

機関番号： 32620
 研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21591120
 研究課題名 (和文) アルツハイマー病の発症、経過における閉塞型睡眠時無呼吸症候群の関与
 研究課題名 (英文) The effect of chronic nocturnal intermittent hypoxia in in the brain of Alzheimer's model mice.
 研究代表者
 塩田 智美 (SHIOTA SATOMI)
 順天堂大学・医学部・助教
 研究者番号：70449073

研究成果の概要 (和文)：アルツハイマー病のモデルマウスへの、睡眠時無呼吸症候群条件である間欠的低酸素 (IH) 暴露により、非暴露群に比べマウスの脳の可溶画分の A β 42/A β 40 が有意に上昇することを明らかにした。また、アミロイド前駆タンパク過剰発現細胞への IH 暴露により細胞基質の A β 42/A β 40 が上昇することを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：

We showed that the ratio of amyloid β protein subtypes A β 42 to A β 40 (A β 42/A β 40) in the brain of Alzheimer's model mice increased through chronic intermittent hypoxia which is pathophysiologically characteristic of obstructive sleep apnea. Furthermore, compared to room air condition, intermittent hypoxia exposure induced the significant increase of A β 42 levels and A β 42/A β 40 ratio A β 42/A β 40 in conditioned medium of the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y that stably expressing wild-type amyloid precursor protein. Hypoxic inducible factor-1 α (HIF-1 α) was not activated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,111,000	4,810,000

研究分野：呼吸器内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：睡眠時無呼吸症候群、アルツハイマー病、アミロイドベータ 4 2

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) を含む認知症は近年、神経変性疾患の第 1 位でありその根本的治療は急務を要する。AD は病理学的には大脳皮質の老人斑 (β アミロイドの沈着) の沈着とともに、脳組織の萎縮が認められ、特に海馬は他部位

と比較して早期から萎縮が目立ち、海馬の神経細胞脱落により再生能力低下が生じ、臨床的には海馬の主たる機能である記憶力障害を導く。一方閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (Obstructive Sleep Apnea Syndrome: OSAS) は、睡眠中の頻回の呼吸停止により生じる間欠的低酸素と睡眠構築の障害によ

り、日中の過度の眠気、精神生理機能の障害、心血管系疾患、メタボリックシンドロームに代表される代謝内分泌疾患など様々な身体疾患と関連する。4 週間の持続的な間欠的低酸素暴露マウスは、海馬の神経細胞の機能の指標となる、N-アセチルアスパラギン酸/クレアチン・クレアチンリン酸比 (NAA/Cr) の有意な低下を生じたが、持続的な低酸素暴露群においては、認められなかった。また、慢性虚血や窒息モデル等でアルツハイマー病関連遺伝子である *presenilin* の発現変化が指摘されている。小規模な研究であるが、23 人の健常コントロール群での OSAS の合併が 4.3%である一方、21 人の AD 群では OSAS を 42.9%と有意に高率に認め、さらに OSAS の重症度の指標である単位時間あたりの無呼吸低呼吸指数が、AD の重症度とも有意に相関を認めた事が報告されている。さらに 39 人の OSAS 合併の AD 患者において CPAP を 6 週間施行することにより日中の眠気が有意に改善した事が報告されている。これらの過去の報告から、AD と OSAS の各々の発症や経過において、相互の密接な関係が示唆される。しかしながら、両疾患がどのように関与しているのかを具体的に臨床検討した論文はない。

2. 研究の目的

閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (OSAS) の病態はアルツハイマー病 (AD) の臨床経過に関与するという仮説をたて AD の発症に関与する Amyloid- β ($A\beta$) の産生に、OSAS の主たる病態である間欠的低酸素 (IH) がどのように関与するのか、*in vivo*、*in vitro* 実験により検討した。

3. 研究の方法

(*in vivo* 実験に関して)

家族性アルツハイマー病関連遺伝子のトランスジェニックマウス (トリプル Tg マウス) を用いた。間欠的低酸素暴露チャンバーを使用し、酸素濃度 5%と 21%を 10 分間隔、1 日に 8 時間、8 週間飼育した。認知機能評価には、Y 迷路とモリス水迷路の 2 つの方法を用いた。病理、生化学的評価には、マウスの脳を用いた。

(*in vitro* 実験)

ヒトアミロイド β 前駆体タンパク質を遺伝子導入した neuroblastoma SH-SY5Y cells を用いた。低酸素チャンバーを使用し、酸素濃度 1%を 10 分間、21%を 20 分間で 1 サイクルとし、8 サイクル施行した。

4. 研究成果

8 週間の間欠的低酸素暴露をうけたアルツハイマー病モデルマウスの脳抽出液の $A\beta$ 42 と $A\beta$ 42/40 は、非暴露群に比べて有意に上昇した ($p < 0.01$)。アミロイド前駆タンパク、ア

ミロイド前駆体タンパク質 β サイト切断酵素 (BACE) は両群で有意差を認めず、IH 群でも HIF1 α の発現は認めなかった。認知機能評価では、Y 迷路、モリス水迷路とも両群で有意差を認めなかった。さらに固定脳の海馬付近の $A\beta$ プラークの免疫染色結果です。両群とも明らかな $A\beta$ の蓄積は認めなかった。SH-SY5Y 細胞基質の $A\beta$ 42 と $A\beta$ 42/40 は、IH 暴露群では、非暴露群に比べて、有意に上昇した。一方 HIF1 α の発現は IH 群でも認めなかった。

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 2 件)

- 1) Su MC, Chiu KL, Ruttanaumpawan P, Shiota S, Yumino D, Redolfi S, Haight JS, Yau B, Lam J, Bradley TD. Difference in upper airway collapsibility during wakefulness between men and women in response to lower-body positive pressure. *Clin Sci (Lond)*. 2009; 116:713-20. 査読有
- 2) 塩田智美、睡眠呼吸障害の診断と治療のすすめかた、*Medical Practice*、2010、641-64 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- 1) Satomi Shiota, Effect of continuous positive pressure on regional cerebral blood flow during wakefulness in obstructive sleep apnea. CHEST. 2011 年 10 月 26 日, Honolulu, Hawaii.
- 2) Satomi Shiota, The effect of Heart rate response to nocturnal intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea. CHEST. 2011 年 10 月 26 日, Honolulu, Hawaii.
- 3) 塩田智美、家族性アルツハイマー病モデルマウスにおける慢性間欠的低酸素の関与、第 52 回日本呼吸器学会総会、2012 年 4 月 21 日、神戸ポートピアホテル (神戸)
- 4) Satomi Shiota, The effect of Heart rate response to nocturnal intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea、第 52 回日本呼吸器学会総会、2012 年 4 月 21 日、神戸ポートピアホテル (神戸)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塩田智美 (SHIOTA SATOMI)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号：70449073

(2) 研究分担者

望月秀樹 (MOTIZUKI HIDEKI)
大阪大学・医学部・教授
研究者番号：90230044

篠原光代 (SHINOHARA MITSUYO)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号：00301507