

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：35309

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19422

研究課題名(和文) 高齢マウスを用いた認知機能低下を反映するバイオマーカー研究

研究課題名(英文) interneurons and extracellular matrix in the central nervous system of aged mouse

研究代表者

上野 浩司 (Ueno, Hiroshi)

川崎医療福祉大学・医療技術学部・准教授

研究者番号：60725068

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：高齢化によって認知機能が低下したマウスと低下していないマウスの脳における抑制性介在ニューロンと細胞外マトリックスの組織学的な変化の詳細は不明瞭なままである。特にPV陽性ニューロン周囲に選択的に発現するとされている特殊なECM構造物である神経細胞周囲網の高齢化による組織学的な変化の詳細も不明なままである。老化促進モデルマウス(SAMマウス)の生後12カ月齢の脳を使用した。SAMP8、P10マウスでは行動異常が見られたと同時に、抑制性介在ニューロンと細胞外マトリックスの発現に異常がみられた。本研究で見られた海馬における抑制性介在ニューロンの変化やECMの変化が関連している可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は高齢化によるマウスの行動異常と海馬の細胞外マトリックス分子と抑制性介在ニューロンの変化の関係性の一端を明らかにしたものであり、高齢化の認知機能低下の原因解明とその治療方法と予防方法の確立に寄与している。高齢マウスの脳の組織学的な変化を報告した研究はまだ少なく、今回の研究成果が認知機能低下を早期に発見するマーカーの礎になる可能性が高い。

研究成果の概要(英文)：The details of the histological changes in inhibitory interneurons and extracellular matrix in the brains of mice with and without cognitive decline due to aging remain unclear. In particular, the details of histological changes due to aging of the perineuronal network, which is a special ECM structure that is thought to be selectively expressed around PV-positive neurons, remain unclear. A 12-month-old brain of an aging-accelerated model mouse (SAM mouse) was used. Behavioral abnormalities were observed in SAMP8 and P10 mice, and at the same time, abnormalities were observed in the expression of inhibitory interneurons and extracellular matrix. Changes in inhibitory interneurons and changes in ECM in the hippocampus seen in this study may be related.

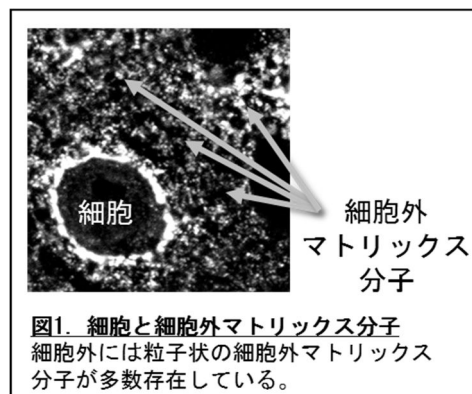
研究分野：神経科学

キーワード：高齢化 マウス 認知機能 行動解析 抑制性介在ニューロン 細胞外マトリックス 神経細胞周囲網

1. 研究開始当初の背景

高齢化による認知機能低下は、多くの哺乳類に共通する生理的現象である。しかし、QOL の低下を招くほどの認知機能低下は病的である。しかし、なぜ高齢化によってこれらの認知機能低下が生じるのか、また、特定の脳領域(前頭前皮質、海馬、嗅内皮質)でのみ機能異常が生じるのかは未だ不明のままである。近年まで、高齢化によって脳の神経細胞が喪失するために認知機能が低下すると考えられてきたが、詳細な研究の結果、神経細胞の喪失は認知機能を障害するほどのものではないことが分かってきている。そのため、加齢による認知機能低下は神経細胞そのものの機能異常か、他の要因によることが明確となっている。

脳皮質における細胞外マトリックスは、他の臓器と同様にヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン、リンクプロテイン、糖タンパク質などから構成されている。脳においても水分を保持し、臓器の形を保つ機能を持っているが、とりわけ脳では発達期に神経細胞の分化や移動の誘導、神経可塑性の統制、酸化ストレスから神経細胞を保護する機能をもつことが示されている(図1)。しかし、脳の発達期、高齢期における細胞外マトリックス分子の各構成要素の発現過程や量的変化は現在も明らかになっていない。



