

老化促進マウス Senescence-accelerated mouse prone 6 (SAMP6) の脳高次機能における加齢変化に関する研究

学位論文内容の要旨

SAMP6 の骨密度は 4 ヶ月齢でピーク値を示し、加齢に伴ってコントロールマウスよりも急速に骨密度が減少することから、促進老化を示す骨粗鬆症のモデル動物とされてきた。近年、老化の指標とされる脳内 S100 β の蓄積が SAMP6 で加齢に伴って増加していることが報告され、中枢神経系領域における老化モデル動物としての可能性が注目されているが、その検討はあまり進んでいない。そこで本研究では、1 ヶ月齢（若齢期）、4～6 ヶ月齢（成熟期）、8～12 ヶ月齢（老齢期）のライフステージごとに包括的行動解析試験を行い、SAMP6 の加齢に伴う行動特性の変化とそのメカニズムを検討した。

包括的行動解析試験により、対照の SAMR1 マウスに比べて SAMP6 は生得的な高運動活性、低不安、短期記憶増加、運動協調性異常および抗鬱という行動特性を有していることが明らかとなった。SAMP6 は若齢期から成熟期までは高運動活性を示すが老齢期では SAMR1 よりも低運動活性を示すことから、SAMP6 の運動活性は、骨密度の変化と同様に成熟期をピークとする促進老化パターンを示すと考えられた。SAMP6 の運動協調性については、若齢期および老齢期では SAMR1 に比べて著しい異常が認められるが成熟期では部分的に回復することから、SAMP6 は生得的な運動協調性異常を示し、さらに成熟期をピークとする促進老化パターンを示すと考えられた。一方、低不安や抗鬱については、若齢期をピークとして加齢に伴って SAMR1 との差が減少したことから、促進老化とは異なるパターンで加齢の影響を受ける行動特性であると考えられた。また、短期記憶増加については明らかな加齢の影響は認められなかった。これらの結果から、SAMP6 の行動様式を対照である SAMR1 と比較して加齢の影響について分類すると、促進老化パターンを示す行動特性（促進老化様行動特性）として高運動活性および運動協調性異常、促進老化とは異なるパターンの加齢の影響が認められる行動特性（加齢依存的变化を伴う行動特

性)として低不安および抗鬱、明らかな加齢の影響が認められない行動特性(非加齢依存的行動特性)として短期記憶増加、の3つに分類することが出来た。そこで、それぞれの行動特性に関連すると報告されている脳内各部位の神経伝達物質の含量、生合成酵素や受容体発現量などを測定した。

SAMP6 の促進老化様行動特性のうちの高運動活性について、運動機能に関わる分子としてよく知られているドーパミンシステムに着目し、そのメカニズムを生化学的手法および薬理学的手法により検討した。若齢期の SAMP6 の線条体および側坐核で、ドーパミン合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素およびそのリン酸化フォームの発現量が増加していることから、SAMP6 の脳内ドーパミン量増加が示唆され、SAMP6 の高運動活性に関わる生得的な異常の1つであると考えられた。また、成熟期の SAMP6 の線条体で D1 受容体の発現量増加、D1 受容体のシグナルカスケード亢進および側坐核のドーパミン含有量増加が認められ、これらが成熟期の SAMP6 の高運動活性に関わるメカニズムである可能性が示唆された。老齢期の SAMP6 で、成熟期に比べて顕著に D1 受容体の感受性が低下していることから、この加齢に伴う D1 受容体の感受性低下が老齢期の SAMP6 で認められる運動活性の低下に関わるメカニズムの1つであることが示唆された。これらの結果は、SAMP6 で認められた運動活性の促進老化様変化に関わるメカニズムとして D1 受容体の感受性の変化が重要であることを示している。また、成熟期の SAMP6 で認められた小脳における D3 受容体発現量増加が SAMP6 の運動協調性異常に関わるメカニズムの1つであると考えられた。

次に、加齢依存的変化を伴う行動特性である SAMP6 の低不安および抗鬱に関わるメカニズムについて、不安や鬱などの情動に関わる分子として良く知られているセロトニンシステムに着目し、検討した。若齢期の SAMP6 の脳幹で、セロトニン合成の律速酵素であるトリプトファン水酸化酵素およびそのリン酸化フォームの発現量が増加していることから、SAMP6 の脳内セロトニン量増加が示唆され、SAMP6 の低不安および抗鬱に関わる生得的な異常の1つであると考えられた。また、成熟期の SAMP6 で大脳皮質および側坐核のセロトニン含有量が増加していることから、これが成熟期の SAMP6 の低不安および抗鬱に関わるメカニズムである可能性が示唆された。

最後に、非加齢依存的行動特性である SAMP6 の短期記憶増加に関わるメカニズムについて、短期記憶に関わるものが良く知られているドーパミン、セロトニン、および NMDA 型グルタミン酸受容体に着目し、検討した。若齢期の SAMP6 の線条体および側坐核ではドーパミン合成の律速酵素であるチロシン

