加齢性脳機能障害における発達期要因の解明

田中 智子

東京都医学総合研究所精神行動医学研究分野

(ストレス科学研究 2020, 35, 74-75)

目 的

本研究では「アルツハイマー病の発症要因として発達期のストレスがあることの実証」を目指した、新しい研究を立案した。

アルツハイマー病 (AD) は記憶などの認知機能の進行性障害を特徴とする疾患である。これまで AD は加齢などの成人期以降の後天的要因が重要であると考えられてきたが、近年、発達期の環境要因も重要であるという疫学的知見が得られている (Seifan et al., 2014)。我々はこのことに注目し、AD の原因を発達期ストレスという新しい観点から解明したいと考えた。我々はこれまでに、齧歯類における発達期のストレスである母子分離ストレスがヒト型アミロイド前駆体タンパク質 (APP) 変異ヘテロマウスの空間認識記憶や文脈記憶の障害、AD の病理症状であるアミロイド β タンパク質 ($A\beta$) の沈着、プラーク形成を促進するという知見を得ており、発達期ストレスが AD 病態を促進することを実証している。また、APP 変異だけでも、母子分離ストレスのみでも軽度の脳毛細血管障害が惹起されることを明らかにしている。しかしながら、より重篤な障害である血液脳関門の破綻は、APP 変異と母子分離ストレスが重なった場合でのみ、誘発されることを確認した。血管周皮細胞の機能不全は血液脳関門の破綻による血管障害や $A\beta$ クリアランスの低下を介して、AD の病態につながると考えられており、我々は環境要因である母子分離ストレスと遺伝的要因である APP 変異の相互作用が血管系症状の重症化を引き起こし、認知機能障害や $A\beta$ プラーク形成などの AD の病態発現促進につながったと推測している。そこで、母子分離ストレスがどのような潜在的变化を引き起こし、どのような経路を介して AD 病態発現を促進させるのかを検証し、AD の発症と発達期の環境要因の因果関係とその制御メカニズムを解明することを目指す。

方 法

・マウス：理化学研究所の西道隆臣チームリーダーらが作成したヒト型 APP を導入した APP 変異ヘテロマウスならびに野生型マウスを用いる (Saito et al., 2014)。APP 変異ホモマウスは $A\beta$ の沈着やプラークの形成が生後 120 日で確認されている一方、APP 変異ヘテロマウスは生後 210 日と症状進行が遅い。本研究では、家族性 AD が優性遺伝であること、AD 様症状発症前に母子分離ストレスの影響を検討するため、APP 変異ヘテロマウスと野生型マウスを用いる。

・母子分離ストレス：生後 2 日から 15 日まで、毎日午前 9 時から午前 12 時の間、母親と乳児マウスを別々の部屋に置き、母親から分離する。母親から分離する際、生命維持のため 31°C 付近に維持したヒートマット上に乳児マウスを入れたケージを置く。

・行動：母子分離ストレスを与えた APP 変異ヘテロマウスの生後 90-120 日で認められる認知機能障害がいつから発症するのかを確認するため、生後 45 日前後の思春期において、空間認知機能の記憶保持能力を評価する物体位置認識試験、連合学習の文脈記憶を評価する恐怖条件付け試験を実施する。また、AD 病態へのミクログリア関与を検討するため、ミクログリア活性化抑制薬を母子分離ストレス後、離乳時から飲水投与することより、成長後の認知機能にどのような影響を与えるか検討する。

・解剖、生化学的解析：母子分離ストレスを与えた APP 変異ヘテロマウスの生後 90-120 日で認められる脳血管障害がいつから発症するのかを確認するため、生後 45 日前後の思春期において、解剖学的検証を行う。母子分離ストレスならびに / または遺伝的要因によるミクログリアへの影響を、ミクログリアの活性や形態を指標として検証する (免疫染色法)。また、ミクログリアの機能的変化を検証するため、サイトカイ

ンアッセイを行い、脳内の炎症性サイトカインの量を測定する。行動解析と同様、ミクログリア活性化抑制薬を母子分離ストレス後、離乳時から飲水投与することより、成長後の血管症状にどのような影響を与えるか、因果関係を直接的に検討する。

結果・考察

我々は、発達期ストレスがADのリスクファクターになることを実証したことに加え、ミクログリアが最初の変化であることを見出し、ミクログリアと血管の相互作用による脳血管障害が、血液脳関門の破綻を惹起し、AD病態を促進する可能性を示した(Tanaka et al., 2020)。

