

機関番号：16101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21700409

研究課題名 (和文) RARの活性化はトランスサイレチンを誘導しアルツハイマー病を抑制させるか？

研究課題名 (英文) Does an activation of RAR improve Alzheimer disease by the expression of transthyretin?

研究代表者

北岡 和義 (KITAOKA KAZUYOSHI)

徳島大学・大学院ヘルスケアサイエンス研究部・助教

研究者番号：50432753

研究成果の概要 (和文)：

RARの抗アルツハイマー病効果とそのメカニズムを先行研究で認められたトランスサイレチン(TTR)の発現増大に注目し、老化促進マウスであるSAMP8マウスを用いて検討した。結果として、RARの活性化は記憶・学習機能に対して一定の改善効果を示すことが示されたが、タンパクレベルではRAR活性化によるTTRの発現増大は認められなかった。一方で、 $\alpha$ -セクレターゼ活性や神経新生に関わるタンパク質であるAdam10がRAR活性化により有意に回復した。本研究で用いたSAMP8マウスでは老化によるアミロイド $\beta$ の蓄積が認められなかったために $\alpha$ -セクレターゼ活性による作用は不明であるが、神経新生に関連するとされるHes5の発現量がRAR活性化により増大したこと、Adam10発現量とHes5発現量が有意な相関を示したことから、本研究において認められたRAR活性化による老化に伴う記憶・学習機能の改善は、TTRではなくAdam10-Hes5系の発現の回復と関連することが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

I investigate the mechanism of anti-Alzheimer effect of retinoic acid receptor activation focused on the transthyretin (TTR), by using senescence accelerated (SAMP8) mice. As the results, the activation of RAR improves the memory function of SAMP8. However, the protein expression of TTR was not shown. On the other hands, Adam10 protein, which has  $\alpha$ -secretase activity and correlates with neurogenesis, is significantly recovered by the RAR activation. The effect of Adam10-derived  $\alpha$ -secretase activity for amyloid beta is not clear because SAMP8 mice did not show the deposit of amyloid beta in this study. However, the expression of Hes5, which associates with neurogenesis, showed the significant increase in RAR-activated SAMP8 mice. Besides that, the expression of Adam10 and Hes5 are significantly correlated. The results in this study suggest that the RAR activation is improved memory function of SAMP8 by the recovery of Adam10 expression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：環境生理学

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：老化、アルツハイマー病、レチノイン酸、Adam10、トランスサイレチン

## 1. 研究開始当初の背景

トランスサイレチン(TTR)のアルツハイマー病およびアミロイドβに対する効果については近年多くの報告がなされており、それらの結果からTTRの発現はアミロイドβと結合し、それを分解することによりアルツハイマー病病態を抑制させることが強く示唆される。しかしながら、現在までに遺伝子操作的手法を除いて生体内においてTTR発現量を増大させる方法は確立されていない。

一方、申請者はアルツハイマー病モデルマウスとして用いられている老化促進マウスであるSAMP8マウスにおいて合成レチノイドであるAm80の投与によりTTRのmRNA発現量がコントロール群と同様の値まで回復することを発見した。

これらより、申請者の実験結果において認められたAm80によるTTR発現の増大は、SAMP8においても老化に伴い増加するとされているアミロイドβを切断・分解し、それにより記憶・学習能の低下を抑制させる可能性が強く示唆される。

## 2. 研究の目的

本研究ではSAMP8マウスにおいてAm80により発現誘導されると考えられるTTRが実際にアルツハイマー病を改善させるかについて、マウス学習試験、遺伝子発現解析、タンパク発現解析等を用いて検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

2か月、8か月、13か月齢のSAMP8マウス、および2ヶ月間Am80の経口摂取(1mg/kg/day)を行った13か月齢のSAMP8マウスの4群に対して、八方向放射状迷路を用いた学習試験を10日間行った。

その後マウスの脳を摘出し、海馬および大脳皮質サンプル中の遺伝子発現量およびタンパク発現量をリアルタイムRT-PCR法およびウェスタンブロット法をそれぞれ用いて定量した。大脳皮質中のβアミロイド40および42の定量はELISA法を用いた。

## 4. 研究成果

八方向放射状迷路を用いた学習試験の結果、13か月齢SAMP8マウスは8か月のものと比較して有意に多い平均移動時間(図1D)および作業記憶のエラー(図1F)を示し、そしてその差はAm80慢性投与によって減弱した。この結果は13か月齢SAMP8マウスに学習機

