

学 位 論 文 題 名

Neurochemical changes in the brain
of the senescence-accelerated mouse (SAM)
as an animal model for learning deficiency

(学習障害モデルとしての老化促進モデルマウス (SAM) 脳内の
神経化学的変化に関する研究)

学位論文内容の要旨

The senescence-accelerated mouse (SAM) has been established as a murine model for accelerated aging. SAM consists of the senescence-accelerated prone mouse (SAMP) and senescence-accelerated resistant mouse (SAMR), the latter showing normal aging characteristics. Of particular interest is that both of SAMP8 and SAMP10 strains of senescence-accelerated prone mice show a significant deterioration, advancing with age, in learning and memory.

Proinflammatory cytokines, such as interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), have been reported to be involved in the formation of neuritic plaques in Alzheimer's disease (AD) and an increase of these cytokines was demonstrated during aging. Therefore, the changes with age in expression of proinflammatory cytokines in the brain of SAMP8 in comparison with SAMR1 were investigated in this study.

In the hippocampus of 10-month-old SAMP8, the expression of IL-1 β mRNA was significantly elevated in comparison with that of SAMR1. However, in the cerebral cortex and the brain stem, the IL-1 β mRNA expression was not significantly different between the two strains of SAMs.

In both strains of SAMs at 10 months, increases in the protein levels of IL-1 β were observed in all brain regions investigated. The only significant differences in the levels of IL-1 β between the strains were higher levels at 10 months in the hippocampus and the hypothalamus of SAMP8. The protein levels of IL-1 β did not show any significant strain differences in the cerebral cortex and brainstem at the same age. On the other hand, the protein levels of TNF- α and IL-6 in the cerebral cortex and the hippocampus were significantly higher in 10-month-old SAMP8 than that of SAMR1, but not in the hypothalamus or the brainstem.

It has been reported that expressions of cytokines in response to lipopolysaccharide

(LPS) were altered with age. Then, the response of LPS-induced expressions of IL-1 β , TNF- α and IL-6 in the brain were investigated in 5-month-old SAMs. However, no significant differences in expression of these cytokines in response to LPS between SAMP8 and SAMR1 were observed suggesting that there may be no difference in the LPS receptor reactivity or the signal transduction pathway between two strains of SAMs at 5 months of age.

In 10-month-old SAMs, IL-1 β - immunoreactivity (ir) was observed in a distinct population of neuron like cell bodies in the paraventricular, lateral and ventromedial hypothalamic regions of both SAM strains. The distribution pattern of IL-1 β -ir cells was not much different between two strains.

The SAMP8 showed an increase in expression of proinflammatory cytokines like IL-1 β , TNF- α and IL-6. It was reported that the proinflammatory cytokines especially IL-1 β augments amyloid- β peptide cytotoxicity and enhanced APP mRNA expression in neurons. SAMP8 has been shown abnormal APP metabolism. The increase in the expression of proinflammatory cytokines in SAMP8 brain may be involved in the development of APP-like proteins, neuronal damage and gliosis observed in SAMP8. Moreover, IL-1 β , TNF- α and IL-6 have been reported to down regulate long-term potentiation (LTP) in the hippocampus. Therefore, increase in the expression of proinflammatory cytokines in the brain seems to underlie the age-related neural dysfunction and /or learning deficiency in SAMP8.

A novel inbred strain SAMP10 has shown age-related brain atrophy and learning deficiency. In the present study, we investigated the behavioral and neurochemical changes in SAMP10 brain. In the Morris water maze task and the forced swimming test, the SAMP10 showed learning deficiency and depressive behavior. Repeated administrations of desipramine in SAMP10 caused a significant decrease in immobility and showed that SAMP10 was sensitive to antidepressants. In the hippocampus of 9-month-old SAMP10, the ligand binding activity of muscarinic acetylcholine (mACh) receptors was decreased and the protein kinase C level was lower than that of SAMR1. It has been reported that the mACh receptors and protein kinase C were involved in learning and memory. The reduction of mACh receptors and protein kinase C in the brain seems to underlie dysfunction of learning and memory in SAMP10. The number of D₂ dopamine (DA) receptors increased in the cortex and midbrain, but the number of D₁/ D₅ DA receptors was not significantly different in brain regions of SAMP10 compared with those of SAMR1. The ligand binding to 5-hydroxytryptamine (5-HT)_{1A} receptors in the hippocampus and midbrain was significantly increased in SAMP10 but the ligand binding to 5-HT₂ receptors was not different between two strains. The involvement of DA and 5-HT receptors were also reported in human depression. The upregulation of D₂ DA and 5-HT_{1A} receptors seems to underlie a depressive behavior in SAMP10. Therefore, the SAMP10 may be a useful model for age-associated depressive behavior as well as learning and memory deficiency.

