

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：82611

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19572

研究課題名（和文）脳内炎症を可視化する挑戦的融合的 in vivo 分子イメージング法の確立

研究課題名（英文）In vivo molecular imaging for neuroinflammation.

研究代表者

阿部 康二（Abe, Koji）

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・病院・院長

研究者番号：20212540

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,400,000 円

研究成果の概要（和文）：IDOLマウスの脳梗塞モデルを作成し、脳梗塞急性期の脳内炎症を経時的な評価を行った。ルシフェラーゼシグナル自体の検出はできており、現在、検討数を増やして解析を進めている。今後、ロータロッド運動機能評価もあわせて経時的に行い、各タイムポイント5匹ずつ還流固定後、免疫組織学的解析もおこなう。Nissl染色とともに各種酸化ストレスマーカーを組織学的にも評価し、その結果をまとめて英文雑誌に論文発表する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規に開発されたIDOLマウスに応用することで、新たに血管性障害を伴った認知症における脳内炎症の空間的な分布や程度をin vivoで画像化（可視化）する新たなイメージング手法を挑戦しようとする点で大変意義深い。また超高齢化社会を迎えた日本において今後大きな問題となってくる血管性障害を伴った認知症の病態の理解および有効性の高い治療法を開発する上でも極めて意義深く普遍性が高いと考える。

研究成果の概要（英文）：We created a cerebral infarction model in IDOL mice and evaluated inflammation in the brain during the acute phase of cerebral infarction. Luciferase signaling itself has been detected, and analysis is currently underway to increase the number of animals. We plan to perform immunohistological analysis of the mice (n=5) at each time point, as well as immunohistological evaluation of various oxidative stress markers and Nissl staining.

研究分野：脳卒中、神経疾患全般

キーワード：IDOLマウス in vivo imaging 慢性脳低灌流 脳虚血

1. 研究開始当初の背景

従来の研究手法で汎用されている、生体の部分試料を用いての病理学的(顕微鏡的)、生化学的または分子遺伝学的解析手法は組織または細胞単位での病態を把握できる点で優れているが、分子病態を巨視的または個体単位でかつ、一個体で経時的に把握する目的においては、新たな挑戦的かつ融合的技術革新が必要である。

一方、脳内、特に血管周囲の炎症反応は、脳梗塞や脳血管障害を伴う認知症、ALSなどの神経変性疾患などの病態に大きく関与していることが予想されてきているものの、脳内での IL-1 β などのサイトカインとその下流の caspase-1 などの炎症性シグナルは劇的なスピードで変化し、*in vivo*での経時的な測定は非常に困難であり、その経時変化は未だ不明な点が多い。

申請者はこれまで脳梗塞モデルの酸化ストレス(文献1)や脳梗塞モデルやALSモデルに対するオートファジー(文献2, 3)などを *in vivo* 光イメージング解析を行い報告してきた。さらに最近、アメロイドコンストラクターを両側総頸動脈に装着することで緩徐に血管狭窄をおこす慢性脳低灌流モデルを新たに開発し、本モデルが血管性障害を伴った認知症の動物モデルであることを明らかにした(図1、文献4)。

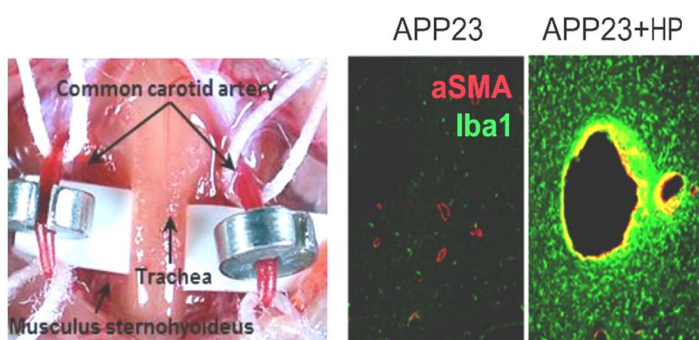


図 1. APP23 マウスの慢性脳低灌流マウスモデル(左図) マウス両側総頸動脈にアメロイドコンストラクターを装着することで、緩徐進行性の慢性脳低灌流モデルを作成できる。(中図) APP23 モデル 12 ヶ月齢では、血管周囲の炎症は起こっていないが、(右図) 脳血管周囲の著明な炎症と血管リモデリングを引き起こしている。(文献4より引用改変)

