

海馬神経新生と空間記憶

-アルツハイマー病モデルラットにおける T-817MA の作用-

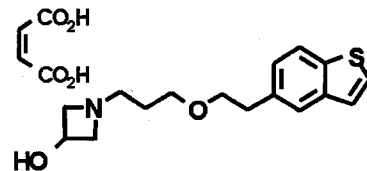
富山化学工業株式会社 総合研究所

主任研究員 木村 龍生

はじめに

進行性の神経変性疾患であるアルツハイマー病は、世界的に患者数が増加しており、今後も加速的に進む社会の高齢化に伴い、その予防・治療法の確立が急務となっている。さらに、アルツハイマー病に関する最近の研究進歩は著しいが、根本治療が見込める治療薬は市場に存在していない。T-817MA (図 1) はアルツハイマー病の進行を抑制・改善を目指す治療薬として、現在米国で臨床試験が行われており、神経突起の伸展作用や神経保護作用を有することが報告されている¹⁾。一方、近年まで、成体の脳で神経細胞の新生が起こらないことは、神経科学の一つの常識であったが、成体の海馬などで神経細胞の新生が起こることが広く知られるようになってきた^{2,3)}。また、海馬は学習・記憶に重要な役割を果たしているとともに、アルツハイマー病などの神経変性疾患や虚血によって損傷を受けやすい部位でもある⁴⁾。以上から、海馬において、新生された神経細胞が可塑性を基盤とする学習・記憶の成立過程や傷害を受けた際の修復機構に関与していることが十分予想され、我々は、海馬に傷害を呈するアルツハイマー病モデルラットを用いて、T-817MA の学習障害及び神経新生に及ぼす作用を検証した^{5,6)}。

図 1 T-817MA の構造式



研究方法

1) アルツハイマー病モデルラットの作製: Yamada らの方法⁷⁾に準じて行った。麻酔下で Wistar ラットの頭頂部を切開し、持続注入用のアミロイドβタンパク (1-40) 調製液 (300 pmol/day) または溶媒を充填した浸透圧ポンプ (Alzet2002) を接続した脳室内投与用カニューレを、加えて内側前脳束に ICSS 報酬用電極を埋め込んだ。アミロイドβタンパク又は溶媒は 10 週間の実験期間中継続して持続注入した。

2) 薬物投与: T-817MA, 塩酸ドネペジルおよび蒸留水は、アミロイドβタンパク注入 4 週間

後より実験終了日まで6週間、毎日1回経口投与を行った。T-817MAの用量は8.4 mg/kgと0.84 mg/kgに設定し、塩酸ドネペジルは、学習記憶障害ラットに対する改善作用を示した報告⁸⁾を参考に0.5 mg/kgを設定した。また、アミロイドβタンパクを脳室内持続注入し、蒸留水を投与する群をアミロイドβ群としアミロイドβタンパクを含まない溶媒のみを同様に脳室内持続注入して蒸留水を経口投与する群をVehicle群とした。

3) 場所学習課題の遂行： アルツハイマー病モデルラットの学習障害を明らかにするために、以下の手順により遂行した^{5,6)}。

3-1) ICSS 訓練： 手術1週間後、スキナー箱内でレバー押しによるICSSの訓練を行い、脳内自己刺激の報酬価が一定になるように電流強度を調節した。

3-2) 場所探索課題： ラットを円形オープンフィールド(図2)内に置き、報酬場所を探索させた。

3-3) 場所学習課題： オープンフィールド内に固定した2箇所の報酬場所をラットが交互に移動するとICSSを獲得できるように設定した(図3)。この時の学習成立過程を、各群間で比較・解析した。

図2 場所学習実験装置

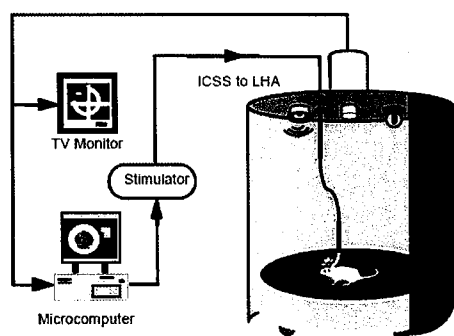
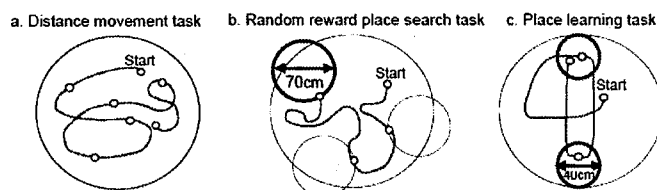


図3 場所学習課題



4) 組織標本の作製と解析：

実験終了後、ラット脳の薄切切片標本を作製した。ヘマトキシリン-エオジン染色を行い、各標本の海馬歯状回の組織学的変化を観察し、各群の神経細胞傷害を定量的に解析した。また、海馬における新生細胞を同定するため、ポリシアル酸およびプロモデオキシウリジンを抗体として用いた免疫染色法を実施し、海馬歯状回の新生神経細胞数を観察し、計測を行った。

