

平成 23年 5月 31日現在

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2007 ~2009

課題番号：19208030

研究課題名 (和文) 海馬ニューロン新生を介した認知症に対する先端再生工学研究

研究課題名 (英文) The Role of Adult Neurogenesis in Preventing the Onset of Dementia

研究代表者

久恒 辰博 (HISATSUNE TATSUHIRO)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：10238298

研究成果の概要 (和文)：

成体海馬における新生ニューロンの数は、特定の生活習慣（運動や学習）や病態時（脳梗塞や癲癇）に増加することが知られていた。そして、この仕組みを通じて、海馬回路のはたらきを維持することにより、認知症の発症を食い止めることが期待されている。そこで、これまでに、脳血管性認知症の動物モデル（サル、ラット、マウス）を用いて、どのような仕組みにより、新生ニューロンの数が増加するかについて、検討を進めてきた。また、アルツハイマー病型認知症の動物モデルにおいても、ニューロン新生がどれほど変動しているかに関して調査された数編の発表論文はあるものの、いまだに統一見解は得られていない。そこで、本研究では、認知症の病態解明とその予防を目指して、成体海馬のニューロン新生に関する研究を行った。実験には、げっ歯類の脳血管性認知症ならびにアルツハイマー病型認知症モデルを使用した。まずは、脳血管性認知症のラットモデルにおいて、空間記憶機能が低下することを認めた。そして、この際、同時にニューロン新生が活性化していることも突き止めた。また、アルツハイマー病モデルとして使用したプレセニリン・アミロイド蛋白ダブル変異マウスにおいては、生後18ヶ月令において、老人斑が蓄積していることを確認し、この時期には、空間記憶機能が低下することを認めた。このモデルマウスにおける海馬ニューロン新生の動態についても解析を行ったが、コントロールマウスである野生型と比較しても、統計学的に有意差を持って変化していることは見出されなかった。しかしながら、認知症治療薬の一つであるドネペジルによって、海馬ニューロン新生を活性化できることが新たに見出された。

研究成果の概要 (英文)：

New neurons are generated in the dentate gyrus of the hippocampal formation from neural stem cells, and contribute to the maintenance of hippocampal plasticity. The number of new neurons decreases as age progresses, but neural stem cells are reserved even in aged animals and elderly people, suggesting the contribution of adult neurogenesis on the maintenance of hippocampal function. There is a hypothesis that donepezil can maintain hippocampal plasticity through the promotion of new neuron generation. Donepezil is a leading medication for Alzheimer disease, but its mechanism for treating Alzheimer disease has not been fully clarified yet. To know roles of donepezil in maintaining and/or enhancing hippocampal plasticity, we evaluated the effect of donepezil on regulation of adult hippocampal neurogenesis, and discovered that donepezil promotes the genesis of new neurons even in aged animals.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	18,200,000	5,460,000	23,660,000
2008年度	9,800,000	2,940,000	12,740,000
2009年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
年度			
年度			
総計	35,800,000	10,740,000	46,540,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：細胞工学・神経幹細胞

### 1. 研究開始当初の背景

「人間の脳細胞は、子供のころにピークに達した後に、年をとるとともに衰える一方である」と考えられてきた。ところが、記憶を司る海馬において、どんなに年をとっても新しくニューロンが生み出されていることが発見され、この現象「海馬ニューロン新生」が大いに注目され始めた。新生ニューロンは、海馬回路に組み込まれ、記憶形成において重要な働きを果たすことが立証され、驚くべきことに、認知症患者の脳内において、海馬新生ニューロンの数が顕著に増加していることが示唆された。認知症患者においては失われていく脳機能を少しでも補填するために新生ニューロンが機能している可能性が推定された。本研究においては、認知症に対する新しい再生工学的な治療法を開発することを最終目標として、海馬ニューロン新生の活性化に関する研究を進めた。

