

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 脳科学研究戦略推進プログラム 融合脳
(英語) Strategic Research Program for Brain Sciences

研究開発課題名： (日本語) 神経炎症制御を標的としたアルツハイマー病の治療薬シーズ探索
(英語) Exploring therapeutic candidates for Alzheimer's disease through targeting neuroinflammation

研究開発担当者 (日本語) 名古屋大学環境医学研究所 教授 山中宏二
所属 役職 氏名： (英語) Nagoya University, Professor, Koji Yamanaka

実施期間： 平成 28 年 11 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究課題では、死後脳およびモデルマウスを用いて、神経炎症の観点からアルツハイマー病の早期分子病態を同定し、治療シーズを探索することを目標とする。

アルツハイマー病に特徴的なミクログリアの活性化状態の早期変化を解析するため、研究協力者である村山繁雄博士(東京都健康長寿医療センター研究所)から、アルツハイマー病および対照群の脳試料および認知機能に関する Clinical Dementia Rating (CDR) スコアを入手した。大脳皮質楔前部は、早期にアミロイド β (A β) が蓄積することが知られているため、楔前部における約 20 種類の炎症関連遺伝子の発現解析を行った。CDR スコアを用いて、解析に用いる検体の絞り込みについて検討を行うとともに、各炎症関連因子との間の相関について、症例数を増やして検討を続けている。また、ミクログリアによるアミロイド β の貪食能を制御する遺伝子群を探索するため、初代培養ミクログリアの実験系を用いて 3 種類の候補遺伝子に関する予備的検討を行い、遺伝子 X に対する阻害剤添加によってミクログリアの貪食能が亢進する傾向を認めた。

次世代アルツハイマー病モデルマウス (APP-KI マウス) の脳試料を経時的に収集し、A β の蓄積及びミクログリアの発現分子について蛍光免疫組織染色 (Iba1, Mac2, CD86) 及び FACS により解析を行った。A β の蓄積は 2 ヶ月齢から大脳皮質で、4 ヶ月齢から海馬において観察された。それに伴い凝集した A β へのミクログリアの集積及び活性化が大脳皮質で約 4 ヶ月齢から、約 6 ヶ月齢から海馬で観察され、さらに

加齢により増強することが判明した。

アルツハイマー病モデルマウスの新規認知機能評価法の開発を目指して、タッチスクリーン行動実験機器を導入して、行動試験プログラムを作成した。これは、スクリーン上の窓枠に提示された画像を認識、弁別するものである。今年度は、作成したプログラムを用いて、健常マウスの認知機能を評価し、導入した機器の動作確認を行った。野生型マウス(C57BL/6J)は、訓練により正解画像を選択できるようになった。さらに、2種類の同じ画像（白四角）を弁別する行動試験課題である Location discrimination task を施行したところ、野生型マウスは2種類の画像を弁別することができたが、2つの画像の位置関係が近い場合は正解率が低くなった。したがって、野生型マウスを用いたタッチスクリーン機器を用いた行動試験プログラムは実施可能であることが判明した。

Summary

We aim to elucidate the role of neuroinflammation in Alzheimer's disease (AD) and to identify the therapeutic targets using postmortem brain samples and the mouse model for AD. To analyze early changes in microglial activation in AD, we obtained the brain samples of AD and disease controls with clinical dementia rating (CDR) scores from our collaborator, Dr. Shigeo Murayama (Tokyo Metropolitan Institute for Gerontology). We chose to analyze the expression levels for 20 genes related to neuroinflammation in precneus, a brain region where amyloid β protein is accumulated in the early stage of AD. Using CDR score, we selected the samples suitable for analysis, and are in process to analyze the correlation between the expression levels for candidate genes. In addition, to identify the genes regulating phagocytosis of amyloid β by microglia, we examined the effect of inhibiting three candidate genes on phagocytic activity in primary microglia. Inhibiting gene X showed tendency to increase phagocytosis of amyloid β by microglia.

We analyzed the accumulation of amyloid β and microglial activation in the brain sections of AD model mice (APP-KI) by immunofluorescence and flow cytometry. We detected accumulation of amyloid β in 2-month-old cortex and 4-month-old hippocampus, and microglia activation in the vicinity of amyloid β deposition was observed from 4-month-old cortex and 6-month-old hippocampus. More robust changes in microglial activation and amyloid β deposition were observed in the aged APP-KI mice.

To establish the novel behavioral tasks for assessing cognitive functions in AD model mice, we developed a behavioral test program using the touch-screen devices. In this program, mice were trained to recognize and discriminate illuminated square images presented on the screen. In this year, we evaluated the cognitive performance of wild-type mice using a newly developed behavioral program as a first step. Wild-type mice (C57BL/6 strain) were able to choose the correct images through the training. Moreover, we performed the Location discrimination task, in which the mice have to discriminate two identical images presented in the defined distance. Although wild-type mice were able to discriminate two images, they exhibited lower performance when the image was located very close to the other one. Therefore, the novel behavioral test using a touch-screen device was feasible to evaluate cognitive function of wild-type mice.

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
- (4) 特許出願
なし