

図. App-KIマウスの行動解析に用いたタッチスクリーン試験。画像を提示し、正解画像 (S<sup>+</sup>)を選択すると報酬がもらえる。

## 認知症モデルマウスの超早期の認知機能低下を検出可能とする行動解析システムを開発

名古屋大学環境医学研究所の Saifullah 研究員、同医学系研究科医療薬学・医学部附属病院薬剤部の溝口博之准教授らの研究グループは、山中宏二教授（同環境医学研究所）、理化学研究所、名古屋市立大学のグループと共同で、アルツハイマー型認知症モデルマウスの認知機能低下を感度良く検出できる行動解析システムを確立しました。

全世界の認知症患者が 4000 万人、対策費用 100 兆円を超える時代となり、当症の研究は世界との競争が激しい分野の一つとなっております。アルツハイマー型認知症 (AD) は進行性の神経変性疾患であり、記憶障害を主症状とします。近年、アミロイド<sup>※1</sup> 仮説に基づき、AD 患者にアミロイド蛋白除去治療を行ったものの、症状が改善されなかったことから、AD 根治に繋がる治療戦略の見直しが進められています。すなわち、AD 発症よりも早期から病態の進行は始まっており、プレクリニカル期や軽度認知障害時での早期発見、治療、機序の解明が AD 病態の理解と新たな AD 治療戦略へと繋がると考えられています。

私たちはトランスレーショナルリサーチ（基礎研究の成果を用いて新しい診断・治療法につなげる臨床研究）を意識し、次世代 AD モデル動物 (APP knock-in マウス)<sup>※2</sup> を用いて、早期においても記憶低下を検出できる感度の良い評価方法の確立を目指しました。今回、ヒトの認知機能を評価する方法に近づけるため、マウスにタッチスクリーン上に現れる画像の違いを視覚依存的に弁別させることで認知機能を評価することにしました。AD モデルマウスの認知機能を測定したところ、従来から用いられてきた行動解析よりも感度良く、早期における認知機能の低下を検出することができました。

これらの研究成果は AD 病態が始まる前の脳内変化の解明や軽度認知障害時での早期発見に向けた研究にも繋がるものです。

本研究は、英国オープンアクセス学術誌「Molecular Brain」のオンライン版（2020 年 11 月 13 日付け）に掲載されます。

## ポイント

- 次世代型 AD モデルマウスの認知機能について LD 試験、dPAL 試験を用いて検討したところ、比較的早期な段階から認知機能が低下していることが分かった。
- 認知機能評価法としてよく使われてきた水迷路試験では、有意な認知機能の低下は確認できなかった。

## 1. 背景

アルツハイマー病 (AD)は進行性の神経変性疾患であり、記憶障害を主症状とします。原因因子の1つであるアミロイド蛋白(Aβ)は認知症が発症する 20 年以上前から蓄積し始め、アミロイド蛋白の産生増強がトリガーとなり、グリア細胞<sup>※3</sup>を軸とした免疫・炎症システム、インスリン関連因子を軸とした代謝調節システムの長期的な異常が記憶障害の進行に関与すると言われていています。しかし、未だに AD 根治につながる効果的な治療戦略は見つかっていません。要因についてトランスレーショナルリサーチという観点から考察すると、創薬探索に垣間見える基礎と臨床とのギャップが、候補薬剤が中々治療薬へと至らない一つの原因かもしれません。また、疾患の解明には、その病態を忠実に表現するモデル動物が必要であり、新たな着眼点から AD によって引き起こされる生体丸ごとの変容を包括的に理解する必要があります。

私たちは病態を最も反映する次世代型 AD モデルマウス(App-KI マウス)と視覚依存的な画像の弁別から認知機能の評価するタッチスクリーン式弁別試験法を用いて、認知機能を感度良く測定できる行動解析システムの確立に挑戦しました。

## 2. 研究成果

タッチスクリーン試験は、スクリーン上に現れる画像の違いを当てる視覚依存的試験であり、カテゴリー化、分類化、計画性といった脳機能の評価できることから、ヒトの臨床試験で用いられるカードゲームと類似しています。本研究では、トランスレーショナルリサーチを意識し、臨床試験に類似した認知機能評価試験としてタッチスクリーン試験を導入し、App-KI マウスの認知機能について評価しました。

初めに、2 種類の同じ画像（白四角）の空間的位置関係を認識する行動試験課題である Location discrimination task (LD 試験、図)を行いました。MK-801 <sup>※4</sup>投与や Aβ の海馬内注入による認知機能への影響を検討したところ、いずれも正解率は低下しました。そこで、LD 試験を用いて App-KI マウスの認知機能について検討しました。4-5 か月齢の App-KI マウスの正解率は野生型マウスと比較して低下していました。

次に、Different paired-associate learning task (dPAL 試験、図)を行いました。これは画像と標識される場所との対連合学習を評価できる試験であり、6 つのパターンがランダムにスクリーンに表示され、正解画像を選択する課題です。4-6 か月齢の App-KI マウスは野生型マウスと同様、訓練に伴い正解率が上がるものの、その上がり方は野生型マウスと比較して有意に低下しました。これらの結果から、早期の認知機能の評価には LD 試験、dPAL 試験が有用であることが分かりました。

