

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11362

研究課題名(和文) アミロイド オリゴマーによる認知機能障害に対する習慣的運動の効果の作用機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism of effects of habitual exercise on cognitive dysfunction induced by amyloid beta oligomers

研究代表者

落石 知世 (OCHIISHI, TOMOYO)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：30356729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：運動が高齢者の認知機能を改善することから、アルツハイマー病(AD)患者における習慣的な運動は新たな治療的介入の一環として注目を集めている。ADの発症原因として、アミロイドタンパク質(A β)オリゴマーが認知機能の低下に関与することが示唆されている。そこで、神経細胞内にA β オリゴマーのみを発現するA β -GFPマウスを開発しその表現型を解析し、A β オリゴマーが引き起こす認知機能障害が習慣的な運動によって変化するのかを解析した。その結果、A β -GFPマウスの認知機能は運動によって顕著に改善した。またDNAマイクロアレイの結果、シナプス関連タンパク質の遺伝子などに運動負荷による変動が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

A β オリゴマーを神経細胞内にのみ発現するA β -GFPマウスは重篤なアルツハイマー病(AD)の病理学的所見を示さないが、生後2-3ヶ月齢で認知機能が低下することから軽度認知障害(MCI)のモデルとして使用できる。このモデルマウスを用いた習慣的な運動による、認知機能改善効果の解析系はMCIや発症初期のAD患者において運動の効果のメカニズムについて新たな知見をもたらすことが可能である。また、AD治療の非薬物的介入のみでなく、運動による効果を高める物質等、薬物的治療法の開発にも繋がること期待される。高齢化社会において、医療費や介護の問題などの社会問題解決に向けて、発症予防という観点からも意義がある

研究成果の概要(英文)：It is well known that habitual exercise improves cognitive function in the elderly. Therefore, habitual exercise is attracting attention as a part of prevention against the onset of AD or as a new therapeutic intervention. However, the mechanism by which habitual exercise can improve the efficiency of synaptic transmission is unknown. Recently it suggested that oligomers of intracellular amyloid (A β) are strongly cytotoxic, and play crucial roles in the cognitive function in AD. To investigate the effects of the voluntary exercise loading in early stage of AD, we used A β -GFP transgenic mouse that express fusion protein of A β and GFP that consisting of A β oligomers inside neurons. After 2 months of voluntary exercise loading to this mouse with a running wheel, the memory deficits were significantly improved. In addition, a comprehensive DNA microarray analysis of genes whose expression fluctuated before and after exercise revealed changes in synaptic-related proteins.

研究分野：神経細胞生物学

キーワード：アルツハイマー病 アミロイド タンパク質 トランスジェニックマウス オリゴマー シナプス 運動 認知機能

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

ヒトは加齢とともに記憶力や学習効率が低下するが、運動によって高齢者の認知機能が改善されることはよく知られている。アルツハイマー病 (AD) 患者でもこれは例外ではないことから、薬による AD 治療法が未だに確立しない中、習慣的な運動は新たな治療的介入の一環として注目を集めている。AD の発症原因として、神経細胞から細胞外に分泌された A β が異常凝集し老人斑を形成することに起因するとするアミロイド仮説が提唱されてきた。しかし最近、遺伝子改変動物で細胞外 A β の沈着以前に神経症状を呈する事例が報告され、またヒトでも、細胞内には A β 数分子が重合した A β オリゴマーが蓄積するが老人斑の形成は認められない AD 患者 (大阪変異) が発見されたことから、細胞外での A β の沈着より細胞内の A β オリゴマーがより強い毒性を持つことが示唆されている。大阪変異のモデルマウスでは、A β オリゴマーが細胞内に蓄積するにつれてシナプス機能や空間認知機能が低下するため、従来考えられていたオリゴマーの細胞外からのシナプス攻撃だけではなく、細胞内からの作用も重要である可能性が出て来た。一方、個体に対する運動は脳内の血流量を増加し、シナプス活動を活発にするとともに海馬歯状回の神経新生を促進し、これが認知機能の改善に繋がるといわれている。A β オリゴマーは神経新生に対し促進作用を示すという報告と、逆に抑制作用を示すとする報告があり、この作用の違いは A β の重合状態に依存する可能性が高いと考えられるが、実際に細胞内の A β の分子動態を観察するのは非常に困難であり、また、習慣的な運動が A β オリゴマーによるシナプス障害や認知機能障害に及ぼす効果のメカニズムについては全くわかっていない。

2. 研究の目的

細胞内 A β オリゴマーが引き起こす認知機能障害が習慣的な運動によってどのように変化するか、その変化を引き起こす生体内の因子を解析し作用機構を解明するとともに、運動負荷によって細胞内の A β オリゴマーの分子動態がどのように変化するかを解析することを目的とする。

