

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17003

研究課題名(和文) ヒト剖検脳とモデルマウスを用いた脳アミロイド血管症の病態解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pathogenesis of cerebral amyloid angiopathy using model mice.

研究代表者

水谷 あかね (Mizutani, Akane)

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50836989

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：脳アミロイド血管症(CAA)は加齢に伴い増加し、血管性認知症の発症に関与するほか、アミロイドのクリアランスを低下させアルツハイマー病の進行にも関与する。本研究はCAAモデルマウスを用いてCAAの発症機序を解明すること目的としている。まず、CAAモデルマウスにおいて、脳血管の基底膜の内側にAPP770の発現を確認したが、A β の沈着は確認されなかった。慢性低灌流負荷を加えたところ出血が増加することを確認したが、ウェスタンブロッティングでは炎症関連分子の発現に有意差は見られなかった。今後、慢性低灌流負荷による出血増加の機序の解明や、治療介入により病態改善がみられるか確認していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病と血管性認知症は臨床・病理学的に相加的に発症・進行に寄与することが分かってきた。A β が脳から排泄される過程で脳血管に沈着し形成される、脳アミロイド血管症(CAA)は混合型認知症の第一の原因であり、いずれの認知症の進行にも深く関連する。その病態解明はCAAのみならず、血管性認知症、アルツハイマー病両者の治療応用へとつながる可能性がある。本研究は新たに作成されたCAAモデルマウスをもちいてその病理変化や慢性虚血負荷の影響を評価した。血管内皮でのAPP産生のみではA β 沈着を来さないことが判明し、今後、A β の産生増加や慢性虚血負荷を加えることで、認知症を発症する機序を解明していく。

研究成果の概要(英文)：Cerebral amyloid angiopathy (CAA) increases with aging and is involved in the onset of vascular dementia, as well as in the progression of Alzheimer's disease due to decreased amyloid clearance. The purpose of this study is to elucidate the pathology of CAA using CAA model mice. First, in CAA model mice, expression of APP770 was confirmed inside the basement membrane of cerebral vessels, but deposition of A β was not confirmed. Chronic hypoperfusion stress increased bleeding, but Western blotting showed no significant difference in the expression of inflammation-related molecules. In the future, we plan to elucidate the mechanism of increased bleeding due to chronic low perfusion load, and to confirm whether therapeutic intervention can improve the condition.

研究分野：血管性認知症

キーワード：脳アミロイド血管症 CAA

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会に伴う認知症患者の増加は社会的及び医学的に重要な問題となっている。特にアルツハイマー病と血管性認知症の2疾患が認知症の8割を占める。高血圧、糖尿病、脂質異常症、肥満などの中年期の生活習慣病が血管性認知症だけでなく、アルツハイマー病の発症危険因子であることが明らかされた (de la Torre JC. Stroke 2002)。また臨床病理学的にもアルツハイマー病と血管病変は相加的に認知症発症に寄与することが報告され (Petrovitch, et al. Ann Neurol, 2005)、アルツハイマー病と血管性認知症が合併した混合型認知症は従来想定されてきたよりも高率であることが分かってきた。混合型認知症の割合が高率となる原因の第一がアミロイド血管症である。A β 型脳アミロイド血管症 (cerebral amyloid angiopathy; CAA) は A β が脳から排泄される過程で脳血管に沈着し形成されるもので、加齢とともに増加し、60歳以上の10~50%、90歳以上では74%にみられる (Tikka S, et al. Brain Pathol 2014)。さらに、CAAはアルツハイマー病の80~90%でみられ (Yamada M. Neuropathology 2000, Zahang-Nunes X, et al. Brain Pathol 2006)、CAAによる微小循環不全が A β のクリアランスを低下させ、アルツハイマー病の病態を増悪するとされる。

CAAは認知症の中核となる病態であり、その病態解明と形成過程への介入はCAAのみならず、血管性認知症とアルツハイマー病の治療応用へとつながることが予想される。しかし、CAAを特異的に発症するモデル動物はこれまでなかった。研究協力者の北爪らは APP のアイソフォームの一つである APP770 の脳血管内皮細胞での発現を初めて明らかにし (S. Kitazume, et al. J Biol. Chem, 2010)、血管内皮特異的にヒト APP770 を発現する CAA 発症モデルマウスの作成に成功した (Yuriko Tachida, et al. J Biol Chem. 2022)。このマウスの病態解析を行い、CAAの病態を解明し、CAAのみならずアルツハイマー病、血管性認知症の治療応用へと展開するための研究基盤を確立する。