### 2. 研究の目的

2005年に、学習行動中の神経回路刺激（海馬シータ波）によって、海馬新生ニューロンの数が増加する仕組みを世界に先駆けて解明し、著名な学術雑誌である「NEURON」誌に公表し、学術的に高い評価を得た。そこで、本研究において、1)海馬シータ波とニューロン新生の関係についてミクロ・マクロの両レベルでさらに解析を進め、2)認知症動物モデルを用いてシータ波によりニューロン新生を高めることでどの程度海馬回路が再生するかについて検証し、3)最後に認知症患者死後脳サンプルを用いた前臨床研究を実施することにより、動物試験で得られた成果を臨床的に応用することを目指した。

### 3. 研究の方法

海馬新生ニューロンの数を増加させる方法を体系的に見つけていくために、新生ニューロンの母細胞となる成体神経幹細胞の増殖・分化機構の解析を行った。方法としては、神経幹細胞の生理応答機構を知るために、パッチクランプ電流記録法を用いた。

認知症におけるニューロン新生と海馬回路の再生について調べるために、動物認知症モデル（脳血管障害型ならびにアルツハイマー型）を用いた。アルツハイマー病モデルマウス（生後わずか半年で脳内に老人斑を出現する超早期発症型）を米国ジャクソン研究所より導入し、研究室内で繁殖の後、研究に供した。この認知症モデルにおいて、薬剤投与や生活習慣改善によりシータ波刺激を強化することで、海馬ニューロン新生を活性化できるかどうかを調査した。

ヒトサンプルについては、老人総合研究所の村山繁雄博士から、認知症患者の死後脳サンプルを分与していただき、研究を行った。

### 4. 研究成果

運動や学習行動などにより成体海馬のニューロン新生の程度が高まることがわかってきた。これまでに実施された多くの研究では、脳血管系を介した細胞栄養因子の寄与や、海馬における神経栄養因子の増減を対象として実験が行われてきた。しかし、我々は、運動や学習行動によって海馬回路の活動性が変化することに着目した。例えば、運動や学習に応じて海馬回路内にシータ波と呼ばれる特徴的な脳波活動が出現する。シータ波の成因については、いまだ不明な点が多いが、中隔野に位置するコリン性ニューロンやGABA性ニューロンが脳波の発生に深く寄与していると考えられている。本研究において、

神経伝達物質（アセチルコリンや GABA）を介して、神経幹細胞の増殖や分化が調節されていることについて、その仕組みを含め明らかにした。まず、神経幹細胞に対する海馬神経回路からの入力刺激について解析を行った。

type-2 細胞については、海馬神経回路から GABA 性入力を受け取っていることを見出した。そこで、脳スライスを用いて、運動や学習行動の際に見られる特殊な脳波（シータ波）で海馬回路を刺激した。その結果、このシータ波刺激により GABA ニューロンが興奮し、シナプス様結合を経て type-2 細胞に電流応答が現れることが示された。この GABA 入力により脱分極した type-2 細胞では、細胞内へのカルシウム流入が惹起され、ニューロンへの分化を促す転写因子（NeuroD）の発現が増加した。またマウスへの投薬により GABA 刺激を強めることで、type-2 細胞から新生ニューロンへの分化が促進された。一連の結果より、海馬神経回路から放出される GABA が type-2 細胞に作用し、新生ニューロンへの分化を促すシグナルとして働いていることが判明した。さらに、新生ニューロン分化後の生存にアセチルコリンや GABA が寄与していることも見出した。

一方、type-1 細胞についても、海馬スライス内で貫通線維を刺激すると、カルシウム応答を示すことがわかった。この際、貫通線維部分でグルタミン酸の放出があることも別の実験からわかった。そこで、type-1 細胞のグルタミン酸に対する応答性を調査したところ、type-1 細胞の中には、代謝型グルタミン酸受容体 5 型（mGluR5）を介して応答するものがあることが判った。脳血管性認知症の動物モデルの場合、神経幹細胞の増殖が亢進することが知られていたが、その仕組みとして、今回見出した代謝型グルタミン酸受容体 5 型（mGluR5）を介した神経幹細胞の活性化が関わっていることが強く推定できた。