水酸化酵素およびそのリン酸化フォームの発現量が増加し、脳幹ではセロトニン合成の律速酵素であるトリプトファン水酸化酵素およびそのリン酸化フォームの発現量が増加していることから、SAMP6 の脳内ドーパミン量およびセロトニン量増加が SAMP6 の短期記憶増加に関わる生得的な異常の 1 つであることが示唆された。また、成熟期の前脳で NMDA 受容体の NR2B サブユニットの発現量が増加していることから、NMDA 受容体シグナルカスケード亢進もまた成熟期の SAMP6 の短期記憶増加に関わるメカニズムの 1 つであることが示唆された。

本研究より、SAMP6 が加齢に伴って様々な病態を示すことが包括的行動解析試験により明らかとなり、生化学的および薬理学的研究手法を用いることにより、その病態メカニズムには複数の因子が関与していることが示唆された。このマウスを用いて研究することで、加齢による脳高次機能の変化とそのメカニズムが明らかになり、さらに脳高次機能を活性化させるシグナルカスケードに作用する化合物を探索できれば、健康寿命の延長や QOL 向上に貢献すると思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 伊 藤 茂 男

副 査 名誉教授 板 倉 智 敏

副 査 教 授 安居院 高 志

副 査 教 授 木 村 和 弘

学 位 論 文 題 名

老化促進マウス Senescence-accelerated mouse prone 6 (SAMP6) の脳高次機能における加齢変化に関する研究

SAMP6の骨密度は4ヶ月齢で最大となり、加齢に伴って急速に減少する骨粗鬆症の促進老化モデル動物である。SAMP6の中樞神経系の老化モデル動物としての可能性を調べる目的で、1ヶ月齢（若齢期）、4-6ヶ月齢（成熟期）、8-12ヶ月齢（老齢期）において包括的行動試験により行動変化を解析し、次いで行動異常に関連すると考えられる中枢神経の各部位を神経化学的に解析し、以下の成績を得た。

包括的行動解析により、SAMP6は生得的な高運動活性、運動協調性異常、低不安・抗鬱および短期記憶増加という行動特性を示した。各期でSAMP6の行動特性を調べ、三つの型に分類した。1) 促進老化様行動特性：SAMP6の運動活性は若齢期から成熟期までは高運動活性を示すが老齢期では運動活性は低下し、このパターンは骨密度の促進老化パターンと類似していた。運動協調性は若齢期および老齢期では著しい異常が認められるが、成熟期では部分的に回復した。生得的な運動協調性異常に加えて、成熟期には回復し、その後悪化する行動特性と思われた。2) 加齢依存的行動特性：若齢期は低不安や抗鬱状態が強く、加齢により不安・鬱状態へと変化する行動特性であった。3) 非加齢依存的行動特性：短期記憶増加については明らかな加齢の影響は認められなかった。

若齢期の線条体と側坐核で、チロシン水酸化酵素及びそのリン酸化型の発現量が増加することを示し、ドパミン（DA）量の増加が生得的なSAMP6の高運動活性に関与することを示唆した。また、成熟期の線条体でドパミンD1受容体の発現量増加とそのシグナル伝達の亢進及び側坐核のDA量増加を明らかにし、老齢期には顕著にD1受容体の感受性が低下することを示した。また、成熟期のSAMP6小脳ではドパミンD3受容体発現量が増加することから運動協調性異常に関与することを示唆した。

若齢期の脳幹で、トリプトファン水酸化酵素及びそのリン酸化型の発現量が増加することを明らかにし、脳内5-ヒドロキシトリプタミン（5-HT）量の増加が生得的なSAMP6の低不安と抗鬱に関与することを示唆した。また、成熟期においても大脳皮質と側坐核の5-HT量が増加していることを明らかにした。

成熟期の前脳においてNMDA型グルタミン酸受容体2Bサブユニットの発現量が増加し、この受容体シグナルカスケードも亢進していることを明らかにし、これが短期記憶増加に関わる重要なメカニズムの一つであることを示した。また、若齢期の脳内DA量及び5-HT量増加はSAMP6の短期記憶増加に関与する可能性を示唆した。

以上のように、SAMP6が若齢、成熟及び老齢期で様々な特徴的な異常行動を示すこと、さらに異常行動に関連する脳内各部位の神経伝達物質の含量、生合成酵素や受容体発現量等を調べ、その病態メカニズムの一部を明らかにした。これらの発見は、SAMP6マウスは促進老化を示す骨粗鬆症モデルのみならず、中枢神経系の老化促進モデルとしても有用であること示している。よって、審査員一同は、上記学位論文提出者新美君枝氏が、博士(獣医学)の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。