

血管性認知症モデルマウスの病態進行に対する酸化脂質の関与

阿部, 真紗美

<https://hdl.handle.net/2324/7182408>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (創薬科学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :



氏 名 : 阿部 真紗美

論文題名 : 血管性認知症モデルマウスの病態進行に対する酸化脂質の関与

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

【序論】

血管性認知症 (VaD)は、脳血管障害を起因として生じる、アルツハイマー病に次いで患者数の多い認知疾患であり、本疾患に対する承認薬は現状存在しない。その一方で、脳は酸化されやすい多価不飽和脂肪酸を豊富に含む臓器であり、重量に対する酸素消費量が多いため、脂質過酸化反応が亢進しやすい環境下にある。また実際に、本疾患患者において脂質過酸化反応代謝産物の有意な増加が観察されていることに加え、酸化脂質は脳実質細胞において細胞死を誘発することや、炎症反応を亢進させることが報告されている。以上の背景より、脂質過酸化反応が VaD の発症・進展に寄与しており、病態抑制のためのターゲットになるのではないかと考えた。そこで、VaD モデル動物を用い、脂質過酸化反応抑制剤が病態保護効果を示すかどうか、モデル動物の脳ではいつどのような酸化脂質が生成するかについて調べることにした。

【方法】

本研究では VaD を再現するモデルとして、両総頸動脈にマイクロコイルを装着することで慢性的な脳低灌流状態をもたらす両側総頸動脈狭窄 (BCAS)モデルマウスを用いた。また、脂質過酸化反応抑制剤として、所属研究室でのスクリーニング系にて見出した化合物であるエトキシキンおよびメチルドパを用い、BCAS マウスに対し術前 30 分および術後に週 3 回もしくは週 5 回経口投与した。

第二章では BCAS 術後 4 週のマウスに対し、新奇物体認識課題および Y 迷路を行い、作業記憶障害を評価した。また術後 4 週の BCAS マウスの脳切片を Klüver-barrera 染色し、脳梁部位の形態を観察した。BCAS 術後 1 週のマウスの脳白質領域および海馬はタンパク質を抽出し、western blotting にてミクログリアおよびアストロサイトマーカータンパク質の発現量を測定した。第三章では BCAS マウスにおけるフェロトーシス関連因子の変動について、術後 4 週までのマウス脳組織を用い RT-PCR あるいは LC/MS/MS にて測定した。酸化リン脂質の測定は、BCAS 術後 6 時間から 1 週のマウス脳組織から海馬および脳梁を分取し、脂質を抽出後 LC/MS/MS にて実施した。また、術後 3 日の BCAS マウスにおいてメチルドパ投与群を作成し、酸化リン脂質およびホスホリパーゼ mRNA 発現量を測定した。

【結果・考察】

第二章では、BCAS マウスの VaD 病態を脂質過酸化反応抑制剤の投与により抑制可能かどうか検討した。本モデルでは術後 4 週で白質部位の髄鞘の脱落および作業記憶障害が観察される。エトキシキンおよびメチルドパの BCAS マウスへの投与は、術後 4 週において生じる白質部位の病変を抑制し、新奇物体認識課題および Y 迷路で評価する作業記憶障害を有意に抑制した (Fig. 1)。さらに、BCAS マウスでは白質病変や作業記憶障害に先立ち、術後 1 週からミクログリアや

アストロサイトが活性化する。各細胞マーカータンパク質の発現量を western blotting で測定したところ、エトキシキンおよびメチルドパの投与は BCAS 術後 1 週での脳梁や海馬領域における各タンパク質の発現量増加を抑制した。以上の結果より、脂質過酸化反応抑制剤は VaD モデルマウスの病態を抑制可能であり、VaD 治療に対する脂質過酸化反応抑制の有用性が示された。