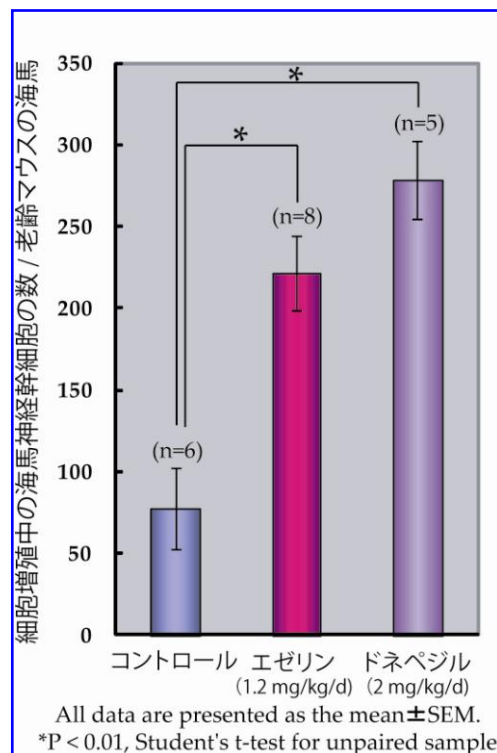
海馬ニューロン新生は、加齢により激減することが知られており、加齢による認知機能低下の原因の一つになるのではないかと議論されていた。我々は、老齢カニクイザルなどを用いた解析から加齢によっても type-1 細胞の数はあまり減少しないがその増殖や分化・成熟が低下していることを発見した。

これまでに、加齢によるニューロン新生の低下には、運動が効果的であることが示されてきたが、その仕組みの一つとして、海馬回路の神経活動亢進による神経幹細胞（type-1 細胞と type-2 細胞）の運命決定調節であることがわかってきた。シータ波活動と type-1 細胞の関係性を調べるために type-1 細胞がアセチルコリンに対して、応答性を有しているかについて調査した。

成体の海馬スライスを用いたカルシウムイメージング解析の結果、ほぼすべての

type-1 細胞は、アセチルコリン投与によって活性化できることがわかった。老齢マウスを用いた運動実験において、中隔野のコリン性ニューロンを免疫毒で破壊すると運動による type-1 細胞の増殖促進が阻害されることも判明した。

さらに、老齢マウス（24 ヶ月令以上）の type-1 細胞（成体神経幹細胞）はアセチルコリンによって活性化できることがわかった。老齢マウスにアセチルコリンエステラーゼ阻害剤ドネペジル（エーザイ社より供与）を投与することによって、増殖中の type-1 細胞数が増加することが見出された。ドネペジル投与により新生ニューロンが増加することで、認知機能が改善することが推定できた。



図の説明：ドネペジル投与による老齢マウス神経幹細胞の増殖亢進

24 ヶ月令の老齢マウスにドネペジルならびにエゼリン（同じようなはたらきを持つアセチルコリンエステラーゼ阻害薬）を3日間投与し、解剖により海馬を取り出した。コントロールとしては未投与の老齢マウスを使用した。その後、免疫染色により分裂中の神経幹細胞を標識した後、顕微鏡下で計測した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

1) Itou Y; Nochi R; Kuribayashi H; Saito Y; Hisatsune T “Cholinergic activation of hippocampal neural stem cells in aged dentate gyrus” *Hippocampus*, 21, 446-459 (2011) 査読有

2) Aizawa K; Ageyama N; Terao K; Hisatsune T “Primate-specific alterations in neural stem/progenitor cells in the aged hippocampus” *Neurobiol. Aging*, 32, 140-150 (2011) 査読有

