

長寿医療研究開発費 221年度 総括研究報告

老化適応仮説に基づく脳神経系の老化機序解明に向けた研究（21－26）

主任研究者 木村 展之 国立長寿医療研究センター 実験動物管理室

研究要旨

アルツハイマー病（AD）の発症機序は未だ不明であるが、最大の発症リスク因子は老化である。近年、老化もまた病的変化の1つであるにとらえる新たな考え方が広がりつつあるが、老化を単なる病的変化としてではなく、不可逆な時間の経過に伴い生じる連続性の環境変化に対する細胞・組織レベルでの適応であると捉えれば、各個人の適応能力の差が認知症をはじめとする老年性疾患の発症に直結するとも考えられる。このため、経時的な脳の老年性変化を分子レベルで明らかにすることが認知症の病態機序解明にとって不可欠であると考えられるが、若い健常者から脳組織を研究用に採取することは極めて困難であり、時系列を追って詳細な追跡を病理学的に進めることも不可能に近い。そこで本研究では、ヒト脳老化のサロゲートモデルとして実績のあるカニクイザルを活用し、ヒトと共通性の高い脳の老化機構を明らかにすることで、未だ不明な認知症の発症機序解明に繋げることを目的とする。

主任研究者

木村 展之 国立長寿医療研究センター 病因遺伝子研究室長

A. 研究目的

ADの発症機序は未だ不明であるが、リスク遺伝子の有無によらず後期高齢者の多くが認知症を発症するという事実から、認知症は脳の老化の延長と考えることもできる。また、老化を単なる病的変化としてではなく、不可逆な時間の経過に伴い生じる連続性の環境変化に対する細胞・組織レベルでの適応であると捉えれば、各個人の適応能力の差が認知症をはじめとする老年性疾患の発症に直結するとも考えられる。このため、経時的な脳の老年性変化を分子レベルで明らかにすることは認知症の病態機序解明にとって不可欠であるが、神経変性疾患に罹患していない健常者から脳組織を研究用に採取することは極めて困難であり、若齢から時系列を追って検索を進めることもまた不可能に近い。そこで本研究では、ヒト脳老化のサロゲートモデルとして実績のあるカニクイザルを活用し、老化を絶え間ない環境変化に対する適応反応であると捉える新たな観点からヒトと共通性の高い脳の老化機構を明らかにし、未だ不明な認知症の発症機序解明に繋げることを目的とする。

る。

老人斑や神経原線維変化といった AD 病変は動物の脳にも老年性に形成されることから（齧歯類は除く）、種を超えた脳老化の指標とも言える。また、動物においても AD 病変の形成は個体差が存在するため、各個体によって脳老化の進行は異なる＝細胞・組織レベルでの適応能力が異なることを示しており、その差異の原因となる分子メカニズムの解明は、脳の老化機構の理解につながると考えられる。

そこでまず、既に保有するカニクイザル脳組織から AD 病変が①極めて少ない群と②極めて多い群を選抜し、各種 AD 病変の好発部位を用いてプロテオーム解析を行う。プロテオーム解析により変化が確認された蛋白質のうち、まずは老化に伴う神経変性に関与する可能性が高い因子にターゲットを絞り、各種培養細胞を用いたノックダウン解析等により生物学的影響を明らかにする。さらに、先行研究により実施したカニクイザル脳組織のマイクロアレイ検索結果と照合し、遺伝子発現変化との相関性についても検証する。

本研究の成果により、AD 病変の形成＝脳老化の背景に存在する分子機構の解明とともに、脳の老化そのものを予防・改善するための新規薬剤ターゲット同定につながる可能性が期待できる。また、本研究ではヒトに近縁な高等霊長類であるカニクイザルをヒト老化のサロゲートモデルとして用いるため、得られた研究成果もまたヒトへの高い外挿性が期待できる。

B. 研究方法

（木村（展））

まず、医薬基盤・健康・栄養研究所 霊長類医科学研究センターに由来するカニクイザル（AD 病変が形成されはじめる 25 ± 3 歳以上の個体 28 頭を用いる）の脳組織から病理組織切片を作成し、免疫組織化学的手法を用いて A β および Tau 病変レベルを検索する。

カニクイザル脳組織では、主に嗅内皮質や隣接する側頭葉皮質において AD 病変の形成が確認される。そこで、側頭葉皮質から細胞膜とエクソソーム膜を豊富に含む膜画分を抽出してプロテオーム解析を行い、老化に伴う膜の質的变化を明らかにする。

（倫理面への配慮）

実験動物を用いた研究については、「動物の愛護及び管理に関する法律」に基づいた動物福祉規定に則り、実験動物の飼育・安楽殺・実験作業を遂行した。具体的には、動物を飼育する場所・ケージ・管理方法に配慮し、可能な限り動物の使用数減少と被る苦痛の減退に努め、所属機関の動物実験規定を遵守して研究を行った。

C. 研究結果

(木村 (展))

免疫組織化学的検索の結果、検索に用いた 28 個体のうち、AD 病変の形成が非常に少ない個体が 8 例 (30 歳以上の超高齢個体含む)、逆に病変形成の多い個体が 6 例確認され、それぞれ本研究の研究対象とすることを決定した。

ショ糖濃度勾配法、およびフィルター濾過法を組み合わせで抽出した膜画分を用いたプロテオーム解析により、病変形成の程度により発現量に変化する因子を 10 種類同定することに成功した (論文発表していないため、因子名の記載は控える)。

D. 考察と結論

新たに同定された 10 因子の多くが神経伝達系と何らかの関係を有するため (例: レセプター結合性蛋白質が多い)、プロテオーム解析と同じサンプルを用いて Westernblot による生化学的検索を行った。その結果、N 数が少ないこともありプロテオーム解析で同定された因子自体の発現変化に統計学的な有意差は確認できなかったものの、病変形成の激しい個体では Arc や cFos といった神経活動に伴い変動する分子 (= 神経活動の指標となる分子) の蛋白質発現量が上昇していることが明らかとなった。これらの結果から、現時点では因果関係は不明ではあるが、AD 病変の形成は神経伝達系の変化と関連する可能性が示唆され、昨年度までの研究成果 (長寿研究開発費 19-17) で明らかになったシナプス長期抑制と Tau 蓄積のように、神経活動の変化と脳老化との関係性を支持する結果が得られた。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Koinuma S, Shimozawa N, Yasutomi Y, Kimura N. Aging induces abnormal accumulation of A β in extracellular vesicle/intraluminal membrane vesicle-rich fractions in nonhuman primate brain. *Neurobiol Aging* 106: 268-281, 2021

2. 学会発表

1. 木村展之, 鯉沼真吾, 下澤律浩, 保富康弘. 老年性 A β 病変進行における細胞外微小胞 (EV) の重要性.
第 29 回サル疾病ワークショップ, 2021 年 7 月 17 日, Web 開催
2. 木村展之. 霊長類研究によるアルツハイマー病への挑戦: Nonhuman primates and

Alzheimer' s disease research: a potential of zoobiquity.

第 37 回日本霊長類学会（公開市民講座）, 2021 年 7 月 18 日, Web 開催

3. Kimura N, Koinuma S, Shimozawa N, Yasutomi Y. Exosome secretion affects intracellular/extracellular A β levels: aging alters intraneuronal localization of exosomes in cynomolgus monkey brains.

第 64 回日本神経化学会, 2021 年 10 月 1 日, Web 開催

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。