3. 研究の方法

これまでの研究で、A β_{1-42} オリゴマーの分子動態を GFP を指標として生きた細胞内で可視化できるヒト A β_{1-42} と GFP の融合タンパク質を考案した。この融合タンパク質は NMR・電子顕微鏡・蛍光相関分光分析を用いた解析の結果、生体内及び生体外で 2 量体から 7 量体程度のオリゴマーのみしか形成しないことから、これを用いて A β -GFP マウスを開発した。この新規モデルマウスの神経細胞内では A β 数分子が重合したオリゴマーのみしか形成されず、神経細胞内部に存在する A β オリゴマーの機能解析に適している。そこで、A β -GFP マウスの表現型を生化学的、形態学的、電気生理学的、行動学的に解析した。さらに、回転かごによる 7 週間の自発的な習慣的運動を負荷し、記憶・学習能力について行動学的解析を行うとともに、習慣的な運動によって変化する DNA や代謝物質を DNA マイクロアレイやメタボローム解析により調べた。また A β オリゴマーと相互作用するタンパク質を質量分析法で解析した。

4. 研究成果

(1) 新規 AD モデルマウス (A β -GFP マウス) の表現型の解析

A β -GFP マウスは A β -GFP 融合タンパク質を神経細胞内のみ発現し、細胞外には分泌しない。そのため、老齢マウスでも老人斑は認められない。また、神経細胞死も観察されず、脳萎縮を起こさない (図 1)。しかし、神経原線維変化は観察されないものの、加齢と共にタウのリン酸化が亢進することが明らかとなった。

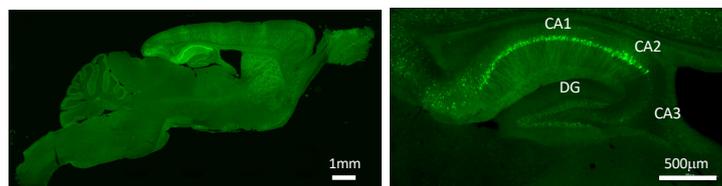


図 1 A β -GFPマウスの脳

また、電気生理学的解析では長期増強が顕著に減衰するとともにスパインの形態変化が観察された (図 2)。

更に、A β -GFP マウスの新奇物体認識テストでは、同腹の non-Tg に比べて A β -GFP マウスの認知機能が若い個体で既に顕著に低下し、受動的回避テストにおいても参照記憶が低下していることが明らかとなった。またスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の活性が顕著に低下していることも明らかとなった (図 3)。

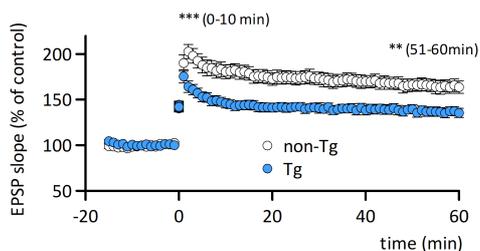


図2 Aβ-GFPマウスではLTPが減衰する

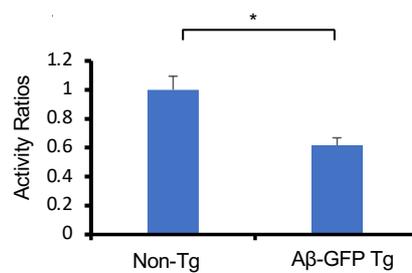


図3 SOD 活性
Aβ-GFPマウスは酸化ストレスに晒されている

(2) Aβ-GFP マウスを用いた回転かごによる自発的な運動による認知機能の変化の解析

回転かごによる自発的な運動を約2ヶ月間行い、新奇物体認識テストを行った。その結果、運動を行ったAβ-GFPマウスは行わなかった群と比較して認知機能が有意に改善された。この結果をもとに、それぞれの群の海馬組織を用いてDNAマイクロアレイを行った。その結果、non-Tgでは発現が増加しているが、Aβ-GFPマウスではそれが低下し、運動を負荷すると増加する遺伝子や、その逆のパターンで、約40種類ほどの遺伝子に変動が認められた。特に免疫系に関与する遺伝子に発現変動が多く認められた。またシナプス関連タンパク質も変動した。一方、メタボローム解析の結果、顕著な違いは認められなかった。Aβオリゴマーと相互作用するタンパク質を質量分析法により解析した結果、膜タンパク質を中心に、多数のタンパク質と直接結合することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ochiishi Tomoyo, Kaku Masami, Kajsongkram Tanwarat, Thisayakorn Krittiya	4. 巻 26
2. 論文標題 Mulberry fruit extract alleviates the intracellular amyloid oligomer induced cognitive disturbance and oxidative stress in Alzheimer's disease model mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 861 ~ 873
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12889	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 該当する

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
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-53415-8	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4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 落石 知世、角 正美、Kajsongkram Tanwarat, Thisayakorn Krittiya
2. 発表標題 Mulberry fruit extract alleviates cognitive dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease expressing amyloid oligomers only in neurons.
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 落石知世、角正美、Tanwarat Kajsongkram, Krittiya Thisayakorn
2. 発表標題 The cognitive disturbances and oxidative stress that induced by the intracellular amyloid oligomer is alleviated by the extract of mulberry fruits.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ochiishi Tomoyo
2. 発表標題 A new Alzheimer's disease model mouse for amyloid oligomer analyzes
3. 学会等名 XXVII Annual meeting of Indian Academy of Neuroscience (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

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

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

産総研公式HP https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2019/pr20191122/pr20191122.html 産総研公式HP(バイオメディカル) https://unit.aist.go.jp/bmd/
--

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
研究分担者	清末 和之 (Kiyosue Kazuyuki) (50356903)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究グループ長 (82626)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	海老原 達彦 (Ebihara Tatsuhiko) (00344119)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員 (82626)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関