

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010-2011

課題番号：22790811

研究課題名（和文）脳血管性認知症の病態における脂肪酸シグナルの役割

研究課題名（英文）The role of fatty acid signaling pathway on pathophysiology of vascular dementia

研究代表者 吉崎 嘉一 (YOSHIZAKI KAICHI)  
東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：50393161

## 研究成果の概要（和文）：

脳血管性認知症の病態における脂肪酸シグナルの役割について検討するために、脳血管性認知症モデル動物における *Fabp7* の発現解析を行ったが、脳梁および線条体における *Fabp7* の発現量および発現細胞に有意な変化は認められなかった。また、脳血管性認知症の病態における *Fabp7* の機能について検討したが、顕著な神経学的異常および体重変化は認められなかった。現在、これらの脳サンプルの免疫組織学的解析を進めている。

## 研究成果の概要（英文）：

To examine role of fatty acid signaling pathway on pathophysiology of vascular dementia, we examined expression analyses of *Fabp7* in wild-type (WT) mice subjected to sham- and right unilateral common carotid artery occlusion (UCCAO). The results exhibited that there is no obvious difference of expression level and pattern of *Fabp7* in the corpus callosum and the striatum in both sham- and UCCAO-operated mice. To examine contribution of *Fabp7* on pathophysiology of vascular dementia, WT and *Fabp7* knockout mice were subjected to sham- or right UCCAO. Obvious deficits e.g. body weight and neurological sign were not observed in both WT and *Fabp7* knockout mice in the presence or absence of the surgery. Currently we examined histological analyses in the brain obtained from WT and *Fabp7* knockout mice.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

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：脳血管性認知症、アラキドン酸、脂肪酸結合タンパク質

## 1. 研究開始当初の背景

ARA は必須脂肪酸の 1 つであり、生体内では

細胞膜構成因子として多く存在し、その代謝産物であるプロスタグランジン(PGs)は『炎症』や『痛み』、『血栓形成』等の様々な生命現象に関与することが知られている[Yehuda *et al.*, 1999; Marszalek *et al.*, 2005]。また、ARA を含む脂肪酸は、脂質シャペロンである脂肪酸結合タンパク質(FABPs)と結合して、脂質シグナル伝達や転写活性化因子として機能することも知られている[Schug TT *et al.*, 2007]。

脳血管性認知症は、世界的にはアルツハイマー病型認知症に次いで多い認知症であり [Ott *et al.*, 1995; Fratiglioni *et al.*, 1999]、わが国を含む東洋の国々では、アルツハイマー病型認知症よりも患者数が多いことが知られている[Fratiglioni *et al.*, 1999]。これまでに、脳血管性認知症の患者およびそのモデル動物の解析において細胞膜から ARA の放出を促進する酵素であるフォスホオリパーゼ A<sub>2</sub>(PLA<sub>2</sub>)の活性およびその下流で PGs の生成を促進する酵素である COX-2 の発現が亢進することが報告されている[Tomimoto *et al.*, 2001] (図 1)。また、COX-2 阻害剤の慢性投与により、脳血管性認知症における組織学的変化を軽減させることが知られており[Wakita *et al.*, 1999; Yamaguchi *et al.*, 1998]、ARA-PGs 経路の過剰な活性化が脳血管性認知症における認知機能の低下に寄与することが示唆される。一方で、ARA の食餌は、老齢ラットにおける空間学習能力の保持や海馬の神経活動の亢進に寄与することや[Kotani *et al.*, 2003; Murray and Lynch, 1998]、神経活動依存的に ARA の代謝経路が活性化することが知られている。加えて我々もまた、母乳を介したラット胎児への ARA の食餌が、空間記憶との関連性が指摘されている海馬神経新生を亢進させることを見出した[Maekawa *et al.*, 2009]。FABP7 のノックアウトマウスは恐怖記憶の異常が報告されていることから [Owada *et al.*, 2006; Matsumata *et al.*, in preparation]、ARA は FABP7 と結合することにより認知機能の維持に寄与する可能性が考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまでに開発した脳血管性認