第三章では BCAS マウスの脳を経時的に観察し、いつ脂質過酸化反応が亢進するのか、どのような酸化脂質が生成するかについて評価した。酸化脂質依存的な細胞死であるフェルトーシスが BCAS マウスで生じているか評価した結果、術後 1 日、3 日、1 週の BCAS マウス脳組織では関連因子は変動しなかった。その一方で、脂質過酸化代謝産物の測定を行った結果、術後 1 週までに脂質過酸化反応が亢進していることが示唆された。また LC/MS/MS により酸化リン脂質の含量変動を測定したところ、術後 3 日以降の脳梁部位において一部のホスファチジルコリン (PC) の二酸化物で増加が観察された。ここでメチルドパを投与した BCAS マウスを作成し、酸化脂質生成を抑制可能か検討した。その結果、メチルドパ投与群では、術後 3 日において増加した酸化 PC がさらに増加した (Fig. 2a)。この結果より、慢性的な脳低灌流時には、継続的に酸化脂質が生じており、それと同時に酸化脂質を還元、もしくは加水分解し切断する機構が働いているのではないかと考えた。そこで BCAS マウスの脂質代謝酵素の遺伝子発現を測定したところ、一種のホスホリパーゼ mRNA 量が BCAS マウスで増加した一方で、メチルドパの投与により抑制された (Fig. 2b)。この結果より、メチルドパは酸化リン脂質から切り出されて生成する脂質メディエーターの産生を抑制し、病態の進行を抑制することが示唆された。

【結論】

本研究では、VaD における脂質過酸化反応の関与を、抑制剤を用いて明らかにし、実際に生じる酸化脂質の解析を行った。本研究で明らかにした酸化脂質が本病態の原因分子となるか、どのような生理活性を有するかはいまだ不明である。今後、病態下で生じた酸化脂質を分取もしくは合成し、神経細胞やグリア細胞等の脳実質細胞へ添加した際の応答を評価することで酸化脂質がどのような機能を有するか明らかに出来ると考える。加えて、本研究により酸化脂質が VaD 病態を促進するメカニズムや、その下流のターゲット分子の解明につながることが期待される。

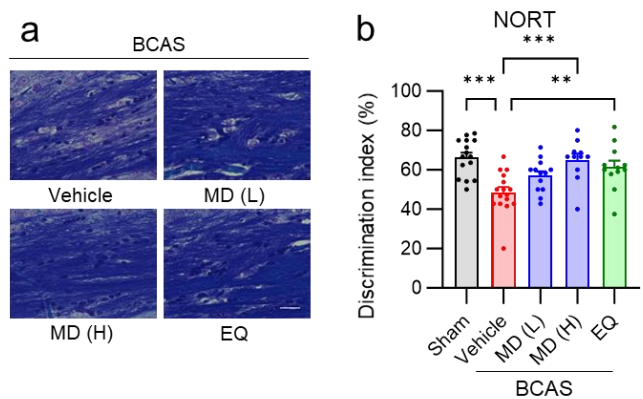


Figure 1. BCAS 術後 4 週における脳梁部位の白質病変評価 (a) および新規物体認識課題 (NORT) における新奇物体を探索した割合 (b)。MD: メチルドパ、EQ: エトキシキン

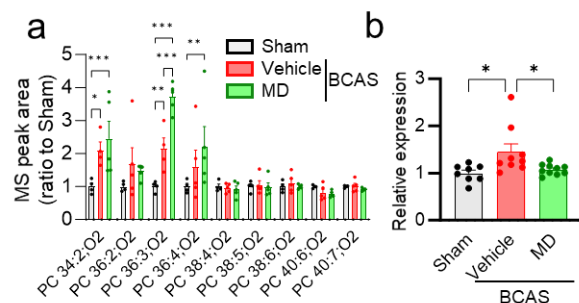


Figure 2. (a) BCAS 術後 3 日の脳梁における酸化 PC (二酸化物) の生成量変動 (n = 4–5, *p < 0.05, **p < 0.01 and ***p < 0.001,) (b) BCAS 術後 3 日の線条体におけるホスホリパーゼの mRNA 量 (n = 8–10, *p < 0.05) MD: メチルドパ