認知機能障害のバイオマーカーは、精神神経疾患のバイオマーカーと同様、腫瘍マーカーのように特定のものが未だ見つかっていない。精神神経疾患の原因解明が出来ていないこと、精神疾患の研究より腫瘍の研究の方が盛んであることなど様々な原因があるが、精神神経疾患は5大疾病の1つであり、患者数も増加傾向にあり早急な対策が必要となっている。精神神経疾患のバイオマーカーを発見するためにはまず組織学的所見、生化学的所見を明らかにする必要がある。今までの研究の結果、高齢化による認知機能低下を示す神経細胞の形態的異常、数的異常は見られないことが分かっている。これらの報告は神経細胞のみに注目せず脳全体に着目して解析する必要性を示唆している。

過去の研究では、中枢神経系における細胞外マトリックスは脊髄などでは注目されてきたが、大脳皮質や海馬においてはあまり注目されてこなかった。高齢化によって皮膚や軟骨等で細胞外マトリックスが変化することは知られているが、中枢神経系では不明のままである。

細胞外マトリックス分子は神経細胞のシグナル伝達、神経回路の維持、樹状突起や軸索の構造維持など、神経細胞にとっては必須のものである。この細胞外マトリックス分子の高齢化による変化に着目し、高齢化による脳機能障害である認知機能障害とどのような関係性をもつかを包括的に検討し、認知機能低下と細胞外マトリックス分子の変化量の関係性を把握して組織学的検査、生化学的検査の実施まで繋げていく必要がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、高齢化社会として大きな問題となりつつある認知症の症状経過予測と認知機能低下のレベルを組織学的解析によるマーカーを探索することで、認知症の症状と病態基盤を相互に理解し、それを踏まえた検査方法、治療方法や予防方法の確立といった臨床研究に繋げる事である。

【研究目的】

- ・高齢化による認知機能低下経過を理解するためにマウス加齢過程の認知機能を検討する
- ・認知機能低下と細胞外マトリックス分子の量的変化、構成要素変化の関係性を理解する
- ・認知機能低下と脳領域特異的な異常を明確にする
- ・認知機能低下と血清中と脳内の炎症状態の関係性を理解する

【意義と発展性】

- ・認知機能低下を調べる検査開発に繋がる
- ・高齢化による認知機能低下の治療方針や予防方法の知見が得られる

3. 研究の方法

(1) 生後1年齢の老化促進モデルマウスの行動解析

生後1年齢に達した老化促進モデルマウス(SAMP8, P10)行動実験を行う。実験は空間認知機能(Y迷路試験), を中心に高架式十字迷路試験, オープンフィールド試験, 明暗往来試験, 受動的回避試験などを行う。実施後, 行動実験解析装置ソフトウェア ANY-MAZE を使用して解析する。実験結果は統計学的解析を行い, いずれの結果も5%未満をもって有意差ありと判定する。

(2) 生後1年齢の老化促進モデルマウスの行動解析

行動実験終了後, マウスから無作為に10匹ずつ選び4%パラホルムアルデヒドで灌流固定を行う。マウス脳を取り出し, 組織切片を作成する。本研究では細胞外マトリックス分子をレクチンや抗体を用いて染色する。

(3) データ解析と成果発表

行動実験結果, 組織学的解析結果の相関関係を解析する。統計学的解析後, いずれの結果も5%未満をもって有意差ありと判定する。

4. 研究成果

老化促進モデルマウス SAMP8, P10 はコントロールマウスと比較して体重の変化(図.1,2), 直腸温, 温度感受性, 前肢の握力, 運動学習で異常が見られた。さらに, 高架式十字迷路試験(図3,4), 明暗往来試験, オープンフィールド試験, Y迷路試験, 受動的回避試験でコントロールマウスと比較して異常行動を示した。

