

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：82609

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16408

研究課題名(和文)アルツハイマー病に対する発達期環境要因の同定

研究課題名(英文) Early-life stress induces the development of Alzheimer's disease pathology via angiopathy

研究代表者

田中 智子 (TANAKA, Tomoko)

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・研究員

研究者番号：40578986

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：近年、発達期ストレスなどの発達期の環境要因がアルツハイマー病の発症や進行に重要であるという疫学的知見が得られている。しかしながら、発達期の環境要因がどのような潜在的变化を経て壮年期以降の病態発現につながるのかは明らかでない。我々は変異ヒト型APPノックインヘテロマウスに母子分離ストレスを与えることで、早期に脳毛細血管障害、老人斑、血液脳関門の破綻、ミクログリアの活性化、認知機能の低下が出現することを見出した。また、母子分離ストレスが惹起する変化として、最も先行して免疫機能に重要なミクログリアの形態変化とストレス応答異常を同定し、Experimental Neurologyに掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発達期ストレスがアルツハイマー病(AD)病態を促進することを実証した我々の結果は、ストレス誘発性のAD発症モデルマウスの作製につながったと考えられる。ADは老年期においても転居や入院などのストレスにより発症や症状悪化が報告されとおり、本モデルマウスはADの病態解明、予防法開発に重要である。また、本研究で初めてADモデルマウスで血管系の変化に先行してミクログリアの変化を同定できた。したがって、ミクログリアは新たな予防のターゲットになりうること、また、その変化は新たなADのバイオマーカーになりうることを示された。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer's disease (AD) is a major problem. Early-life factors associated with an increased risk for the clinical diagnosis of AD have recently been identified. In the present study, we investigated the involvement of early-life stress in the pathogenesis of AD using heterozygous amyloid precursor protein (APP) mutant mice (AppNL-G-F/wt) and wild-type (Appwt/wt) mice. We found that maternal-separated (MS) Appwt/wt mice showed a vessel impairment in the prefrontal cortex, while MS AppNL-G-F/wt mice additionally showed AD-like phenomenon, and severe vessel impairment. At an early stage, morphological changes were observed in the microglia of the MS AppNL-G-F/wt mice, MS Appwt/wt mice and non-MS AppNL-G-F/wt mice. Microglia activation induced by maternal separation in combination with the APP mutation may impair the vascular system, leading to AD progression. These findings therefore suggest that maternal separation results in the early induction of AD-related pathology via angiopathy.

研究分野：精神神経科学

キーワード：アルツハイマー病 血管障害 ミクログリア

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

研究代表者はこれまで、げっ歯類の脳を対象に、多様な研究手法を用いて研究を行ってきた。認知運動機能を評価する行動解析、特定脳領域の神経活動と局所電場電位を記録する生理解析、遺伝子やタンパク質などの定量・定性を行う解剖解析、遺伝子やたんぱく質の定量を行う生化学解析などを経験している。そこで、本研究ではこれまでに習得した技術を総合して「アルツハイマー病の発症要因として発達初期のストレスがあることの実証」を目指した新しい研究を立案した。

アルツハイマー病(AD)は、記憶などの認知機能の進行性障害を特徴とする疾患である。現代の高齢化社会ではADの有病率の増加が大きな問題となっている。一方、急速に変化する現代社会における家族構成の変化は、親子関係、特に母子関係を中心とした社会環境に大きな影響を与えている。これまでADは神経内科的な疾患であると考えられてきており、成人期以降の後天的要因が重要であると考えられてきた。しかし、下記に述べるように、最近の知見は発達初期の環境要因も重要であることを示唆している。研究代表者はこのことに注目し、ADの原因を発達初期ストレスという新しい観点から解明したいと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では「アルツハイマー病の発症要因として発達期のストレスがあることの実証」を目指した新しい研究を立案した。

ADは記憶などの認知機能の進行性障害を特徴とする疾患である。これまでADは加齢などの成人期以降の後天的要因が重要であると考えられてきたが、近年、発達期の環境要因も重要であるという疫学的知見が得られている(Seifan et al., 2014)。げっ歯類においても、発達期に母子分離ストレスに晒されることにより、ADの原因物質であるアミロイドタンパク質(A $\beta$ )が脳内に蓄積することが報告されているが、ADの危険因子としての発達期ストレスに関する研究は数も少なく、発達期のストレスが生涯にわたって行動に及ぼす影響は明らかとなっていない。そこで、母子分離ストレスがどのような潜在的変化を引き起こし、どのような経路を介してAD病態発現を促進させるのかを検証し、ADの発症と発達期の環境要因の因果関係とその制御メカニズムを解明することを目指す。

### 3. 研究の方法

(1) マウス：理化学研究所の西道隆臣チームリーダーらが作成したヒト型変異アミロイド前駆体タンパク質(APP)を導入したAPP変異ヘテロマウスならびに野生型マウスを用いる(Saito et al., 2014)。APP変異ホモマウスはA $\beta$ の沈着やプラークの形成が生後120日で確認されている一方、APP変異ヘテロマウスは生後210日と症状進行が遅い。本研究では家族性ADが優性遺伝であること、AD様症状発症前に母子分離ストレスの影響を検討するため、APP変異ヘテロマウスと野生型マウスを用いる。

(2) 母子分離ストレス：生後2日から15日まで、毎日午前9時から午前12時の間、母親と仔マウスを別々の部屋に置き、母親から分離する。母親から分離する際、生命維持のため31°C付近に維持したヒートマット上に仔マウスを入れたケージを置く。