能の老化が認められること、およびAm80の投与はその老化を遅らせる可能性を示唆している。

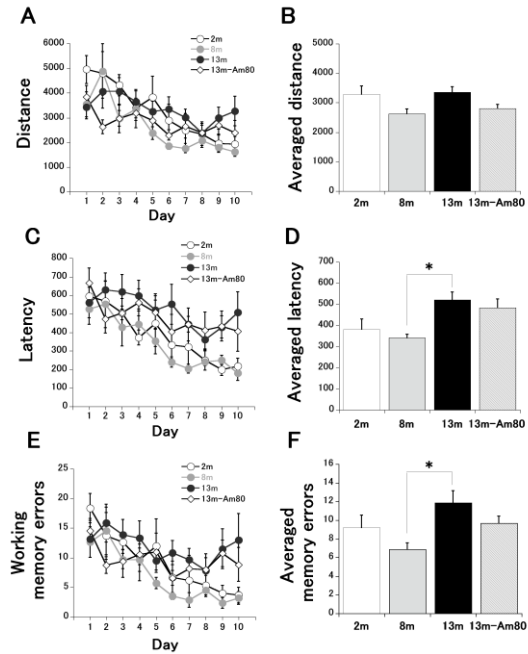


図1. 八方向放射状迷路の結果。左に10日間のプロット、右にその平均を示した。

次にこれらのSAMP8マウスの脳を摘出し海馬でのTTR発現量をウェスタンブロット法により検討を行ったが、有意な差は認められなかった。しかしながら、レチノイン酸により誘導され、βアミロイドを減少させると報告されているAdam10の遺伝子発現量、タンパク質発現量を海馬、大脳皮質において検討したところ、13か月齢SAMP8マウスのAdam10発現量は海馬において遺伝子、タンパク質共に有意に低下し、タンパク質発現ではAm80慢性投与によって有意に回復した(図2B, D)。

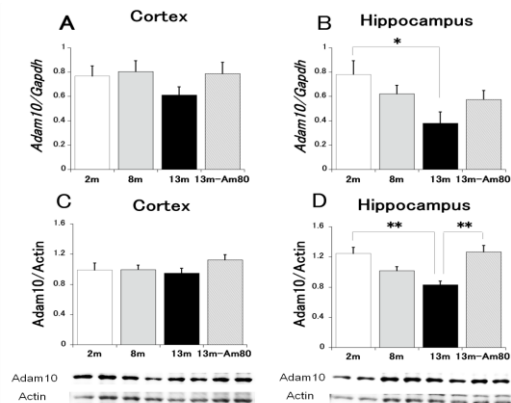


図2. SAMP8マウス大脳皮質および海馬におけるAdam10の遺伝子発現量、タンパク質発現量の老化およびAm80投与によ

## る影響

次に大脳皮質および海馬中のアミロイド前駆タンパク質 (APP) 発現量と大脳皮質中の  $\beta$  アミロイド 40 および 42 の定量を行ったが、有意な差は認められなかった。SAMP8 マウスは先行研究において APP の過剰発現や  $\beta$  アミロイドの蓄積が報告されていることからアルツハイマー病モデルマウスとしての有用性が指摘されているが本研究では異なる結果となった。この点については更なる検討が必要であると考えている。

一方で Adam10 は notch レセプターの切断を介して神経新生を誘導する Hes1 および Hes5 の転写を調節することが知られている。そこで、大脳皮質と海馬における Hes1 および Hes5 の遺伝子発現量を検討したところ、13 か月齢 SAMP8 マウスの海馬において Hes5 が Am80 の投与により有意に増大した (図 3D)

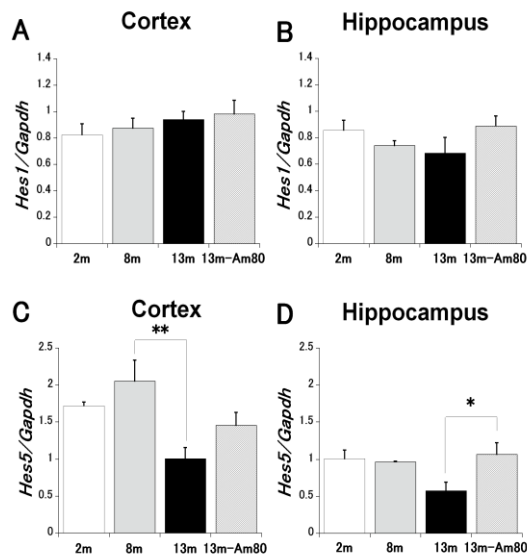


図 3. SAMP8 マウスの大脳皮質と海馬における Hes1 および Hes5 の遺伝子発現量の老化および Am80 投与による影響

また、海馬における Hes5 遺伝子発現量は、海馬の Adam10 遺伝子およびタンパク発現量との間に有意な正の相関が認められた (図 4 B, D)。一方、海馬における Hes1 の遺伝子発現量は Adam10 遺伝子およびタンパク発現量との間に有意な相関は認められなかった (図 4 A, C)。この結果は海馬に認められた Am80 投与による Hes5 の増大は Adam10 発現増大により誘導されたものであることを示唆している。

