



Title	Effects of NK-4 in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease
Author(s)	和氣, 人水
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/26295">https://hdl.handle.net/11094/26295</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

# 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

〔論文題名: Thesis Title〕

Effects of NK-4 in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease.

(NK-4のアルツハイマー病トランスジェニックマウスモデルにおける効果)

学位申請者 : 和 氣 人 水  
Name

〔目的(Purpose)〕

アルツハイマー病は、高齢者に多発する認知症の主要原因であり、その病態には $\beta$ -Amyloid ( $A\beta$ )が中心的役割を果たしていると考えられている。従って、 $A\beta$ はアルツハイマー病の創薬ターゲットとして注目されている。現在のアルツハイマー病治療薬は対症療法であることから、病態制御の可能な根本治療薬の開発が期待されている。近年我々は、PC12細胞に対する神経栄養因子様活性を指標にしたスクリーニングを行い、低分子でありながら、高い神経栄養因子様活性を示すシアニン系色素NK-4を得た。細胞内シグナル伝達経路の解析から、PI3K-Akt経路をTrkを介さず活性化すること、ヒドロキシラジカル、スーパーオキシドおよびペルオキシラジカルに対する高い消去能および、アセチルコリンエステラーゼ阻害作用を有することが明らかになった。また、ラット中大脳動脈結紮モデルにおける脳傷害抑制効果、小脳失調症動物の小脳萎縮および運動失調症改善効果を示すことも報告している。本研究では、NK-4がアルツハイマー病に対して効果を示すか探るため、スウェーデン型アルツハイマー病原因遺伝子を導入したAPPトランスジェニックマウスおよび $A\beta_{25-35}$ 脳室内投与マウスを用いてNK-4の認知機能および $A\beta$ 蓄積に対する効果を検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

まず、PC12細胞を用いて $A\beta_{25-35}$ 傷害に対するNK-4の効果を検討した。NK-4は10-250nMで有意な細胞傷害抑制効果を示した。次に、 $A\beta$ 凝集に対するNK-4の効果をチオフラビンTおよび電子顕微鏡を用いて検討した。NK-4は、 $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-42}$ および $A\beta_{25-35}$ の凝集をほぼ同等に抑制した。

次にスウェーデン型アルツハイマー病原因遺伝子を導入した、APPトランスジェニックマウス (Tg2576) の認知機能および $A\beta$ 蓄積に対するNK-4の効果を検討した。Tg2576 (メス、10週齢、体重15~23g) は、Taconic社より購入し、入荷時より試験終了まで単独飼育とした。10日間予備飼育した後、体重を指標に4群に分け、感光色素の腹腔内投与を開始した。投与は12週齢より1日1回、週5回、48週齢まで実施した(100, 500  $\mu$ g/kg)。認知機能は、新奇物体認識試験、水迷路試験、受動的回避試験により評価した。行動試験終了後、ペントバルビタール麻酔下(50mg/kg)、下大静脈より採血を行った後、脳脊髄液および脳を採取した。脳は、矢状方向に2等分し、一方はホモジネートし、 $A\beta_{1-40}$ および $A\beta_{1-42}$ をELISAにて測定した。もう一方は、ホルマリン固定後、コンゴレード染色または抗体染色により $A\beta$ の蓄積を評価した。NK-4は新奇物体認識試験、水迷路試験、受動的回避試験の全試験においてTg2576の認知機能低下を抑制した。血中 $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-42}$ はNK-4の投与により有意に上昇した。一方、脳中 $A\beta_{x-40}$ 、 $A\beta_{x-42}$ は血中とは負の相関を示し減少した。コンゴレード染色陽性凝集塊の増加は12カ月齢ではほとんど認められなかったものの、 $A\beta$ 抗体染色陽性プラークはNK-4の投与により減少した。

次に、ICRマウスの $A\beta_{25-35}$ を脳室内投与により誘導した認知機能障害に対するNK-4の効果についても検討を行った。ICRマウス(オス、5週齢、体重25~30g)は、Charles River社より購入し、入荷時より試験終了まで単独飼育とした。7日間予備飼育した後、左側脳室に4日間老化させた $A\beta_{25-35}$ を投与した。翌日より、NK-4を1日1回12日間腹腔内投与した(50, 500  $\mu$ g/kg)。認知機能は、新奇物体認識試験および受動的回避試験により検討した。NK-4は、 $A\beta_{25-35}$ 脳室内投与モデルにおいても有意に認知機能障害を抑制した。

〔総括(Conclusion)〕

NK-4は、*in vitro*で、 $A\beta$ の凝集を抑制し、 $A\beta$ 傷害から神経細胞を保護すると共に、Tg2576および $A\beta_{25-35}$ 脳室内投与モデルマウスにおいて、有意な認知機能低下を示した。その作用メカニズムとして、酸化ストレスおよび $A\beta$ 凝集抑制、脳から血中への排出促進の関与が推察された。さらにNK-4の、PI3K-Akt経路の活性化作用およびアセチルコリンエステラーゼ阻害作用も認知機能改善に寄与していると推察された。以上の結果から、NK-4はアルツハイマー病の新規治療薬として有用であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 和氣 人水			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	金 田 安 史
	副 査	大阪大学教授	桑 木 宏 実
	副 査	大阪大学教授	堀 月 秀 樹

論文審査の結果の要旨

アルツハイマー病 (AD) は認知症の主要原因であり、その代表的な病理変化に脳における  $\beta$ -Amyloid の蓄積が認められることから、 $\beta$ -Amyloid はアルツハイマー病の創役薬ターゲットとして注目されている。

NK-4 は神経栄養因子様活性を指標にしたスクリーニングにより得られた分子であるが、強力な抗酸化作用をもつ。本研究ではこのNK-4 を使用することにより *in vitro* における  $\beta$ -Amyloid 細胞傷害はもとより *in vivo* でも  $\beta$ -Amyloid に誘導された認知機能障害がほぼ正常レベルまで改善されることが示された。新奇物体認識試験、受動的回避試験、水迷路試験の 3 つの試験には、それぞれ異なる能力が必要であるため、全ての行動学試験においてNK-4 投与による効果が示されたことはNK-4 のアルツハイマー病治療薬としての可能性を期待させるものである。また、作用メカニズムの検討により、その抗酸化作用に由来するA $\beta$ 凝集抑制およびA $\beta$ 排出促進が関与していると推察された。

これらの結果は、NK-4 が新しいアルツハイマー病の認知機能低下抑制剤として有用である可能性を示唆するものであるとともに、他の神経変性疾患および脳虚血傷害など広範囲の分野に広く恩恵をもたらす端緒となる研究成果である。よって本研究は学位の授与に値するものとする。