動を行った新規 AD モデルマウスの認知機能について検討】(本研究結果から発想)

神経細胞内だけに アミロイドが蓄積する新規アルツハイマー病モデルマウス (産業技術総合研究所: 落石知世博士作成) を用いて、物体再認課題による記憶テストを行なった結果、Tg マウスは野生型マウスに比べ有意に物体再認記憶が障害されていた (論文報告済み)。現在はこのマウスに運動を行わせ、認知機能障害に対する効果を調べている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ochiishi Tomoyo, Kaku Masami, Kiyosue Kazuyuki, Doi Motomichi, Urabe Takao, Hattori Nobutaka, Shimura Hideki, Ebihara Tatsuhiko	4. 巻 9
2. 論文標題 New Alzheimer ' s disease model mouse specialized for analyzing the function and toxicity of intraneuronal Amyloid oligomers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17368-17382
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-019-53415-8">https://doi.org/10.1038/s41598-019-53415-8</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 角正美、角友起、八島康太郎、落石知世、永田博司
2. 発表標題 Voluntary Exercise Facilitates Acquisition and Reversal Learning of Rats in the Barnes Maze Task.
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tomoyo Ochiishi, Masami Kaku, Kazuyuki Kiyosue, Motomichi Doi, Tatsuhiko Ebihara
2. 発表標題 Characteristic features of new Alzheimer ' s disease model mouse that express amyloid oligomer intraneuronally.
3. 学会等名 第42回日本分子生物学学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----