

審査の結果の要旨

氏名 坂内 太郎

本研究は慢性脳虚血がアルツハイマー病 (AD) において脳内でのアミロイド β ($A\beta$) の蓄積を亢進させるメカニズムを解明するため、両側総頸動脈狭窄 (BCAS) 術を施行した AD モデルマウス (APP/PS1 マウス) に対して、脳微小透析法を用い慢性脳虚血が脳内 $A\beta$ 代謝に与える影響を動的に解析し、脳内 $A\beta$ の蓄積を促進させる機序の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型マウス (C57BL/6J マウス) に対し両側総頸動脈狭窄 (BCAS) 術を施行し、慢性虚血状態が保たれていることを、脳表血流の測定、および、脳梁粗鬆化の病理学的評価により確認した。BCAS 術後では、灰白質の神経細胞死は伴わずに、白質に特異的な脳梁の粗鬆化をきたし、BCAS マウスの作成において再現性が保たれることが示された。
2. AD モデルマウス (APP/PS1 マウス) に対して BCAS 術を施行し、Y-maze test により空間作業記憶を評価した。BCAS 術後 5 週 (15 週齢) の段階では、sham 群と比して空間作業記憶の低下は認めず、発症前段階、つまり“preclinical”な状態であることが示唆された。
3. APP/PS1 マウスに対して BCAS 術を施行し、慢性脳虚血下で脳内 $A\beta$ の蓄積が亢進することを確認した。BCAS 術後 30 週 (40 週齢) では、 $A\beta$ プラーク面積が有意に増大し、慢性脳虚血と $A\beta$ 沈着との関連を探究する上で有意な動物モデルとなることが示された。また、BCAS 術後 APP/PS1 マウスの段階的脳抽出液不溶性画分中における $A\beta$ 量が増加する傾向にあることが示された。
4. $A\beta$ 産生量を制御する β セクレターゼ・ γ セクレターゼ、 $A\beta$ の特異的分解酵素である Neprilysin 等の変動を測定し、 $A\beta$ 代謝に関わる因子を western blotting により評価した。脳内 $A\beta$ 量を変動しうる因子が、BCAS 術により変化しないことが示された。
5. 慢性脳虚血が脳内の $A\beta$ 代謝に与える影響を直接測定すべく、脳微小透析法を用いて慢性脳虚血下における脳内 $A\beta$ 代謝の動的な変化を解析した。BCAS 術後では、脳間質液中の $A\beta$ 40, 42 の総量が減少し、 $A\beta$ 42 の半減期が短縮することが示された。以上の結果から、慢性脳虚血が脳内 $A\beta$ の凝集を促進させる可能性が考えられた。
6. 慢性脳虚血下で $A\beta$ の凝集が促進されていることを直接確認するため、脳抽出液の PBS 可溶性画分のゲル濾過クロマトグラフィーを行った。BCAS 術後では、高分子量 $A\beta$ 分子種が増加する傾向にあることが示された。

7. BCAS 術後の AD モデルマウスの髄腔内に注入した蛍光トレーサーの動態を 2 光子顕微鏡で観察し，脳間質液のフローが停滞することが示された．これらの結果から，慢性脳虚血下では，脳間質液のフローが停滞することで，脳内 $A\beta$ の凝集が促進される可能性が考えられた．

以上，本論文は BCAS 術を施行した AD モデルマウスを用いて，慢性脳虚血により脳間質液のフローが停滞し，脳内 $A\beta$ の凝集が促進されることで，脳内 $A\beta$ の蓄積が亢進する可能性を明らかにした．本研究はこれまで未知に等しかった，慢性脳虚血がアミロイド病を促進させるメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ，学位の授与に値するものと考えられる．