2. 研究の目的

申請者はこれまで脳梗塞モデルの酸化ストレス(文献1)や脳梗塞モデルやALSモデルに対するオートファジー(文献2, 3)に対する *in vivo* 光イメージング解析を行い報告してきた。本研究では近年開発された脳内炎症を評価できることを可能にしたIDOLマウス(図2)を用いて、血管性障害を伴った認知症モデルマウスの病態解析ならびに各種治療を行った場合の治療効果解析を行うことを可能とする新たな脳内炎症・病態分子イメージング技術の確立が目的である。

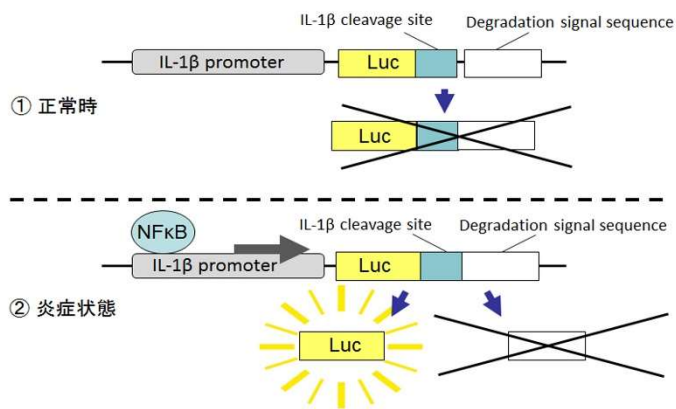


図 2. IL-1 β based Dual Operating Luc (IDOL)

正常状態では NF κ B は I κ B と結合して抑制されている。一方、炎症刺激により I κ B がリン酸化、分解されることで NF κ B が遊離して核内移行し IL-1 β プロモーターに結合することで、その転写を活性化させる。この「炎症感知センサー」である IL-1 β システムを応用し開発されたのが IL-1 β based Dual Operating Luc (IDOL) トランスジェニックマウスで、このマウスでは炎症反応下の細胞が発光タンパクであるルシフェラーゼ (luciferase; Luc) を発現し発光する。

文献 1. Nakano Y, Yamashita T, Li Q, Sato K, Ohta Y, Morihara R, Hishikawa N, Abe K. Time-dependent change of in vivo optical imaging of oxidative stress in a mouse stroke model. *J Neurosci Res*, 95:2030-2039 (2017).

文献 2. Tian F, Deguchi K, Yamashita T, Ohta Y, Morimoto N, Shang J, Zhang X, Liu N, Ikeda Y, Matsuura T, Abe K. In vivo imaging of autophagy in a mouse stroke model. *Autophagy*, 6:1107-14 (2010).

文献 3. Tian F, Morimoto N, Ohta Y, Deguchi K, Abe K. In vivo optical imaging of motor neuron autophagy in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Autophagy*, 7:985-92 (2011).

文献 4. Zhai Y, Yamashita T, Nakano Y, Ohta Y, Abe K. Chronic Cerebral Hypoperfusion Accelerates Alzheimer's Disease Pathology with Cerebrovascular Remodeling in a Novel Mouse Model. *J Alzheimers Dis* 53 : 893-905 (2016).