知症マウスモデル(右側総頸動脈永久結紮手術)を用いて[Yoshizaki *et al.*, 2008a; 吉崎嘉一, 脇田英明: 特願 2007-31706, 特開 2008-193941] (図 3)、脳血管性認知症における ARA の代謝経路と認知機能の関連性について検討する。さらには、代謝経路を制御することにより、ARA の食餌による脳血管性認知症の新たな治療法の可能性について検討する。そのためにまず最初に、(1) COX-2 阻害による認知機能の治療効果を組織および行動解析により検討する。さらに、この治療効果における脂肪酸結合タンパク質の役割について検討するために、FABP7 および FABP5 のノックアウトマウスに対して、結紮手術を施すことにより、脳血管性認知症における脂肪酸結合タンパク質の役割を解明する。これらの結果から、ARA の代謝経路の違いが認知機能の低下あるいはその維持に寄与することが明らかになる。また、(2) 脳血管性認知症における ARA の代謝異常は ARA の局所的な低下を引き起こす可能性が考えられる。そこで、ARA の食餌実験を行い、脳血管性認知症モデル動物に対して ARA を補充することにより、脳血管性認知症の治療効果について検討する。そのために、結紮手術後の COX-2 および FABP5 および FABP7 の発現解析を行い、ARA の食餌に最適な時期を推測する。これらの結果から、脳血管性認知症の新たな治療法としての ARA の可能性が見出される。

## 3. 研究の方法

野生型マウス (C57BL6/J, オス, 12 週齢) および *Fabp5*, *Fabp7* ノックアウトマウスに対して偽手術もしくは右側総頸動脈永久結紮手術(以下、結紮手術)を施し、認知機能解析および免疫組織学的解析する。また、野生型マウスに対して偽手術ないし結紮手術を施し、ARA または通常食を食餌させ、認知機能解析および免疫組織学的解析する。により、脳血管性認知症における脂肪酸シグナルの役割について検討する。

## 4. 研究成果

### (1) 脳血管性認知症の評価システムの導入について

これまでの報告に基づいて、片側総頸動脈永久結紮手術を導入し、結紮手術の手術時間お

よび結紮手術1週間後の死亡率ともにこれまでの報告と同程度であった。脳血管性認知症モデル動物の行動学的異常を検出するために、空間・非空間作業記憶を評価できる新規物体認識試験および放射状迷路試験を導入した。野生型マウス (C57BL6/J, Male, 12-week-old) に対してこれらの行動試験を行い、現在の実験環境において空間・非空間作業記憶を評価できることを確認した。さらに、脳血管性認知症モデル動物の組織学的異常を検出するために、免疫組織学的手法を用いて活性化グリア細胞マーカーGFAP, Iba-1, Musashi-1および軸索損傷マーカーAPP、髄鞘染色マーカーMBPの染色を行った。野生型マウス (C57BL6/J, Male, 12-week-old) に対して、偽手術ないし結紮手術を施し、4週間後にマウス脳を摘出し、脳梁・線条体を含む領域を切片調整し、上記した抗原に対する抗体を用いて免疫染色を行い、組織学的異常を評価できることを確認した。

#### (2) 脳血管障害によるFabp7の発現解析について

野生型マウス (C57BL6/J, Male, 12-week-old) に対して偽手術ないし右側総頸動脈永久結紮手術 (以下、結紮手術) を施し、結紮手術後1, 2, 4週間後のFabp7の発現を脳梁・線条体において検討した。その結果、いずれの領域においてもFabp7陽性細胞数およびその分布に関して、偽手術群と結紮手術群との間に顕著な変化は認められなかった。さらに、Fabp7陽性細胞のほとんどすべてがPDGFR $\alpha$ 陽性のオリゴデンドロサイト前駆細胞であり、その割合も偽手術群と結紮手術群との間でほとんど変わらなかった。さらに、結紮手術1, 2, 4週間後のいずれの時期においてもFabp7陽性細胞数およびその分布に大きな違いは認められなかった。これらの結果より、脳血管性認知症の病態においてFabp7は発現量および発現細胞に影響しないことが示唆された。

#### (3) 脳血管性認知症の病態におけるFabp7の役割について

また、脳血管性認知症の病態におけるFabp7の機能を明らかにするために、野生型およびFabp7ノックアウトマウスに対して偽手術ないし結紮手術を施した。その結果、野生型マウスおよびFabp7ノックアウトマウスのい

