

論文の内容の要旨

獣医学専攻
平成 27 年度博士課程入学

氏名 谷口紗貴子
指導教員名 伊藤公一

論文題目 加齢に伴う海馬シナプス機能の変化とそのメカニズムの解明

現在我が国は他に類例をみないほどの超高齢社会に突入している。長い人生をより良いものにしていくためには最期まで元気に暮らせる社会、すなわち健康長寿社会の実現が望ましいが、認知症をはじめとする加齢性の脳機能低下は健康寿命を短縮させる大きな要因である。また、認知症は患者本人の自立生活が不可能になるのに加え、介護者も制約を受けることから現代社会において多くの国民の **Quality of Life** を低下させており、本人のみならず国民全体の問題となっている。

加齢に伴う認知機能低下の初期には、内側側頭葉の大部分を占める海馬との関連が深い能力の低下が見られることが明らかにされている。海馬における長期増強(**long-term potentiation; LTP**)はシナプス可塑性の代表例であり、今日では記憶・学習のメカニズムを考える上で最も重要な研究対象の一つとなっており、加齢に伴う記憶・学習能力の低下にも海馬 **LTP** の加齢性変化が関与していることが多くのグループにより示唆されてきた。しかし、多くの傍証は報告されてきたものの、**LTP** の加齢性減弱がどのような過程を経て起こるのかの全容は解明されていない。本研究では **LTP** をはじめとする海馬シナプス機能の加齢性変化を観察し、そのメカニズムの一端を明らかにすると共に、機能低下を改善/加速させる因子に関する検討を行った。本研究のゴールは加齢に伴う記憶・学習能力の低下のメカニズムを理解し、どのように予防し、治療するか、という対策を見つけることである。この最終目的には今後さらなる研究によって多くのステップを経る必要があるが、本論文ではその初期のステップとして、以下に示す 4 つの実験を行った。

① 老化促進モデルマウスの海馬 CA1 シナプスの電気生理学的特徴の解析

筆者はまず、**LTP** が加齢性に減弱するメカニズムを明らかにする上では根拠となるデータが不足している状態であると考えた。よって、老化促進モデルマウス (**Senescence-Accelerated Mouse Prone 8; SAMP8**)とその対照系統である **SAM Resistant 1 (SAMR1)**を用い、**LTP** をはじめとする海馬シナプス可塑性に関する電気生理学的パラメータを網羅的に取得すると共に **SAMP8** が電気生理学的にも有用なモデル動物となるかを検討した。その結果、**SAMP8** においては興奮性シナプス後場電位(**field excitatory post synaptic potential; fEPSP**)や

LTP が加齢性に減弱すること、通常老化を示す SAMR1 に比べて LTP が減弱して行く時期が早いことが明らかとなった。また、同時に LTP 発現に最も重要である NMDA (N-methyl-D-aspartate)型グルタミン酸受容体や、老化の指標であるとともにシナプス可塑性にも様々な影響を持つとされる酸化/抗酸化マーカーを時間軸に沿って測定した。その結果、LTP が減弱し始める時期には NMDA 受容体の発現量には変化が見られないこと、血中/海馬酸化ストレスも上昇していないことが明らかとなった。つまり、老化の初期段階では酸化ストレスや NMDA 受容体の変化に先立って LTP の減弱が見られ、シナプス伝達の異常などといった機能的変化、いわゆる「機能的リモデリング」が起こっている可能性が示された。また LTP と同時に取得した各種電気生理学的パラメータの解析により paired-pulse ratio (PPR)の減少や fEPSP 波形の再分極時間の延長が見られたことから加齢による LTP の減弱にはシナプス前終末の Ca^{2+} クリアランス異常が関与していることが示唆された。

② 海馬シナプス機能の加齢性変化と Ca^{2+} 動態の関連性

若齢個体とは異なり、老齢個体では不必要な細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が見られる。そのため老齢個体では Ca^{2+} 感受性リパーゼやプロテアーゼの過剰な活性化により、神経の変性等のいわゆる「構造的リモデリング」や神経細胞死が起こりやすくなると考えられている。さらに Ca^{2+} は神経伝達物質の放出や LTP 発現の際に必要なことから老齢個体における Ca^{2+} 動態の変化は海馬シナプス機能の加齢性変化にも密接に関与していると思われる。また、前章では海馬 CA1 領域における LTP の加齢性減弱にシナプス前終末の Ca^{2+} クリアランス異常が関与している可能性が示唆された。よって本章では海馬における Ca^{2+} 動態の加齢性変化と海馬 LTP の加齢性減弱の関連性について明らかにすることを目的とした。