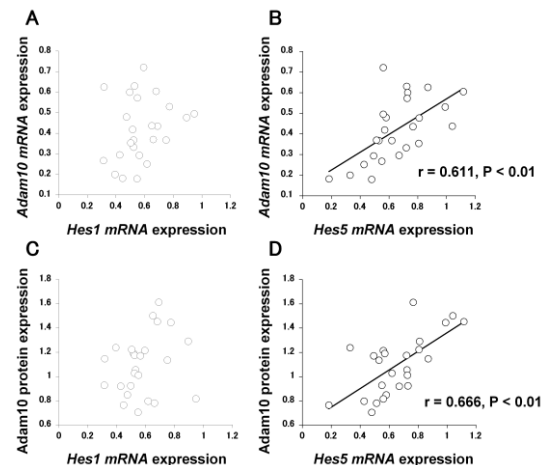


図 4. 海馬での Hes1 および Hes5 遺伝子発現量と Adam10 遺伝子およびタンパク発現量との間の相関

本研究の結果は Am80 による RAR の活性化は SAMP8 マウスに認められる老化による記憶・学習能の減弱に対し一定の改善効果があることを示している。しかし、先行研究において TTR の遺伝子発現量の増大が Am80 の投与によって認められたが、タンパクレベルでは有意な増大は確認できなかった。このことから、TTR が本研究で認められた学習機能の改善に寄与しているとは考えにくい。

一方で、 $\alpha$ -セクレターゼ活性や神経新生に関わるタンパク質である Adam10 が老化により有意に減少を示し、RAR 活性化によりそれは有意に回復した。本研究で用いた SAMP8 マウスでは老化によるアミロイド  $\beta$  の蓄積が認められなかったために  $\alpha$ -セクレターゼ活性による作用は不明である。しかし、神経新生に関連するとされる Hes5 の発現量が RAR 活性化により増大したこと、Adam10 発現量と Hes5 発現量が有意な相関を示したこと、本研究において認められた RAR 活性化による老化に伴う記憶・学習機能の改善は、TTR ではなく Adam10-Hes5 系の発現の回復と関連することが示唆される。

これらの結果は Am80 による RAR 活性化は Adam10 の発現誘導を介してアルツハイマー病を改善しうることを示しているが、本研究で用いた SAMP8 マウスにはアミロイド  $\beta$  の蓄積は認められなかったことから、アルツハイマー病に対する RAR 活性化の効果は今回の結果からは考察できない。アミロイド前駆タンパク (APP) の過剰発現マウスなど、他の確立されているアルツハイマー病モデル動物を使った更なる検討が今後必要である。

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1件)

Kitaoka K, Sano A, Chikahisa S, Yoshizaki K, Sei H., Disturbance of rapid eye movement sleep in senescence-accelerated mouse prone/8 mice is improved by retinoic acid receptor agonist Am80 (Tamibarotene). Neuroscience. 2010 May 19;167(3):573-582. (査読あり)

[学会発表] (計5件)

1. Kitaoka K, Retinoic acid receptors antagonist LE540 attenuates EEG delta power during sleep via dopamine D1 receptor in mice. Neuroscience 2010, 平成22年11月15日 サンディエゴ

2. Kitaoka K, Four-week administration of retinoic acid receptors antagonist LE540 attenuates EEG delta power during sleep in mice. The 6th Congress of Asian Sleep Research Society, 平成21年10月26日 大阪府大阪市

3. 北岡 和義, レチノイン酸レセプターアゴニスト Am80 の投与は SAMP8 マウスの REM 睡眠減少を改善させる 第24回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会 平成21年7月9日 長野県松本市

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計◇件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

北岡 和義 (KITAOKA KAZUYOSHI)

徳島大学・大学院ヘルスバイサイエンス研究部・助教

研究者番号: 50432753

(2)研究分担者

( )

研究者番号:

(3)連携研究者

( )

研究者番号: