

論文の内容の要旨

論文題目

Deficits in memory-guided limb movements during obstacle avoidance locomotion
in Alzheimer's disease mouse model

(アルツハイマー病モデルマウスにおける障害物回避歩行時の記憶誘導性動作の障害)

氏名 瀬戸川 将

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) 患者の転倒は、健常高齢者に比べて高い確率で発生すること、その際にはしばしば外傷や骨折をはじめ、死亡事故に至ることが報告されている。AD 患者に転倒が多い原因の一つとして、AD により生じる認知機能の低下が関与していると考えられている。転倒要因を調べた疫学的調査によると、転倒の原因としては障害物との衝突や躓(つまず)きが高い割合を占めていることが報告されている。

我々が障害物を安全かつ適切に跨ぎ越す際には、視覚情報による動作の制御だけでなく、事前に獲得した障害物の情報を一時的に記憶し、その記憶をもとに下肢の動作を制御することが重要である。例えば、健常被験者は、障害物を跨ぎ越す際に障害物を注視していないことが報告されている。また、健常被験者は障害物回避の 5 歩前に視覚情報が遮蔽された場合であっても、障害物と接触することなく回避動作を行うことが可能である。これらの結果は、障害物回避動作が記憶にも依存していること、すなわち記憶誘導性の動作であることを示唆している。

ところで、AD 患者は障害物回避時の下肢と障害物の接触数が増加することが報告されている。このように、AD 患者の認知・記憶障害は障害物回避動作中の躓きや、それにもなう転倒に関与している可能性がある。先行研究において、下肢と障害物の接触の要因は踏切時の足の位置と障害物の距離が短くなることが関与しており、障害物回避時のつま先の不正確な挙上によるものではないと考えられてきた。但し、この知見は被験者への視野の制限や、踏切位置の指定といった実験的操作を加えた際に得られたデータをもとにしている。一方で、近年、実験的制約が無い場合であっても健常被験者が障害物と接触することや、その接触到障害物回避時の不正確なつま先の挙上高が関与していることが示唆された。また障害物回避課題中に認知課題行う二重課題を用いると、AD 患者の踏切位置は変化しないにもかかわらず、つま先の挙上高の低下と接触数の増加が観察された。これらの結果から、障害物回避時に必要な記憶機能の障害や、それに伴う下肢の挙上高の低下は、AD 患者

の接触数の増加に関係している可能性が想定される。

この問題を解決するためには、実際に障害物を跨ぎ越す際に生じる躓きの要因を動作学的手法により検討するだけでなく、AD 発症に伴う記憶障害が歩行中の障害物回避動作に与える影響や、中枢神経系で生じる神経病理学的変化との関係も含めて明らかにする必要がある。四足動物は、障害物回避歩行に関与する神経基盤の探索や、パーキンソン病などの神経変性疾患が障害物回避歩行へ動作学的にどのような影響を及ぼすかなど、明らかにするために用いられてきた。また障害物回避歩行中の四足動物の後肢は、視覚的に障害物を確認しながら動作を遂行できないことから、障害物回避歩行と記憶の関係を調べるためのモデルとして有用と考えられている。これに関わる最近の研究において、障害物回避歩行(跨ぎ越し動作)に重要な認知機能の一つである、身体情報に関わる作業記憶(身体性作業記憶)の存在が示唆された。前述したAD患者が高い接触数を有する原因の一つに、ADが身体性作業記憶の低下を引き起こしている可能性がある。そこで本研究では、動物モデルを用いた新規の実験課題を構築し、AD発症によって生じる躓きと記憶障害の関係を明らかにすることを目的とした。

本研究では、アルツハイマー病動物モデルとして、3xTgマウスを用いた。このマウスは、加齢とともにヒトのAD患者の組織学的病理所見と類似した脳の変性を示す。3xTgマウスは、4~5カ月齢からヒトのAD患者と類似した病理的所見を示す。そこで本研究では、野生型マウス、2~5か月齢(若齢)および10~13か月齢(高齢)の3xTgマウスの3群を用いた。実験終了後に高齢3xTgマウスの脳切片を免疫組織化学的手法により解析したところ、AD発症に関わるアミロイド β (A β)の顕著な沈着を確認した。

2章では、このマウスが障害物回避中にどの程度の頻度で障害物と接触するか調べるために、歩行時に前方の障害物を跨ぎ越す際の四肢の動作を高速度ビデオカメラにより記録した。その後、記録映像から障害物を跨ぎ越す際の障害物と最初に接触した肢の接触率を算出した。高齢3xTgマウスは、コントロール群のマウス(野生型マウス、若齢3xTgマウス)と比べて最初に跨ぎ越す後肢の接触率のみが増加していた。さらに、加齢の影響を調べるために18カ月齢の高齢野生型マウスの接触率を調べたが、コントロール群と比較して変化は見られなかった。先行研究では、四足動物の障害物回避時の前肢の動作に、視覚認知や注意機能が重要な役割を果たし、後肢の制御は前肢に比べて記憶情報に依存していると考えられている。すなわち、高齢3xTgマウスの前肢の接触率には影響がみられなかったことは、AD発症による視覚認知や注意機能の低下が後肢の接触率を引き起こす要因ではないと考えられる。高齢3xTgマウスにおいて後肢特異的に接触率が増加した原因としてAD発症による記憶障害が関与していると考えられるが、その一方で、ADによる運動機能障害の影響によって生じた可能性も推測される。そこで、平面歩行および障害物回避歩行時の後肢の動作解析を行った。記録は、前述の方法と同様に高速度カメラを用い、障害物回避動作の記録は、成功試行のみを対象とした。動作のキネマティクスを調べるため、後肢の各関節にマーカーを設置した。また、マウスの運動協調能力およびバランス能力の評価としては、回転棒課題を用いて行った。その結果、平面歩行時の後肢のつま先の高さ、歩行速度、歩幅、遊脚時間に、3群間において変化は観察されなかった。またコントロール群と同様に、高齢3xTgマウスも障害物回避時に障害物高さに応じてつま先の高さを適切に調節することが可能であった。