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	野 村 靖 幸
副 査	教 授	五十嵐 靖 之
副 査	助教授	井ノ口 仁 一
副 査	助教授	大 熊 康 修

学 位 論 文 題 名

Neurochemical changes in the brain of the senescence-accelerated mouse (SAM) as an animal model for learning deficiency

(学習障害モデルとしての老化促進モデルマウス (SAM) 脳内の
神経化学的変化に関する研究)

現在、多発しつつある老年性痴呆症あるいはアルツハイマー型痴呆症の研究、治療は重要課題であり、加齢に伴う神経化学的変化の研究、また、痴呆症予防薬およびその治療薬などの開発においてヒト病態に酷似する病態モデル動物が不可欠である。老化促進モデルマウス (Senescence Accelerated Mouse, SAM) は早期に老化徴候を自然発症し、短命であることを特徴としている。SAM の亜系統のうち SAMP8 系は加齢に伴い学習記憶障害を自然発症することより、痴呆を主とする神経変性疾患の病態解析や脳の老化機序解析のモデル動物として有用と考えられている。これまでに SAMP8 脳の神経化学的特徴について、海馬におけるアセチルコリン作動性神経系、グルタミン酸作動性神経系の異常やアミロイド前駆体蛋白質代謝の異常などが見出されている。

申請者は、今回 SAMP8 脳の海馬でサイトカイン含量が上昇していることを初めて見出した。また SAMP8 とは別亜系統で脳萎縮を来とし学習記憶障害を自然発症する SAMP10 が、うつ病的情動障害を伴い、脳アセチルコリン、ドパミンおよびセロトニン受容体量に異常を来しているという新知見を得、本学位論文として申請した。

SAMP8 脳の IL-1 β mRNA の発現は 10 ヶ月齢の海馬で対照の正常マウ

ス SAMR1 に比し有意に上昇することを認めた。IL-1 β 蛋白量は 10 ヶ月齢 SAMP8 の海馬および視床下部で有意に高値を示したが、大脳皮質、脳幹部では差は認めなかった。月齢による IL-1 β 蛋白の変化に関し SAMP8 および正常老化亜系の SAMR1 とともに 10 ヶ月齢で有意な上昇が認められた。一方、IL-6 および TNF- α 蛋白量は、10 ヶ月齢 SAMP8 の大脳皮質および海馬において SAMR1 に比し有意な上昇が認められた。

また、エンドトキシンに対するサイトカイン発現は加齢により変化することが報告されているが、SAMP8 におけるエンドトキシン(LPS)投与時の IL-1 β 、IL-6、TNF- α 発現の反応性は SAMR1 と比較しても変化を認めなかったことより、SAMP8 において LPS 受容体あるいはその細胞内情報伝達系には異常はないことを示唆した。免疫組織化学的に検討し、IL-1 β 免疫陽性細胞は主に視床下部の神経細胞体に局在していたがグリア細胞における発現は小さいことを示した。一方、免疫組織化学的には SAMR1 と SAMP8 の IL-1 β 免疫陽性活性に顕著な差は認めなかった。近年、アルツハイマー病患者の脳では炎症性サイトカインとくに IL-1 β の発現が高いこと、また IL-1 β は海馬における長期増強現象(LTP)を抑制することが明らかにされていることより、SAMP8 の学習記憶障害に脳サイトカイン発現の異常が関与する可能性を示唆した。

さらに、SAMP10 マウスの特徴について検討した。SAMP10 マウスは加齢に伴い大脳前頭部の脳萎縮を来とし学習記憶障害を自然発症する。SAMP10 マウスの情動異常について強制水泳法による結果から、SAMP10 は学習記憶能力の低下を示すとともに、うつ状態を伴う情動障害を起こしていること、また SAMP10 におけるうつの情動障害は三環性抗うつ薬感受性のタイプであること、さらに情動障害モデル動物として SAMP10 が有用であることを明らかにした。さらに神経化学的異常として SAMP10 M1-アセチルコリン受容体結合量およびプロテインキナーゼ C 量の減少や、ドパミン D2 受容体結合量およびセロトニン 1A 受容体の増加を認め、これらの異常が SAMP10 の学習記憶障害・うつの情動障害に関与している可能性を見出した。したがって、申請者は学習記憶障害モデルのみならず情動障害モデル動物として SAMP10 が有用であることを明らかにした。

以上、本審査委員会は本論文が、SAMP8 における学習記憶障害に脳サイトカイン発現の異常が関与する可能性を示唆するとともに、SAMP10 の情動障害モデル動物としての特徴および神経化学的異常を明らかにした内容であると判定し、博士(薬学)の学位を受けるに充分値すると認めた。