実験結果及び考察

海馬の神経細胞傷害に応じて、アルツハイマー病モデルラットでは場所学習形成の障害がみられ、

この場所学習障害に対して、T-817MA 8.4mg/kg は改善効果を示した (図 4)。また、アルツハイマー病モデルラットでは海馬歯状回の新生神経細胞数の著しい減少がみられたが、T-817MA 8.4mg/kg はこれを改善した (図 5)。

図 4 場所学習実験の結果

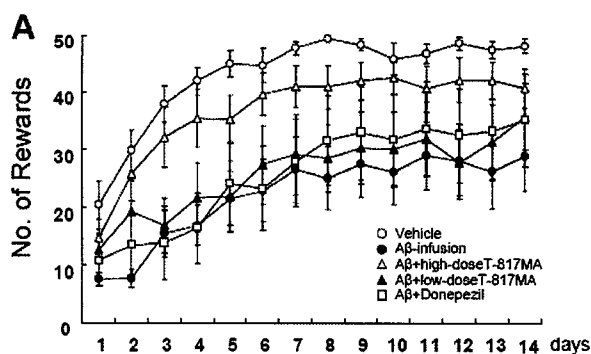
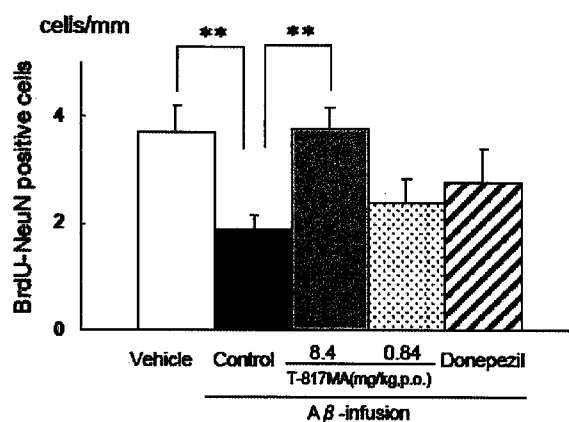


図 5 神経新生細胞数計測の結果



さらに、新生神経細胞の数と場所学習の形成には相関がみられたことから、T-817MA のアルツハイマー病モデルラットにおける場所学習障害の改善には、T-817MA の有する神経新生促進作用が関与していることが示唆された。

参考文献

- 1) Hirata K, Yamaguchi H, Takamura Y, Takagi A, Fukushima T, Iwakami N et al. (2005). A novel neurotrophic agent, T-817MA [1-{3-[2-(1-benzothiophen-5-yl) ethoxy] propyl}-3-azetidino maleate], attenuates amyloid-β-induced neurotoxicity and promotes neurite outgrowth in rat cultured central nervous system neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 314: 252-259.
- 2) Cameron HA, McKay RD (1999). Restoring production of hippocampal neurons in old age. *Nat Neurosci* 2: 894-897.
- 3) Gross CG, (2000). Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nat Rev Neurosci* 1: 67-73.
- 4) Scoville WB, Milner B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 20: 11-21.
- 5) Nguyen PTH, Kimura T, Ho SA, Tran AH, Ono T, Nishijo H (2007). Ameliorative effects of a neuroprotective agent, T-817MA, on place learning deficits induced by continuous infusion of amyloid-β peptide (1-40) in rats. *Hippocampus* 17: 443-455.
- 6) Kimura T, Hong Nguyen PT, Ho SA, Tran AH, Ono T, Nishijo H. (2009). T-817MA, a neurotrophic agent, ameliorates the deficits in adult neurogenesis and spatial memory in rats infused i.c.v. with amyloid-β peptide. *Br J Pharmacol*. 157: 451-463.
- 7) Yamada K, Tanaka T, Senzaki K, Kameyama T, Nabeshima T (1998). Propentofylline improves learning and memory deficits in rats induced by beta-amyloid protein-(1-40). *Eur J Pharmacol*

349: 15-22.

- 8) Ogura H, Kosasa T, Kuriya Y, Yamanishi Y. (2000). Donepezil, a centrally acting acetylcholinesterase inhibitor, alleviates learning deficits in hypocholinergic models in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 22: 89-95.

略 歴

木村 龍生 (きむら たつお)

E-mail: tatsuo_kimura@toyama-chemical.co.jp

- 1989年 北海道大学理学部卒業
- 1989年 富山化学工業株式会社入社・総合研究所勤務
- 1991年 富山医科薬科大学（現富山大学）医学部第二生理学講座（小野武年教授）
へ研究員として出向
- 1993年 同講座より帰任
- 1999年 医学博士号取得（富山医科薬科大学・現富山大学）
- 1999年 New York University Medical Center, Department of Physiology and
Neuroscience (Rodolfo Llinás 教授)へ Professional Researcher とし
て出向
- 2002年 同講座より帰任
- 2004年 富山医科薬科大学（現富山大学）医学部分子・統合情動脳科学講座客員
助教授となる
- 2008年 同講座より帰任，現在に至る

所属学会名

日本生理学会，日本神経科学学会，日本神経精神薬理学学会，Society for Neuroscience
など