一方、Reversal learning task (RL 試験、図) について検討したところ、App-KI マウスの正解率には有意な差はなく、学習の柔軟性の低下は見られませんでした。次に、従来の認知機能試験と比較検討するため、代表的な試験法である水迷路試験を用いて App-KI マウスの空間学習について検討しました。6 か月齢では野生型マウスと比較して差はありませんでした(Table)。

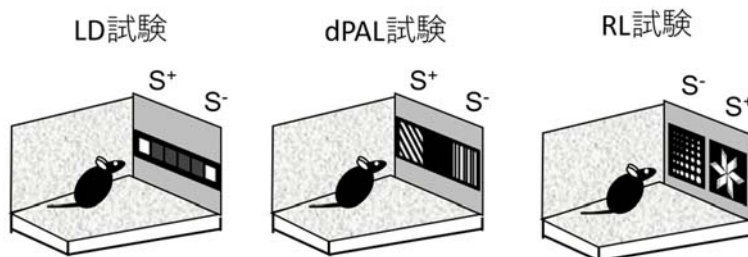


図. App-KIマウスの行動解析に用いたタッチスクリーン試験。画像を提示し、正解画像 (S<sup>+</sup>)を選択すると報酬がもらえる。

Table. App-KIマウスの行動解析についての既報との比較

行動試験法	学習要素	有意性	参考論文
Y-maze	短期記憶・自発的交替行動	↓ (6 か月齢)	Saito et al., (2014)
IntelliCageシステム	空間的場所選好・柔軟性	↓ (13-14 か月齢)	Masuda et al., (2016)
	消去学習	↓ (8-9 か月齢)	
新奇物体認知試験	認知記憶	± (6 か月齢)	Whyte et al., (2018)
Y-maze	短期記憶・自発的交替行動	± (6 か月齢)	
Morris水迷路試験	空間学習	± (6 か月齢)	Sakakibara et al., (2018)
恐怖条件付け試験	恐怖記憶・連合学習	± (15-18 か月齢)	
Barnes 迷路試験	空間学習	↓ (8 か月齢)	
LD試験	識別力	↓ (4-5 か月齢)	
dPAL試験	対連合学習	↓ (4-6 か月齢)	<b>本研究成果</b>
RL試験	柔軟性	± (4-5 か月齢)	
Morris水迷路試験	空間学習	± (6 か月齢)	

### 3. 今後の展開

本研究を通して、LD 試験、dPAL 試験は App-KI マウスの比較的早期段階から認知機能の低下を評価できることを証明しました。本研究の新規性は、一連のタッチスクリーン試験を確立し、App-KI マウスの認知機能の評価したことにあります。これらの研究成果は AD 病態が始まる前の脳内変化が認知機能へもたらす機序の解明やプレクリニカル期や軽度認知障害時での早期発見に向けた基礎研究への応用が期待されます。

#### 4. 研究支援

本研究は国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の脳科学研究戦略推進プログラム融合脳「神経炎症制御を標的としたアルツハイマー病の治療薬シーズ探索」、日本学術振興会科学研究費助成事業の基盤研究 B、新学術領域研究（公募）、挑戦的研究（萌芽）などの研究支援のもと行われました。

#### 5. 用語説明

※1 アミロイドβ蛋白質：アルツハイマー病型認知症患者の脳内で蓄積が見られる蛋白質。

※2 次世代 AD モデル動物（APP knock-in マウス）：Aβ配列のヒト化と共に、*Swedish* 変異（Aβ産生量の増加）、*Iberian* 変異（Aβ<sub>x-42</sub>の産生比率の増加）、*Arctic* 変異（家族性アルツハイマー病の遺伝子変異の1つ）を導入したマウス。

※3 グリア細胞：神経伝達の機能的支援（免疫など）を行う脳にある細胞。

※4 MK-801：グルタミン酸受容体阻害剤

#### 6. 発表雑誌

掲雑誌名：Molecular Brain

論文タイトル：Touchscreen-based location discrimination and paired associate learning tasks detect cognitive impairment at an early stage in an *App* knock-in mouse model of Alzheimer's disease

著者：Md. Ali Bin Saifullah<sup>1</sup>, Okiru Komine<sup>2</sup>, Yutao Dong<sup>1,3</sup>, Kazuya Fukumoto<sup>1</sup>, Akira Sobue<sup>2</sup>, Fumito Endo<sup>2</sup>, Takashi Saito<sup>2,4,5</sup>, Takaomi C. Saido<sup>4</sup>, Koji Yamanaka<sup>2</sup>, Hiroyuki Mizoguchi<sup>1,3</sup>

所属：<sup>1</sup>. Research Center for Next-Generation Drug Development, Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University, Nagoya, Aichi 464-8601, Japan.

<sup>2</sup>. Department of Neuroscience and Pathobiology, Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University, Nagoya, Aichi 464-8601, Japan.

<sup>3</sup>. Department of Neuropsychopharmacology and Hospital Pharmacy, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi 466-8560, Japan

<sup>4</sup>. Laboratory for Proteolytic Neuroscience, RIKEN Center for Brain Science, Wako, Saitama 351-0198, Japan.

<sup>5</sup>. Department of Neurocognitive Science, Institute of Brain Science, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Aichi 467-8601, Japan.

DOI : 10.1186/s13041-020-00690-6

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Mole\\_Bra\\_201113en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Mole_Bra_201113en.pdf)