3) Chin Y; Sato Y; Mase M; Kato T; Herculano B; Sekino M; Ohsaki H; Ageyama N; Ono F; Terao K; Yoshikawa Y; Hisatsune T “Transient decrease in cerebral motor pathway fractional anisotropy after focal ischemic stroke in monkey” *Neurosci. Res.*, 66, 406-411 (2010) 査読有

4) Sato Y; Chin Y; Kato T; Tanaka Y; Tozuka Y; Mase M; Ageyama N; Ono F; Terao K; Yoshikawa Y; Hisatsune T “White matter activated glial cells produce BDNF in a stroke model of monkeys” *Neurosci. Res.*, 65, 71-78 (2009) 査読有

5) Aizawa K; Ageyama N; Yokoyama C; Terao K; Hisatsune T “Age-Dependent Alteration in Hippocampal Neurogenesis Correlates with Learning Performance of Macaque Monkeys” *Exp. Animals*, 58, 403-407 (2009) 査読有

6) Tanaka Y; Tozuka Y; Takata T; Shimazu N; Matsumura N; Ohta A; Hisatsune T “Excitatory GABAergic Activation of Cortical Dividing Glial Cells” *Cerebral Cortex* 19, 2181-2195 (2009) 査読有

7) Ide Y; Fujiyama F; Okamoto-Furuta K; Tamamaki N; Kaneko T; Hisatsune T “Rapid integration of young newborn dentate gyrus granule cells in the adult hippocampal circuitry” *Eur. J. Neurosci.*, 28, 2381-2392 (2008) 査読有

[学会発表] (計 10 件)

下記は、すべて研究代表者が発表を行った。

① 「神経再生を活用した認知症の予防・治療に関する研究」 第5回霊長類医学科学フォーラム (独) 医薬基盤研究所主催 つくば 2009年12月10日

② 「認知症に対する神経再生を目指して」 動物細胞工学サイエンスカフェ 日本動物細胞工学会 (JAACT) つくば 2009年7月24日

③ 「海馬ニューロン新生と神経再生戦略」 日本神経化学会－神経組織の成長・再生・移植研究会 連携オープンシンポジウム 伊香保 2009年6月21日

④ “Hippocampal circuits promote the generation of adult born neurons” 31st Meeting of the Japan Neuroscience Society, Tokyo 2008年7月11日

⑤ “Brain functions and high-field MRI” in ULTRA-HIGH FIELD WHOLE-BODY MRI: Concepts and Applications French-Japanese Workshop in NeuroSpin, Saclay (France) 2008年5月20日

⑥ “Activity-dependent regulation of Adult Hippocampal Neurogenesis” Seminar Series in Institute for Regeneration Medicine at UCSF, San Francisco (U.S.A.) 2008年1月12日

⑦ 「Wisdom of Age: 幸せ脳の作り方ー脳は死ぬまで成長するー」 東京大学総括プロジェクト機構 ジェロントロジー寄付研究部門主催 (一般向け講演会) 東京都 2007年12月10日

⑧ “Adult hippocampal neurogenesis” The Hippocampal Network Forefront –Dynamic reorganization and synaptic plasticity, 30th Meeting of the Japan Neuroscience Society, Yokohama 2007年9月11日

⑨ 「成体海馬ニューロン新生」 特定領域研究「細胞感覚」平成19年度夏の班会議 葉山町 2007年8月12日

⑩ “Activity-dependent regulation of adult hippocampal neurogenesis” Neurogenesis 2007, Tokyo 2007年5月16日

〔図書〕（計2件）

①久恒辰博 「学習、可塑性、成体ニューロン新生」 シリーズ脳科学4 脳の発生と発達 東京大学出版会 p225-262(2008)

②久恒辰博 「脳は若返る」新潮社 170 ページ (2008)

〔その他〕

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/hisatsune-lab/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

久恒 辰博 (HISATSUNE TATSUHIRO)  
東京大学・大学院新領域創成科学研究科・  
准教授  
研究者番号：10238298

### (2) 研究分担者

研究者番号：

### (3) 連携研究者

研究者番号：

### (4) 研究協力者

研究者番号：