

学 位 論 文 題 名

糖代謝と老化との関連, 特に老化促進

モデルマウスの ATP 産生に関連して

学位論文内容の要旨

はじめに

老化モデル動物の一つである老化促進モデルマウス (Senescence Accelerated Mouse: SAM) の一系統, SAMP8は, 学習記憶障害を中心とした老化徴候を早期に呈し, 老年性痴呆の動物モデルとして老化の研究に広く用いられている。SAMP8の老化促進に関する研究は, Alzheimer病の患者において早期より脳のグルコース代謝が低下することと関連して, 主に糖-酸素代謝を中心に行われており, 脳のグルコース代謝の異常が検討されてきたが, フリーラジカルが主に産生される電子伝達系の代謝産物であるATP量については明らかにされておらず, SAMP8における糖代謝の亢進と老化との関連は十分に明らかにされているとは言えない。

本研究は, 学習記憶障害を中心とした老化徴候を早期に示すSAMP8を用いて, 糖代謝において発生するフリーラジカルと老化との関連を明らかにすることを目的として, SAMP8の脳を用いてアデノシン三リン酸 (ATP) 量, クレアチンリン酸 (Cr-P) 量, 過酸化脂質量を測定した。さらに食物摂取量, 体重, 自発行動量, 血中の糖質, 脂質などの測定を行い, これらと老化との関連について検討した。

実験方法

食物摂取量, 体重および自発行動量の測定には6, 9, 13カ月齢の雌性SAMP8系マウス (実験群) とSAMR1系マウス (対照群) の計36匹を用い, 1匹ずつ食物摂取量, 体重の測定を行ってから赤外線による実験動物用自発運動センサーを用いて自発行動量の測定を3日間行った。血液生化学検査および脳内ATP量, Cr-P量, 過酸化脂質量の測定には3カ月齢, 13カ月齢の雌性SAMP8とSAMR1を計23匹用い, エーテル麻酔下で心臓採血後, グルコース, 総コレステロール, BUN, 総ビリルビン, GOT, GPT, 総タンパク, アルブミン, カルシウム, トリグリセリド, 尿酸, LDHの各検査項目を京都第一科学社製Spotchem (SP-4410) により測定した。また, 無機リンはモリブデン酸アンモニウム法により, チモール混濁試験 (TTT), 硫酸亜鉛混濁試験 (ZTT) は消化器病学会肝機能研究班推奨の方法により行った。脳内ATP, Cr-Pおよび過酸化脂質量の測定は, 採血後, 直ちに脳を採取して, 液体窒素中で急速冷凍してから, 脳を左右の半球に分割し, 一方はATPおよびCr-P量, 一方は過酸化脂質量の測定に用いた。ATP, Cr-P量の測定にはLowryらの方法を, 過酸化脂質量の測定はチオバルビツール法を用いた。これらの実験における結果の統計学的な検討はStudents' t検定により行った。

結果

1. 食物摂取量, 体重および自発行動量

SAMP8はSAMR1に比較して, 6, 9カ月齢において食物摂取量の増加傾向が認められ, 13カ月齢において有意な増加が認められた。

体重は対照群のSAMR1においてのみ増加傾向がみられた。SAMP8とSAMR1との比較では, SAMP8の体重は, 6, 9, 13カ月齢のいずれにおいても有意に少ないことが認められた。

自発行動量はSAMP8, SAMR1ともに6, 9, 13カ月齢のいずれにおいても, 明期より暗期に有意に増加した。また, SAMP8では9カ月齢以降において, 6カ月齢に比較して加齢に伴う有意な行動量の減少が認められたが, SAMR1においては認められなかった。SAMP8とSAMR1の比較では, SAMP8の9, 13カ月齢において行動量の有意の減少が認められた。

2. 血液生化学的所見

加齢による変動については, SAMP8においてのみ総タンパク, カルシウムおよび無機リンが加齢に伴って有意な増加を示した。なお, その他の検査項目については加齢に伴う変動は認められなかった。

SAMP8とSAMR1との比較では, 総コレステロールについては3, 13カ月齢ともにSAMP8が有意な低下を示した。また, 総タンパクについて, SAMP8の13カ月齢において, SAMR1に比較して低下傾向が認められたが, アルブミンについてはSAMP8の13カ月齢で増加傾向が認められた。さらに, BUNについては, SAMP8の3カ月齢において, SAMR1に比較して有意な低下が認められた。なお, その他の項目についてはSAMP8とSAMR1間の有意差は認められなかった。

3. ATP量およびCr-P量

脳組織内ATPおよびCr-P量については両群とも加齢に伴う変動は認められなかった。また, SAMP8とSAMR1との比較では, 脳組織内ATPおよびCr-P量の有意な差は認められなかった。

4. 脳組織内過酸化脂質量

脳組織内過酸化脂質量については, SAMR1においてのみ加齢に伴う有意な減少が認められ, SAMP8とSAMR1との比較では, SAMP8の3カ月齢においてのみ同月齢のSAMR1に比較して有意な低下が認められた。