近年、四足動物の障害物回避歩行時の後肢の制御には作業記憶が関与していることが示唆された。上述したように、高齢3xTgマウスにおける後肢の接触率増加は、後肢を制御す

る際に必要な作業記憶の障害が関与している可能性がある。そこで 3 章では、障害物回避歩行時の後肢の制御に関わる作業記憶能力を、げっ歯類において測定可能な新規のパラダイム（遅延障害物回避課題）を構築し、高齢 3xTg マウスの障害物回避時に必要な作業記憶能力が障害されているかどうか調査した。

遅延障害物回避課題は、通路を前進してきたマウスの前肢が障害物を跨ぎこした後に、予め設置してあったエサにより制止させ、エサを前方に引くことで誘導するものである。制止状態のマウスは障害物を視覚的に確認できないため、後肢の動作は主に事前の視覚情報をもとに行わなければならない。また、つま先の軌跡を評価するため、マウスが制止している間に障害物は撤去される。マウスが障害物を記憶している場合、再び前進する際の障害物設置位置において、つま先が設置されていた障害物より高い位置を通過する。制止期間は ~30 秒をランダムに行い、3 種類の障害物の高さを用いた。動作の評価は、通路の側方から撮影された高速度ビデオカメラの記録映像をもとに左右のつま先の高さ、軌跡、踏切位置を測定した。

野生型マウスは 10 秒以内の制止期間において、後肢のつま先を設置されていた障害物より高く拳上することが明らかとなった。また、約 20~30 秒の制止期間においてコントロール課題（平面歩行）時のつま先の高さを超える拳上が観察された。また若齢 3xTg マウスは、制止期間の増加とともに後肢のつま先の高さの減少が観察されるものの、10 秒以内の制止期間であれば正確に障害物を記憶できることが明らかとなった。一方で、高齢 3xTg マウスは、10 秒以内であってもつま先の高さが設置されていた障害物より低下する事が頻繁に観察された。これらの結果より、高齢 3xTg マウスは、作業記憶能力が障害されていることが示唆された。本研究の結果より、AD により生じる躓きに、作業記憶障害が関与している事が実験的に示された。

4 章では総括論議として、障害物回避歩行中の記憶誘導性動作に関わる神経基盤について議論した。先行研究において、後頭頂葉が歩行時の記憶をもとにした後肢の制御に深く関わっていることが報告されている。後頭頂葉が破壊されたネコは障害物回避歩行時の障害物と前肢の接触数が増加すること、また遅延障害物回避課題の成績が著しく低下することが報告されている。一方で高齢 3xTg マウスは、遅延障害物回避課題の成績は低下したが、障害物回避歩行時の前肢の接触数は変化しなかった。この先行研究の結果との不一致は、高齢 3xTg マウスの歩行中の記憶誘導性動作の障害が後頭頂葉以外の領域において引き起こされた可能性を示唆する。前頭前皮質は後登頂葉と非常に強い解剖学的神経線維連絡を有している領域の一つである。また、サルの上肢のリーチングを対象とした研究において、これらの 2 領域から記憶誘導性動作に関わるニューロン活動が計測された。そのため、後頭頂皮と同様に、前頭皮質も歩行中および遅延後の後肢の制御に関わっている可能性がある。3xTg マウスの前頭皮質は、大脳皮質の中で最も A β が早く蓄積する部位としても知られている。そのため、本研究で生じた高齢 3xTg マウスの記憶誘導性動作の障害は AD により生じた前頭皮質の機能障害が関与していると推測される。

まとめとして、3xTg マウスは AD 発症により障害物回避課題を行う際の後肢の最初に跨ぎ越す肢の接触率のみが増加することが報告された。一方、動作学的解析および行動学的実験を行った結果、高齢 3xTg マウスにおいて歩行障害およびバランス障害は観察されなかった。また遅延障害物回避課題をもちいて、歩行時の後肢の制御に重要な役割を果たす作業記憶能力を測定した。その結果、高齢 3xTg マウスにおいて顕著な作業記憶の障害が生じていることが示された。本研究で得られた結果より、AD 患者の障害物回避歩行時の作業記

憶能力における障害が躓きや転倒に関与していることが示唆された。また、ADモデル動物を用いた実験系の確立は、今後、転倒や躓きを引き起こす神経機序の解明に繋がる可能性があると考えられる。