先行研究において示唆されていた老齢個体における SK (小コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^{+})チャンネルおよびリアノジン受容体の活性化について、薬理学的方法論を用いてこれらの活性の変化が海馬 LTP の加齢性減弱に与える影響を検討した。SK チャンネル/リアノジン受容体のそれぞれの阻害剤存在下で老齢個体の LTP を記録したところ、有意な変化は見られなかった。本研究からは SK チャンネル/リアノジン受容体の加齢性変化の LTP の加齢性減弱に対する影響は小さいと考えられた。さらに前章で示唆されたシナプス前終末の Ca^{2+} クリアランスの異常の原因として NCX (Na^{+} - Ca^{2+} 交換輸送体)および SERCA (小胞体 Ca^{2+} ポンプ)の機能低下の可能性が考えられたため、それぞれの阻害剤存在下における fEPSP 波形、PPR、LTP などの各種電気生理学的パラメータを取得した。その結果、いずれの項目にも有意な変化は見られなかった。本研究では Ca^{2+} クリアランスに関連する NCX/SERCA が加齢性に機能低下しているという証明をすることはできなかったが、実験系の改善の余地もあり、今後細胞内の他の Ca^{2+} 結合タンパクや SNARE 複合体などシナプス小胞放出関連因子にも目を向けてシナプス前終末の Ca^{2+} クリアランスの加齢性変化に関する、より詳細な検討を行う必要がある。

③ 海馬シナプス可塑性の加齢性減弱に対する食品成分の効果

高齢者においては認知症以外の疾患も多く見られるため、多剤投与による薬物有害作用が問題となりやすい。よって日常的に取り入れられる方法で加齢による脳機能低下の進行を予防できることが望ましい。そこで近年では日常的に摂取する食品による脳機能改善効果にも目が向けられており、認知機能の低下を遅らせる効果が期待される食品成分が数多く報告されている。本章では、その中でも加齢性脳機能低下に特に効果のあることが示唆されている Acetyl-L-carnitine (ALCAR)と N-acetyl-D-mannosamine (ManNAc)の2つの物質に着目し、これらが加齢性に減弱した LTP に与える影響を検討した。

SAMR1 および SAMP8 に ALCAR/ManNAc をそれぞれ長期経口投与した結果、両成分ともに作用機序は異なるものの、加齢により減弱した LTP を改善することが明らかとなった。一方でいずれの成分も老化が進みすぎた場合、例えば2年齢の SAMR1 においては効果が見られなかったことから、LTP の改善効果には臨界期が存在すると考えられた。つまり、加齢による LTP 減弱の初期段階は可逆的で上記成分の投与により回復の可能性があるものの、老化の進行により LTP の減弱は不可逆的なものとなることが示唆された。

④ 高血圧自然発症モデルラットの海馬 CA1 シナプス機能の解析

糖尿病・高血圧・脂質異常症といった生活習慣病は認知症のリスクを高めるとされている。中でも高血圧に関しては二次的な悪影響のみならず、血圧の高低そのものが認知機能に影響しているという統計結果があり、特に中年期における高血圧が認知症のリスクを増大させると考えられている。よって本章では、中年齢の高血圧自然発症モデルラット (Spontaneously hypertensive rat; SHR)とその対照系統である Wistar Kyoto rat (WKY)を用いて中年齢期の高血圧が海馬 LTP に与える影響の検討を行った。

モリス水迷路試験による空間認知機能の評価を行ったところ、SHR は WKY に比べてブラットホーム位置付近への滞在時間が有意に延長していた。また、電気生理学実験による海馬 CA1 シナプス機能の評価を行ったところ、SHR の LTP は WKY と比較して有意に増大していた。これまで SHR において脳に病変が見られることなどから、慢性的な高血圧状態への暴露は記憶・学習能に悪影響を与えると考えられてきたが、どの試験においても SHR がより良い成績を取めたことより、SHR は WKY よりも高い記憶・学習能力を有していることが示唆された。また、その理由として SHR と WKY の遺伝的背景の違いが影響している可能性が考えられた。高血圧が加齢性脳機能低下を加速する因子であるのかを検討するには、WKY と SHR の遺伝的背景の違いの解析を始めとしたさらなる検討が必要であるが、これらを通じて新たな加齢性脳機能低下改善のターゲットの発見につながる可能性が示された。

以上の結果を踏まえ、本研究の成果を加齢に伴う記憶・学習能力の低下の予防/治療につなげるためには、特に LTP 減弱の初期段階である加齢性の「機能的リモデリング」のメカ

ニズムを明らかにする必要があるだろう。さらに本研究により加齢による LTP の減弱にはシナプス前終末の機能低下が関与していることが示唆され、Ca²⁺ホメオスタシスという視点で詳細に検討していく必要があると考えている。