［別紙２］

審査の結果の要旨

氏名　齊　田　恭　子

アルツハイマー病(AD)は中年期以降に発症する進行性の神経変性疾患で、臨床的には記憶障害、見当識障害、判断力・思考力・実行機能の低下などの中核症状の他に、妄想、幻覚、不安、依存、徘徊、攻撃的行動、抑うつ症状、睡眠障害などの周辺症状を示す。症状改善薬としてはコリンエステラーゼ阻害薬の塩酸ドネペジルが軽-中等度の患者に、また、NMDA 受容体拮抗薬の塩酸メマンチンが欧米においてのみ重症度の患者に使用されているが、進行抑制薬は未だ上市されていない。患者の quality of life の観点、介護の問題からも、進行抑制薬開発のための病態解明が強く望まれている。

AD 患者脳における病理学的な特徴として、アミロイドβ蛋白（amyloid β: Aβ）を主構成成分とする老人斑（アミロイドプラーク）が挙げられる。その他に、神経細胞内に生じる線維状蓄積物である神経原線維変化および顕著な神経細胞脱落が認められる。異常形態を示す神経突起である神経変性突起の共存が認められるアミロイドプラークは neuritic プラーク（コンゴレッド陽性プラーク）と呼ばれ、その出現頻度が AD 患者の臨床スコアと相関することが報告されている。

進行抑制薬開発を目標として、AD の代表的な病理像であるアミロイドプラークと神経変性突起に着目し、これらの加齢に伴う量的及び質的変化(アミロイドプラークの数、体積、物理密度及び神経変性突起量)を指標とした検討を行った。実験には二種類の AD モデルマウス用いた。

脳内アミロイド蓄積と神経変性突起の加齢依存的変化の定量解析

Tg2576 マウスの脳内神経変性突起は抗リン酸化タウ抗体、抗ユビキチン抗体、抗 APP 抗体で染色された。また、リン酸化タウ陽性神経変性突起はコンゴレッド陽性、Aβ40 陽性プラークとは共存していたが、Aβ42 陽性プラークとは共存していなかった。

次に画像処理ソフトを用い、コンゴレッド陽性プラーク及びリン酸化タウ陽性神経変性突起の定量的解析を行った。加齢により神経変性突起総面積、コンゴレッド陽性プラーク総面積、コンゴレッド陽性プラーク数は加齢により顕著に増加したが、平均プラーク面積、個々のプラーク面積あたりの神経変性突起面積の割合は一定であった。

Tg2576 マウスよりも病理変化が速く進行する PSAPP マウスを用いても、プラーク面積あたりの神経変性突起面積の割合は一定であった。

以上より、神経変性突起の総量は加齢とともに増加するが、コンゴレッド陽性プラーク面積あた

りの値は一定であり、個々の neuritic プラークが加齢に伴い増大するのではなく、プラークの数が増えていることが示唆された。

位相差 X 線 computed tomography (CT) 法を用いたマウス脳内アミロイド蓄積と物理密度の加齢依存的解析

位相差 X 線 CT 法は、生体を構成している水素、炭素、窒素、酸素などの軽元素中では吸収よりも位相差によるシグナルが約 1000 倍高くなるという性質を利用し、従来の X 線 CT 法よりも高感度に生体組織内の微細な密度分布を可視化する方法である。アミロイドプラークは凝集性の高い Aβを主構成成分とし、電子顕微鏡下の観察において、βシート構造を有する凝集体として観察される。そこで、我々は新たなアミロイドプラーク解析の指標として物理密度に着目し、位相差 X 線 CT 法を用いて、PSAPP マウスのアミロイドプラーク可視化を試みた。

12 ヶ月齢 PSAPP マウスの摘出脳を用いた位相差 X 線 CT において、大脳皮質、海馬領域を中心とする広範な領域で高密度斑点の存在が認められた。この高密度斑点は、12 ヶ月齢の野生型マウスでは全く認められなかった。同位置の免疫染色切片像との比較により、高密度斑点は、Aβ40 陽性/Aβ42 陽性プラーク、コンゴレッド陽性プラークと非常に良く一致し、Aβ40 陰性/Aβ42 陽性プラークとは一致しないということが明らかになった。

次に、位相差X線 CT により検出されるアミロイドプラークの加齢変化を検討した。アミロイドプラーク数は 4 から 9 ヶ月齢までは増加するが、12 ヶ月齢では 9 ヶ月齢とほぼ同数であった。一方、アミロイドプラークの総体積は 4 から 12 ヶ月齢まで一貫して顕著な増加を示した。また、平均プラーク体積は、4 から 9 ヶ月齢まではほぼ一定の値を示し、12 ヶ月齢では 4 から 9 ヶ月齢と比べて顕著に増すということが明らかとなった。

アミロイドプラークの物理密度に対する度数分布を各月齢ごとにプロットすると、加齢により高密度側へのシフトが認められ、高密度側へのシフトの度合いは、9 から 12 ヶ月齢の間で特に顕著であった。すなわち、12 ヶ月齢においては 9 ヶ月齢以下では殆ど認められないような高密度なアミロイドプラークが形成されていることが明らかとなった。12 ヶ月齢で特異的に認められる高密度なアミロイドプラークと共存するリン酸化タウ陽性神経変性突起量は、低密度プラークに共存する神経変性突起量と比して有意に増加していた。また、高密度プラークは低密度プラークに比べて有意に平均体積が大きかった。

本研究により、アミロイドプラークの蓄積過程を明らかにした。すなわち、第一段階として、「個々のアミロイドプラークの性質(神経変性突起の共存割合、プラーク面積/体積)は一定に保たれたまま、アミロイドプラークの数が増加する」という数的増加を示す期間、第二段階として、「アミロイドプラークの数は増加せず、非常に高密度なアミロイドプラークが形成される」という質的変化

が起こる期間が想定された。位相差X線CT法による物理密度変化を指標としたアミロイドプラークの新規イメージング法は、アルツハイマー病の病態解明、アルツハイマー病の診断および治療薬の薬効評価に有用であると考えられる。今後、AD 患者脳で本仮説を検証することが必要である。本研究は神経病理学の進歩に貢献しただけでなく治療薬の評価パラメーターを新たに提示するものであり博士(薬学)の学位を授与するに値するものと認められた。