3. 研究の方法

IDOL/APP23ダブルトランスジェニックマウスを用いた慢性脳低灌流モデルを作成し、脳内炎症の経時的変化を観察できるイメージング技術の確立を目指す。

まず IDOL マウスと APP23 マウスモデルをかけ合わせて生じた 16 週齢オスに直径 0.75 mm のアメロイドコンストラクターを両側総頸動脈に取り付けることで、緩徐に脳血流が低下する慢性脳低灌流モデルを作成する。最近の当科の検討により、この慢性脳低灌流モデルマウスの脳血管周囲では著明な炎症細胞浸潤ならびにアミロイド血管炎を起こし、大脳皮質にもアミロイド β 陽性プラークが出現し、空間記憶障害を呈してくるなど脳血管障害を伴うアルツハイマー型認知症の動物モデルであることが明らかになっている (図 1、文献 4)。そこで慢性脳低灌流開始後 14 日後、1、2、6、12 か月後に *in vivo* イメージングを行い、Luc の大脳における発光を定量する。この Luc シグナルは脳内炎症を反映したものと考えられ、慢性脳低灌流の亜急性期から慢性期の脳組織の炎症状態を捉えることができる。この間、ロータロッド、8 字迷路テスト等の運動や高次機能評価もあわせて経時的に行い、各タイムポイント 3 匹ずつ還流固定後、免疫組織学的解析もおこなう。Nissl 染色とともに各種酸化ストレスマーカーを組織学的にも評価する。

またこれと並行して、IDOL マウスに一過性中大脳動脈閉塞術を行うことで、脳梗塞モデルを作成し、脳梗塞急性期の脳内炎症を経時的な評価を行う。

4. 研究成果

現在、IDOL マウスと APP23 マウスの交配による IDOL/APP23 ダブルトランスジェニックマウスの準備をすすめているが、当初の想定よりも時間がかかっている。

そのため、まずは IDOL マウスの急性期脳梗塞モデルを作成し、脳梗塞急性期の脳内炎症を経時的な評価を開始したところである。ルシフェラーゼシグナル自体の検出はできており、現在、検討数を増やして解析を進めている。今後、ロータロッド運動機能評価もあわせて経時的に行い、各タイムポイント 5 匹ずつ還流固定後、免疫組織学的解析もおこなう。Nissl 染色とともに各種酸化ストレスマーカーを組織学的にも評価し、その結果をまとめて英文雑誌に論文発表する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Feng Tian, Hu Xinran, Fukui Yusuke, Bian Zhihong, Bian Yuting, Sun Hongming, Takemoto Mami, Yunoki Taijun, Nakano Yumiko, Morihara Ryuta, Abe Koji, Yamashita Toru	4. 巻 86
2. 論文標題 Clinical and Pathological Benefits of Scallop-Derived Plasmalogen in a Novel Mouse Model of Alzheimer's Disease with Chronic Cerebral Hypoperfusion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 1973 ~ 1982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-215246	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 -

1. 著者名 Bian Zhihong, Liu Xia, Feng Tian, Yu Haibo, Hu Xiao, Hu Xinran, Bian Yuting, Sun Hongming, Tadokoro Koh, Takemoto Mami, Yunoki Taijun, Nakano Yumiko, Fukui Yusuke, Morihara Ryuta, Abe Koji, Yamashita Toru	4. 巻 86
2. 論文標題 Protective Effect of Rivaroxaban Against Amyloid Pathology and Neuroinflammation Through Inhibiting PAR-1 and PAR-2 in Alzheimer's Disease Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 111 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-215318	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nomura E, Ohta Y, Tadokoro K, Shang J, Feng T, Liu X, Shi X, Matsumoto N, Sasaki R, Tsunoda K, Sato K, Takemoto M, Hishikawa N, Yamashita T, Kuchimaru T, Kizaka Kondoh S, Abe K
2. 発表標題 Imaging Hypoxic Stress and the Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis with Dimethylallylglycine in a Mice Model.
3. 学会等名 Pan-Asian Consortium for Treatment and Research in ALS (PACTALS) 2021 NAGOYA (Web) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 胡欣冉、田所功、菱川望、馮田、武本麻美、佐々木諒、中野由美子、森原隆太、山下徹、阿部康二
2. 発表標題 Effect of edaravone on white matter in a novel mouse model of AD with chronic cerebral hypoperfusion
3. 学会等名 第64回日本脳循環代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 山下徹、阿部康二	4. 発行年 2021年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 210
3. 書名 脳卒中エキスパート 神経保護・神経再生療法 項目：フリーラジカルスカベンジャー	

〔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
研究 分担者	山下 徹 (Yamashita Toru) (60644408)	岡山大学・医歯薬学域・准教授 (15301)	

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