考察

SAMP8はSAMR1に比較して全ての月齢（6, 9, 13カ月齢）において, 食物摂取量（摂取食物エネルギー）が増加しているにもかかわらず, 体重（貯蔵エネルギー）の低下（6, 9, 13カ月齢）および自発行動量（消費エネルギー）の低下（9, 13カ月齢）が認められ, エネルギー代謝の不均衡が示唆された。これは, SAMP8で報告されているプロテオグリカンの蓄積やグルコース輸送量の異常との関連を示唆している。また, SAMP8の脳組織内過酸化脂質量は加齢に伴う変動が認められず, SAMR1に比較して3カ月齢において有意な減少がみられ, 若齢期からのフリーラジカル産生量の低下およびグルコース代謝の低下が示唆された。しかし, 自発行動量の加齢変化からみれば, 9カ月齢以降において初めて行動量の低下が認められており, 脳内グルコース代謝の低下が先行することが明らかとなった。このような, グルコース代謝の低下が考えられることに加え, 脳組織内ATP

およびCr-P量は若齢期、老齢期ともにSAMR1と同程度の存在であることから、ATPの利用の低下が推測された。また、SAMP8において血中コレステロールの低下が認められ、SAMP8の学習記憶障害を中心とする老化徴候の早期発現、各種生理機能の低下などに関与している可能性が示唆された。

結語

SAMP8の早期における学習記憶障害を中心とした脳の老化は、糖代謝の過程において発生するフリーラジカルによって引き起こされるというよりは、むしろ、糖代謝の低下およびATPの利用低下などの原因によるものであることが示唆された。この結果は老化機構の解明に役立つだけでなく、ヒトの老化の有効な防止法を確立するための重要な知見と考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齋 藤 和 雄

副 査 教 授 細 川 眞澄男

副 査 教 授 有 川 二 郎

学 位 論 文 題 名

糖代謝と老化との関連，特に老化促進

モデルマウスの ATP 産生に関連して

学習記憶障害を早期に示す老化促進モデルマウス(SAM)については、ヒトの老年性痴呆患者において脳のグルコース代謝が低下することと関連して、脳の糖代謝異常について検討されてきたが、フリーラジカルの産生と関係する電子伝達系の代謝産物であるATP量およびSAMP8における糖代謝の亢進と老化との関連は十分に明らかにされているとは言えない。

本研究は、学習記憶障害を中心とした老化徴候を早期に示すSAMP8を用いて、糖代謝において発生するフリーラジカルと老化との関連を明らかにすることを目的として、SAMP8の脳内アデノシン3リン酸(ATP)量、クレアチンリン酸(Cr-P)量、過酸化脂質量を測定した。さらに食物摂取量、体重、自発行動量、血中の糖質、脂質などの測定を行い、これらと老化との関連について検討した。

食物摂取量、体重および自発行動量の測定には6、9、13カ月齢の雌性SAMP8系マウス(実験群)とSAMR1系マウス(対照群)を対象としてそれぞれ1匹ずつ食物摂取量、体重の測定を行ってから赤外線による実験動物用自発運動センサーを用いて自発行動量の測定を行った。血液生化学検査(グルコース、総コレステロール、BUN、総ビリルビン、GOT、GPT、総タンパク、アルブミン、カルシウム、トリグリセリド、尿酸、LDH、チモール混濁試験(TTT)、硫酸亜鉛混濁試験(ZTT))、脳内ATP量、Cr-P量および過酸化脂質量の測定には3カ月齢、13カ月齢の雌性SAMP8とSAMR1を用いた。

その結果、SAMP8はSAMR1に比較して全ての月齢(6、9、13カ月齢)において、食物摂取量(摂取食物エネルギー)が増加しているにもかかわらず、体重(貯蔵エネルギー)の低下(6、9、13カ月齢)および自発行動量(消費エネルギー)の低下(9、13カ月齢)が認められ、エネルギー代謝の不均衡が示唆された。SAMP8の脳組織内過酸化脂質量は加齢に伴う変動が認められず、SAMR1に比較して3カ月齢において有意な減少がみられ、若齢期からのフリーラジカル産生量の

低下およびグルコース代謝の低下が示唆された。しかし、自発行動量の加齢変化については、本研究において、9カ月齢以降において初めて行動量の低下が認められ、このことは脳内グルコース代謝の低下が先行することによるためと推測される。このような、グルコース代謝の低下が考えられることに加え、脳組織内ATPおよびCr-P量は若齢期、老齢期ともにSAMR1と同程度の存在することが明らかとなり、ATPの利用の低下が推測された。また、SAMP8において血中コレステロールの低下が認められ、SAMP8の学習記憶障害を中心とする老化徴候の早期発現、各種生理機能の低下などに関与している可能性が示唆された。

これらのことから、SAMP8の早期における学習記憶障害を中心とした脳の老化は、糖代謝の過程において発生するフリーラジカルによって引き起こされるというよりは、むしろ、糖代謝の低下およびATPの利用低下などの原因によるものであることが示唆された。この結果は老化機構の解明に役立つだけでなく、ヒトの老化の有効な防止法を確立するための重要な知見と考えられる。

審査にあたって副査の細川教授からSAMの老化の原因遺伝子は解明されているのか、食物摂取量の増加と体重減少に関連してインシュリン量はどうか、甲状腺ホルモンの分泌と関連して基礎代謝の亢進についてはどうか、過酸化脂質の低下とフリーラジカル産生の低下との関連、SAMP8の寿命について、次いで副査の有川教授から、SAMP8の繁殖障害、実験結果の性差および時間的差、学習記憶障害が始まる時期、自発行動量は老化の指標となるか、老化の診断、治療、予防に関する考えについて質問があった。申請者はこれらの何れの質問に対しても文献引用を含めて妥当な回答を行った。

本論文で得られた事実は老化機構の解明に役立つものであり、審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。