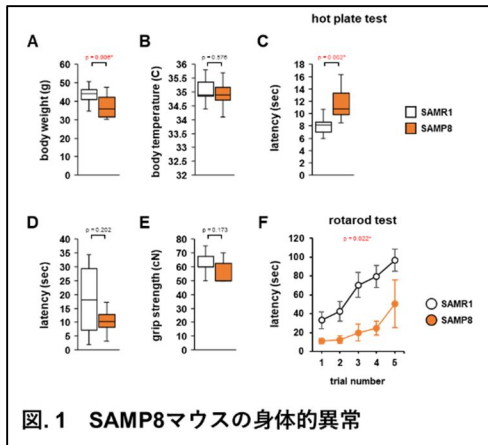


図.1 SAMP8マウスの身体的異常

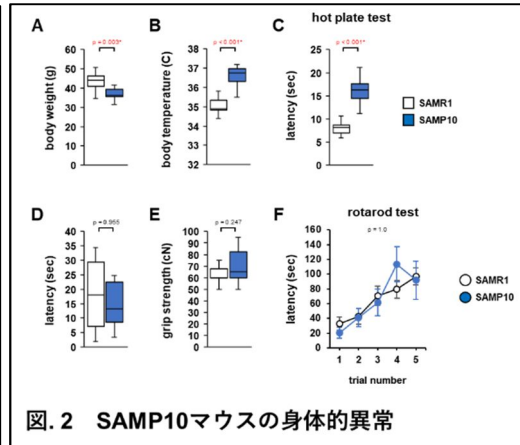


図.2 SAMP10マウスの身体的異常

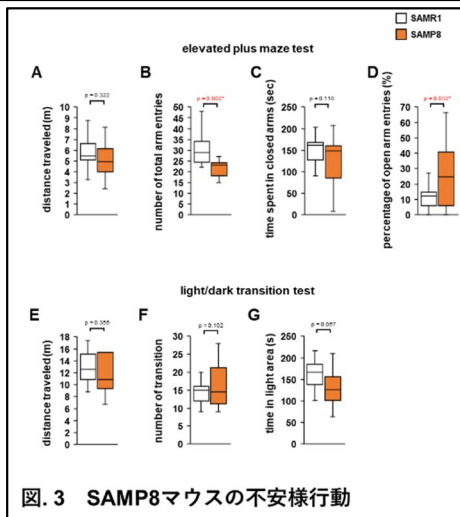


図.3 SAMP8マウスの不安様行動

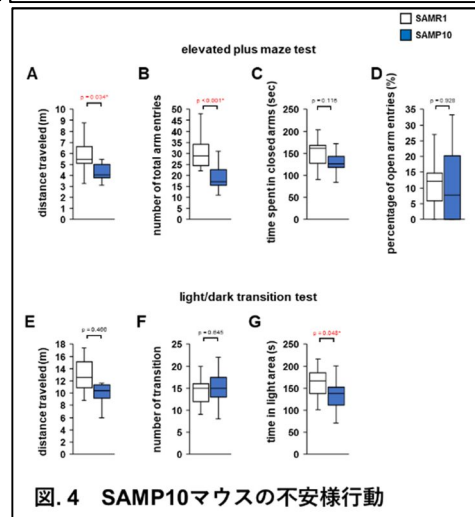


図.4 SAMP10マウスの不安様行動

老化促進モデルマウス SAMP8, P10 では海馬における抑制性介在ニューロン(特に PV 陽性ニューロン数)はコントロールマウスと比較して減少していた。さらに, 老化促進モデルマウス SAMP8, P10 ではコントロールマウスと比較して WFA 陽性神経細胞周囲網数が増加していた。

老化促進モデルマウスでは認知機能に異常を示したが, 本研究で見られた海馬における抑制性介在ニューロンの変化や細胞外マトリックスの分子の変化が関連している可能性がある。今後, 海馬における細胞外マトリックス分子の生理学的意義の解明が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Ueno H, Surmitsu S, Okamoto M, Takahashi Y, Ishihara T
2. 発表標題 Expression of Extracellular Matrix Molecules in the Mouse Primary Somatosensory Cortex
3. 学会等名 日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石黒 美南、高橋 優、石原 武士、上野 浩司
2. 発表標題 老化促進モデルマウス（SAM）の海馬における抑制性介在ニューロンと細胞外マトリックス
3. 学会等名 日本実験動物学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究者ページ https://researchmap.jp/hiroshiueno/

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

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
---------	---------