

## 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 4 月 10 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591502

研究課題名（和文）

アルツハイマー病の神経細胞変性における GABA 受容体の関与に関する研究

研究課題名（英文）

Study of the GABA receptors affecting neuronal degeneration in the subjects with Alzheimer's disease

研究代表者 水上 勝義 (MIZUKAMI KATSUYOSHI)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：20229686

## 研究成果の概要（和文）：

アルツハイマー病 (AD) 脳における神経細胞変性機序の解明を目的に以下の幾つかの検討を行った。1. GABA 受容体の発現を調節する Ubiquilin の変化の検討。軽症の AD 患者脳では、神経細胞が抵抗性を示す CA3 領域で ubiquilin の発現は増強したが、高度 AD では海馬全域で著明に低下した。このことから ubiquilin は AD 脳の神経細胞に対して抵抗性を与えている可能性が考えられた。2. アミロイドイメージングでみられるアミロイド所見と、剖検脳におけるアミロイド染色との関連の検討。本結果からアミロイドイメージングで検出されないアミロイド沈着があることを報告した。3. PET 研究から早期 AD で障害が報告されているセロトニン 1A (5-HT1A) 受容体についての組織学的検討。結果として 1A 受容体は、海馬病変が高度に至るまで比較的保たれた。しかし高度の AD では 1A 受容体は神経細胞脱落を反映し著明に減少した。今後  $\beta$  アミロイドの沈着と興奮毒性の関連についての検討が重要である。

## 研究成果の概要（英文）：

The results of our studies are presented here. Ubiquilin 1 is shuttle protein, which modulates the expression of the GABA receptors. We examined immunohistochemically ubiquilin in the hippocampi from the controls and Alzheimer's disease (AD). In early AD cases, the intensity of ubiquilin staining appeared more robust in the pyramidal cells in CA3 and CA2 and dentate granular cells. In the majority of severely affected cases, a remarkable decrease in ubiquilin staining was observed throughout the hippocampus. These results suggest that up-regulating ubiquilin marks a compensatory response to early neurodegenerative changes. Next, We examined beta amyloid (Ab) pathology in an individual who had clinical diagnoses of probable dementia with Lewy bodies and possible AD but with no detectable [C-11]PiB PET retention ([C-11]PiB(-)) when imaged 17 months prior to death. The [C-11]PiB(-) case indicates that certain levels of Ab concentration are required to produce a positive [C-11]PiB PET signal. In the third study, we immunohistochemically examined the 5-HT1A receptor protein, which can contribute to impaired cognitive function in AD and may reduce in early AD by PET study, in the hippocampus. Our data demonstrate that hippocampal 5-HT1A receptors are mainly preserved until advanced stage of AD. It is unlikely 5-HT1A is associated with neuronal degeneration in AD brain.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：老年精神医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：老年精神医学

## 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病の病態仮説としてはβアミロイドの毒性が神経細胞死を誘導するというアミロイド仮説が有力だが、それだけでは説明がつかない点が多々ある。たとえばβアミロイド蛋白を過剰に発現させたモデル動物において神経細胞脱落や神経原線維変化は再現されていない。したがってアミロイド仮説の検証やアミロイド仮説以外の仮説の可能性についても検討が必要である。

## 2. 研究の目的

(1) アルツハイマー病剖検脳海馬を用いたubiquilinの免疫組織化学的検討

本研究では、興奮性神経伝達系が過剰のため神経細胞変性・脱落を生じるという興奮毒性仮説の観点から検討する。これまで我々は興奮毒性の亢進は抑制性神経伝達系の障害によっても生じるという仮説をたて、AD脳におけるGABA受容体の変化について検討してきた。その結果AD脳ではGABA受容体もGABAB受容体もサブユニットの構成や発現の変化が認められ、抑制性神経伝達系の機能がAD脳で変化している可能性について指摘した。今回はGABA受容体の機能や発現を調節するubiquilin蛋白質に注目し、AD脳における変化について検討した。

(2) アルツハイマー病海馬におけるセロトニン1A受容体の神経病理学的検討

本研究では、GABA神経伝達系以外の神経伝達系の障害と神経細胞変性の関連をみるために、セロトニン神経伝達系に注目し実験を試行した。セロトニン神経伝達系は神経伝達物質にセロトニンを使用する系であり、その受容体は多岐に及ぶ。今回はうつ、不安、攻撃性などとの関連が報告されているセロトニン1A受容体の変化について検討した。AD

は経過中認知機能障害に加えて、多彩な精神症状が認められる(BPSD)。BPSDのなかでも代表的な症状は不安、うつ、攻撃性である。そこでセロトニン1A受容体について最初に検討した。

