

審査の結果の要旨

氏名 種井 善一

本研究は、アルツハイマー病モデルマウスにおいて、長期的な神経活動の亢進がアミロイドβ (Aβ) の蓄積に及ぼす影響を明らかにすることを目的としている。その方法として、投射関係が確立されている嗅内皮質と海馬を結ぶ貫通線維路を、光遺伝学により長期的に活性化することを試み、免疫組織化学的に Aβ の蓄積や、脳間質液を半透膜プローブで回収する *in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて海馬間質液を回収し、長期刺激下における Aβ 分泌の解析を試みたものである。

モデルマウスは神経細胞特異的な発現の得られる Thy1.2 プロモーター下に家族性アルツハイマー病変異であるスウェーデン型変異 (K670N/M671L : Aβ 総産生量を増加) およびオーストリア型変異 (T714I : 凝集性の高い Aβ 42 比率を増加) を併せ持つヒト *APP* を過剰発現したトランスジェニックマウス (A7) を使用している。また、光遺伝学においては、光開口性非選択的陽イオンチャネルであるチャンネルロドプシン 2 (開口時間 13.5 ms) の改変体で、開口時間が約 30 分間と長い、Stabilized step function opsin (SSFO) を使用している。Aβ が蓄積する直前や Aβ の蓄積の見られないより若齢の時期から、473 nm, 4 mW, 2 秒の光刺激を 1 日 1 回、1 ヶ月間から 5 ヶ月間にわたって繰り返し行った上で解析を行い、下記の結果を得ている。

1. 光遺伝学を用いた貫通線維路の長期刺激により、投射先の海馬歯状回分子層における Aβ 蓄積が増加した : Aβ 斑が形成される直前の 10.5 月齢から 1, 3, 5 ヶ月間、雌の A7 マウスに 1 日 1 回光刺激 (473 nm, 4 mW, 2 秒) を施行した結果、1, 3 ヶ月間の刺激では、歯状回分子層における Aβ 蓄積に刺激側と非刺激側の間で差を見出せなかったが、5 ヶ月間の刺激において SSFO を発現させた A7 マウスの刺激側に有意な Aβ 蓄積の増加を認めた ($p < 0.01$, Student's t-test)。一方で EYFP を発現させた A7 マウスでは左右差を見出せなかった。また、貫通線維路の起始の神経細胞体が存在する、外側嗅内皮質においては Aβ 蓄積に左右差を見出せなかった。
2. 貫通線維路の長期刺激による Aβ 蓄積増加には、刺激の時期および期間の影響が示唆された : 上記の結果に併せ、若齢の 5.5 月齢から 5 ヶ月間の刺激や、海馬に Aβ 斑が出現した後の 12.5 月齢から 3 ヶ月間の刺激では左右差を見出せなかった。
3. 貫通線維路の長期刺激により、投射先の海馬間質液中の Aβ 濃度が上昇した : 4-7 月齢から 3 ヶ月間、貫通線維路を刺激した A7 マウスを用いて、*in vivo* マイクロダイアリシス法により投射先の海馬間質液を回収し、Aβ 濃度を測定したところ、光刺激前 3 時間

の平均値と刺激後 9 時間の最高値を比較すると、EYFP を発現させたマウスでは有意な増加を見出せなかったが、SSFO マウスでは有意な増加を認めた。

4. 光遺伝学を用いた貫通線維路の長期刺激により、キンドリングが形成された：SSFO を発現させたマウスのみ、光刺激直後に顔面や頭部、前肢などに部分発作が見られ、刺激開始 2 週から 1 ヶ月の間に全身性間代性痙攣へ移行した。

以上、本論文は A β 斑を有するアルツハイマー病モデルマウスにおいて、貫通線維路の長期刺激により、投射領域に A β 蓄積の促進を認め、長期間の神経活動の亢進が A β 蓄積増加を来しうる可能性を実験的に示唆した。本研究はこれまで殆ど検討されていなかった、長期的な神経活動の変化による A β 蓄積への影響の解明の端緒としての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。