2. 研究の目的

今回の予備実験では、TREM2が血管内皮細胞に発現する可能性が示唆された。また、18ヶ月齢のCAA発症モデルマウスの脳では、脳内に多発出血病変を認めた。TREM2はアルツハイマー病の発症に強くかかわっていることが示唆され、その発現はミクログリアが中心とされている。このことから、CAAの病態形成においてもTREM2を含めた炎症病態の関与が疑われ、本研究ではCAAのヒト剖検脳とCAA発症モデルマウスの血管内皮におけるTREM2を含めた炎症関連分子の発現を確認し、CAAの病態形成におけるTREM2の役割、炎症の関与を明らかにしようと考えた。

3. 研究の方法

(1) CAA剖検脳におけるTREM2発現を明らかにする CAA剖検脳合計22例 (type 1計12例、type 2計10例) に対し、抗TREM2抗体を用い免疫組織化学的な検討を行った。予備実験ではCAA type1にのみ脳小血管のTREM2発現を認めた。さらなる検討として、血管内皮細胞マーカー (CD31)、ペリサイトマーカー (PDGFR)、ミクログリアマーカー (Iba1)、神経細胞マーカー (NeuN)、アストロサイトマーカー (GFAP)、オリゴデンドロサイトマーカー (NG2)、オリゴデンドロサイト前駆細胞マーカー (PDGFR) を用いた二重染色を行い、血管内皮細胞におけるTREM2発現を明らかにする。

(2) CAAモデルマウスにおけるTREM2の発現を明らかにする

CAAモデルマウスにおけるTREM2の発現を確認する。ヒト剖検脳と同様にCD31、PDGFR、Iba1など各種マーカーと合わせて検討し、TREM2の発現細胞を確認する。また脳小血管におけるTREM2の発現や月齢による経時変化を確認する。TREM2変化についてはWestern blotting法を用い、経時変化を確認する。

(3) 慢性低灌流負荷がCAAモデルマウスの病態を促進することを確認する

変異APP遺伝子を過剰発現するCAAモデルマウス (Thy1-APP^{SwDutIowa}マウス) に慢性脳低灌流負荷を加えることで神経変性の加速が報告されている (Yamada M, Tomimoto H, et al. PLoS One 2011)。またタウ過剰発現マウス (T44-Tg) においても慢性脳低灌流脳負荷により病理学的変化の促進が確認されている (Shimada T, Shindo A, et al. in submission)。CAAモデルマウスに慢性脳低灌流負荷 (bilateral common carotid artery stenosis; BCAS, Shibata M, Tomimoto H, et al. Stroke 2004, Shindo A, Tomimoto H, et al. Brain Res 2013) を行うことで血管病変の変化を確認する。Baboonの慢性低灌流モデルでは白質のアストログリアにオート

ファジーが観察された(Chem A et al. Brain, 2016) ことから、LC3 などの染色も行い、オートファジーとの関連を検討する。

4 . 研究成果

毛細血管性への A β 沈着を伴う CAA (capillary CAA, CAA type I) のヒト剖検脳において、アミロイド沈着が高度な内径 5~50 μ m の小血管~毛細血管で TREM2 の発現を認めた。TREM2 は血管壁に沿って全周性に認め、血管内皮細胞での発現が疑われた。一方、毛細血管への A β の沈着を伴わない CAA type II のヒト剖検脳では TREM2 の発現は認めず、TREM2 が CAA type II の病態下で血管内皮細胞に発現し、その病態形成に関わっている可能性が考えられた。

しかし、CAA モデルマウスでは脳血管の基底膜の内側に APP770 の発現を確認したが、A β の沈着は確認されず、TREM2 の発現も認めなかった。慢性低灌流負荷を加えたところ出血が増加することを確認したが、ウェスタンブロッティングでは炎症関連分子の発現に有意差は見られなかった。今後、慢性低灌流負荷や A β 産生亢進による CAA 病態の進行や出血増加の機序の解明や、治療介入により病態改善がみられるか確認していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------