(3) Pib陰性の早期ADにおける神経病理学的検討

最近ADの診断にアミロイドイメージングが行われるようになったが、どの程度のアミロイド沈着が画像上描写されるかは不明である。その検討のために本研究は施行された。

## 3. 研究の方法

(1) 対象は、12名のAD患者の死後解剖によって得られた剖検脳海馬と4名の認知機能が正常な高齢者の剖検脳の海馬である。固定後30μ厚に薄切した切片に対してubiquilinの特異抗体(U7258, Sigma, Lot# E0409)を1000倍希釈で用いて免疫染色を施行した。

(2) 対象は、AD患者の死後解剖によって得られた剖検脳海馬と認知機能が正常の高齢者の剖検脳の海馬である。固定後30μ厚に薄切した切片に対してセロトニン1A受容体の特異抗体を用いた免疫染色を施行した。

(3) 生前PETによるアミロイドイメージングを施行した患者の死後脳を対象に組織学的にβアミロイドの沈着を検討した。

## 4. 研究成果

(1) ubiquilinの免疫反応性は海馬全域に強く発現した。AD病理が始まるとAD脳で神経細胞が抵抗性を示すCA3領域でubiquilinの発現はさらに増強したが、高度ADでは海馬全域で著明に低下した。このことからubiquilinはAD脳の神経細胞に対して抵抗性を与えている可能性が考えられた(図1)。

さらにubiquilinは幾つかの老人斑や神経

源変化を染色した(図2)。このことから AD 脳内の異常蓄積物質の形成に関連する可能性も示唆された。本研究については現在投稿準備中である。

図 1

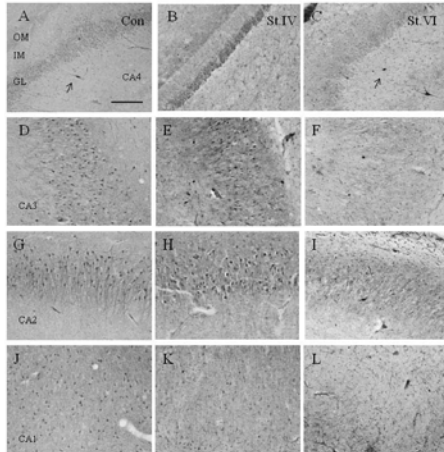
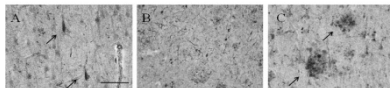
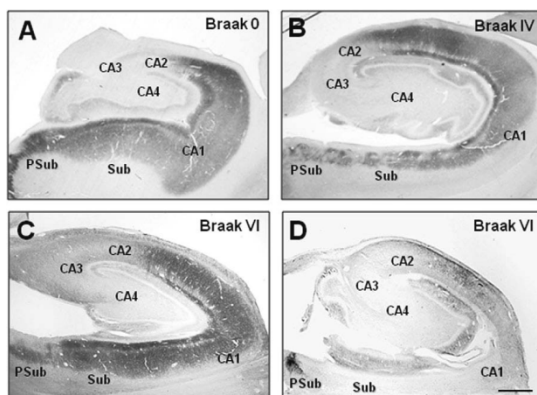


図 2

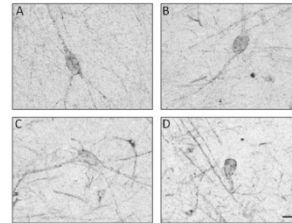


(2) 図 (文献 2 より引用)



AD 海馬においてセロトニン 1 A 受容体の発現は、海馬病変が高度に至るまで比較的保たれることが示唆された。しかしながら、高度の

AD ではセロトニン 1 A 受容体は著明に減少した。したがってこれまで報告されてきた PET によるセロトニン 1 A 受容体の減少は、神経細胞脱落を反映している可能性が推察された。



セロトニン 1 A 受容体面積染色の強拡大図

これまでセロトニン 1 A 受容体の変化については PET を用いた報告が散見され、AD の早期からセロトニン 1 A 受容体が低下すると報告されている。しかし今回の剖検脳を用いた結果は、従来の PET 研究の結果と異なるものとなった。この点については今後さらなる検討が必要である。

(3) アミロイドイメージングで検出されないアミロイド沈着が実際にあることを見いだされた。アミロイドイメージングのより正確な評価にむけてさらなる検討が必要と考えられる

### 5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Ikonomic MD, Abrahamson EE, Price JC, Hamilton RL, Mathis CA, Paljug WR, Debnath ML, Cohen AD, Mizukami K, DeKosky ST, Lopez OL, Klunk WE. Early AD pathology in a [C-11]PiB-negative case: a PiB-amyloid imaging, biochemical, and immunohistochemical study. *Acta Neuropathol.* 2012;123(3):433-47. (査読あり)

2. Mizukami K, Ishikawa M, Akatsu H, Abrahamson EE, Ikonovic MD, Asada T. An immunohistochemical study of the serotonin 1A receptor in the hippocampus of subjects with Alzheimer's disease. *Neuropathology*. 2011;31(5):503-9.  
(査読あり)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水上 勝義 (MIZUKAMI KATSUYOSHI)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：20229686