(3) 行動：空間認知機能の記憶保持能力を評価する物体位置認識試験、連合学習の文脈記憶を評

価する恐怖条件付け試験を実施する。

(4) 解剖、生化学的解析：母子分離ストレスならびに/ または遺伝的要因による血管、ミクログリアならびに AD 病態への影響を検証する（免疫染色法）。また、ミクログリアの機能的変化を検証するため、サイトカインアッセイを行い脳内の炎症性サイトカインの量を測定する。

#### 4 . 研究成果

本研究において、APP 変異ヘテロマウスに母子分離ストレスを与えた場合のみ、成長後の老人斑形成や空間認知機能障害などの AD 病態の発現が促進されることを明らかにした。また、APP 変異ヘテロマウスだけでなく、野生型マウスにおいても、母子分離ストレスにより脳毛細血管障害(血管周皮細胞の減少、毛細血管の狭小化)が惹起されることを明らかにした。しかしながら、より重篤な血液脳関門 (BBB) の破綻(フィブリンの血管外蓄積)は APP 変異ヘテロマウスでのみ、母子分離ストレスにより誘発された。そのため、より重度な脳血管障害が AD 病態につながる可能性が考えられる。一方、通常飼育の APP 変異ヘテロマウスでは、血管壁へのフィブリンの蓄積が認められ、母子分離ストレスを処置した両群とは異なる形で脳血管障害が引き起こされると考えられる。(Tanaka et al., Experimental Neurology, 2020)。このような脳血管系を制御する因子として、AD においても重要なミクログリアの動態を検証したところ、母子分離ストレスを処置した場合、APP 変異ヘテロマウスだけでなく、野生型においても活性化ミクログリアの増加や形態変化が認められた。ミクログリアは形態を変化させるとともに、その機能も変化する。そこで、形態に関して詳細に検証したところ、母子分離ストレスを与えた両群では樹状突起の減少や短縮が認められた。さらに、通常飼育の APP 変異ヘテロマウスにおいても樹状突起の減少が認められ、環境要因(母子分離)と遺伝的要因によりそれぞれ独立したミクログリアの変化が起きていると考えられる。また、このような形態の変化が認められた群において、ミクログリアの血管周囲への遊走が促進しており、ミクログリアと血管の間で何らかの相互作用があると考えられる。興味深いことに、このようなミクログリアの異常は成体期だけでなく、思春期のマウスでも認められ、脳血管障害、老人斑形成や認知機能低下に先行しておきている。これらの結果から、発達期ストレスが AD 病態を促進させることを実証し、ミクログリアの異常による脳血管障害が、BBB の破綻を惹起し、AD 病態を促進する可能性を示した。

発達期ストレスがアルツハイマー病(AD)病態を促進することを実証した我々の結果は、ストレス誘発性の AD 発症モデルマウスの作製につながったと考えられる。AD は老年期においても転居や入院などのストレスにより発症や症状悪化が報告されとおり、本モデルマウスは AD の病態解明、予防法開発に重要である。また、本研究で初めて AD モデルマウスで血管系の変化に先行してミクログリアの変化を同定できた。したがって、ミクログリアは新たな予防のターゲットになりうること、また、その変化は新たな AD のバイオマーカーになりうることを示された。発達期ストレスが血管障害をはじめとして、成長過程及び成長後の脳の機能・構造に重大かつ継続的な諸問題を引き起こす機序を明らかにすることは、前兆症状からの診断による早期介入により発症を未然に防ぐ手段の開発につながる。

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 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tomoko Tanaka, Yoshikazu Isomura, Kazuto Kobayashi, Takashi Hanakawa, Satoshi Tanaka, and Manabu Honda	4. 巻 14
2. 論文標題 Electrophysiological Effects of Transcranial Direct Current Stimulation on Neural Activity in the Rat Cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 495
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnins.2020.00495	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 Tanaka Tomoko, Hirai Shinobu, Hosokawa Masato, Saito Takashi, Sakuma Hiroshi, Saido Takaomi, Hasegawa Masato, Okado Haruo	4. 巻 337
2. 論文標題 Early-life stress facilitates the development of Alzheimer's disease pathology via angiopathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 113552
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.expneurol.2020.113552	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

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 3件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Tomoko Tanaka 1, Shinobu Hirai, Masato Hosokawa, Takashi Saito, Takaomi Saido, Masato Hasegawa, Haruo Okado
2. 発表標題 Induction of Alzheimer's disease pathology by early life stress
3. 学会等名 Federation of European Neuroscience Societies 2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoko Tanaka, Shinobu Hirai, Masato Hosokawa, Takashi Saito, Takaomi Saido, Masato Hasegawa, Haruo Okado
2. 発表標題 Induction of Alzheimer's disease pathology by early life stress
3. 学会等名 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoko Tanaka, Okado Haruo
2. 発表標題 The role of RP58 in the maintenance of cognitive function
3. 学会等名 18th WORLD CONGRESS OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中 智子
2. 発表標題 加齢性機能障害の分子機構の解明
3. 学会等名 薬物・精神・行動の会セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoko Tanaka, Okado Haruo
2. 発表標題 The role of RP58 in the maintenance of cognitive function
3. 学会等名 Neuro2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中 智子、細川 雅人、斉藤 貴志、西道 隆臣、長谷川 成人、岡戸 晴生
2. 発表標題 加齢性脳機能障害における発達期要因の解明
3. 学会等名 第37回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中 智子
2. 発表標題 加齢性脳機能障害における発達期要因の解明
3. 学会等名 第36回日本ストレス学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中 智子、平井志伸、細川 雅人、斉藤 貴志、西道 隆臣、佐久間 啓、長谷川 成人、岡戸 晴生
2. 発表標題 加齢性脳機能障害における発達期要因の解明
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中 智子
2. 発表標題 アルツハイマー病研究の最前線：幼若期ストレスの影響と血管障害の関与
3. 学会等名 薬物・精神・行動の会セミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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