これまでに得られた我々の知見に加え、今回、初期のA β プラークが血管周囲で形成されるという結果が得られたことから、血管障害がA β プラークの形成に重要と推測した。したがって、脳血管障害がAD病態につながる可能性が考えられる。これは近年注目されている、AD発症における血管仮説を支持する。

これまでに母子分離ストレスが血液脳関門の発達を遅延させることが報告されている。しかしながら、離乳時には成熟化することがラットを用いた研究で報告されている(Gomez-Gonzalez et al., 2009)。我々も生後45日齢では血管障害は見出されず、より後期の生後120日齢で見出した。これは、発達期ストレスが成長後に障害を惹起しており、「将来の健康や特定の病気へのかかりやすさは、胎児期や生後早期の環境の影響を強く受けて決定される」というDOHaD仮説に合致する。一方、通常飼育のAPP変異ヘテロマウスでは、血管壁へのフィブリンの蓄積が認められ、母子分離ストレスを処置した両群とは異なる形で脳血管障害が引き起こされることが考えられる。現に、AD患者やADモデルマウスにおいて、血流量の低下や毛細血管の構造破壊が認められており、APP変異ヘテロマウスにおいてもAD病態発現前に血管障害が起きていると考える。

母子分離ストレスが惹起する変化として、最も先行してミクログリアの形態変化が認められた。以前より、母子分離ストレスによりミクログリアの活性化が惹起されることは報告されていたが、ストレス直後に注目したことが多い。本研究において、母子分離ストレスを処置したAPP変異ヘテロマウスにおいて、思春期にストレス誘発性のコルチコステロンの遊離増加などのストレス応答性の異常が認められた。近年、ストレスによるコルチコステロンの生成は骨髄からのモノサイトの血管への遊走を促進し、血管へのモノサイトの付着を促進することが報告された(Niraula et al., 2018)。また、血管へ付着したモノサイトからのIL-1 β

が血管内皮細胞を刺激し、CCL2の分泌を促し、脳実質内のミクログリアの血管への遊走増加を引き起こすということが報告されている(McKim et al., 2018)。これまでに、炎症による血管へのミクログリアの作用として、早期には血管内皮細胞との結合により、血液脳関門に対して保護的に、後期にはアストロサイトのエンドフィートの貪食など、血液脳関門に対して障害的に働くことが知られており、本研究においても、思春期の時点ですでにミクログリアの作用は障害性に移行している可能性も考えられる。母子分離ストレスを処置した成体の感覚運動野において、ミクログリアの移動性が増加するという報告もあり、これが何を引き起こすのかを推測することは難しいが、血管障害を検出している可能性がある。我々の研究においても、成体期にミクログリアの血管周囲への遊走が母子分離ストレスを処置した野生型およびAPP変異ヘテロマウスで増加し、この増加は母子分離ストレスを処置したAPP変異ヘテロマウスで増強した。一方、APP変異のみでも、先行してミクログリアの形態変化が見出されており、A β オリゴマーによる血管障害が、ミクログリアの活性化を惹起した可能性がある。ミクログリアと血管には、非常に深い関わりがあり、我々の系では検出できていない脳血管系の変化がミクログリアの変化を惹起させ、それによって引き起こされるミクログリアと血管の相互作用により、AD病態に発達する可能性も考えられる。

現在、本研究で認められたAD病態に対するミクログリア活性化抑制薬の効果を検証しており、研究のさらなる発展へつなげたい。

得られた結果の社会貢献性・新規性・独創性

発達期ストレスがAD病態を促進することを実証した我々の結果は、ストレス誘発性のAD発症モデルマウスの作製につながったと考えられる。ADは老年期においても転居や入院などのストレスにより発症や症状悪化が報告されたとおり、本モデルマウスはADの病態解明、予防法開発に重要である。

また、本研究で、初めて、ADモデルマウスで血管系の変化に先行してミクログリアの変化を同定できた。したがって、ミクログリアは新たな予防のターゲットになりうることで、また、その変化は新たなADのバイオマーカーになりうることを示された。

発達期ストレスが血管障害をはじめとして、成長過程及び成長後の脳の機能・構造に重大かつ継続的な諸問題を引き起こす機序を明らかにすることは、前兆症状からの診断による早期介入により発症を未然に防ぐ手段の開発につながる。