ずれにおいても偽手術および結紮手術による顕著な神経学的異常および体重変化は認められなかった。現在、これらの動物の脳サンプルを摘出し、上記した活性化グリア細胞マーカーGFAP, Iba-1, Musashi-1および軸索損傷マーカーAPP、髄鞘染色マーカーMBPを用いて、免疫組織学的解析を進めている。

#### 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4件)

1. 吉崎嘉一, 大隅典子  
神経新生とわれわれのこころ  
心身医学, 2011 Jan; 51(1): 19-26., 査読無
2. 吉崎嘉一, 大隅典子.  
生後脳における神経新生 (neurogenesis) の分子メカニズムと精神機能  
Brain and Nerve, 2010 Dec; 62(12): 1315-1322., 査読無
3. Hara Y., Nomura T., Yoshizaki K., Frisén J., Osumi N., Impaired hippocampal neurogenesis and vascular formation in *ephrin-A5*-deficient mice. *Stem Cells.*, 2010 May; 28(5): 974-983., 査読有
4. Takahashi K., Adachi K., Yoshizaki K., Kunimoto S., Kalaria RN., Watanabe A., Mutations in Notch3 cause the formation and retention of aggregates in the ER, leading to impairment of cell proliferation., *Human Molecular Genetics.*, 2010 Jan; 19(1): 79-89., 査読有

[学会発表] (計10件)

1. Kimura R., Yoshizaki K., Matsumoto Y., Tsunekawa Y., Osumi N.  
Fabp7, a brain specific fatty acid binding protein, regulates proliferation of oligodendrocyte precursor cells  
第34回日本神経科学学会大会 横浜 2011年9月19日.
2. Yoshizaki K., Wakita H., Osumi N.  
Influence of chronic subcortical ischemia on depressive phenotypes  
第34回日本神経科学学会大会 横浜 2011年9月18日.

3. Yoshizaki K., Wakita H., Osumi N.  
Subcortical ischemia in the left hemisphere exacerbates stress-induced depressive phenotypes : An animal model of vascular depression  
包括脳ネットワーク夏のワークショップ 神戸 2011年8月23日.
4. Yoshizaki K., Wakita H., Osumi N.  
Subcortical ischemia exacerbates stress-induced depressive phenotypes  
Neurogenesis International Symposium, Kobe, 2011 Jun 3rd.
5. 吉崎嘉一, 脇田英明, 大隅典子.  
Influence of chronic subcortical ischemia on depressive phenotypes: An animal model of vascular depression  
第33回日本生物学的精神医学会 東京 2011年5月22日.
6. Yoshizaki K., Wakita H., Osumi N.  
Influence of chronic cerebral hypoperfusion on stress vulnerability in depressive phenotypes: An animal model of vascular depression  
第1回東北大学脳科学国際シンポジウム2011 仙台 2011年1月23日.
7. Yoshizaki K., Wakita H., Osumi N.  
Chronic cerebral hypoperfusion might affect stress vulnerability in depressive phenotypes  
Society for Neuroscience., San Diego, 2010 Nov 17th.
8. Yoshizaki K., Wakita H., Osumi N.  
Chronic cerebral hypoperfusion might affect stress vulnerability in depressive phenotypes  
第33回日本神経科学学会大会 神戸 2010年9月3日.
9. Yoshizaki K., Wakita H., Osumi N.  
Influence of chronic cerebral hypoperfusion on stress vulnerability in anxiety/depression-like phenotypes  
Tohoku Neuroscience Global COE the 3rd Summer Retreat., Sendai, 2010 Aug 1st.
10. 吉崎嘉一, 原芳伸, 大隅典子.  
The function of *EphrinA5* pathway in depression/anxiety-like behaviors  
第10回分子生物学会春期シンポジウム 仙台 2010年6月7日.

[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0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

吉崎 嘉一 (YOSHIZAKI KAICHI)  
東北大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：50393161

### (2) 研究分担者

該当なし ( )  
研究者番号：

### (3) 連携研究者

該当なし ( )  
研究者番号：