

氏名	おおやぶ こうへい 大藪 康平		
学位の種類	博士（薬学）		
報告番号	甲第 1827 号		
学位授与の日付	令和 2 年 3 月 16 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当（課程博士）		
学位論文題目	アストロサイトの異常によるシナプス伝達変化に関する研究		
論文審査委員	(主査) 福岡大学	教授	岩崎 克典
	(副査) 福岡大学	准教授	桂林 秀太郎
	福岡大学	准教授	道具 伸也

## 内容の要旨

アルツハイマー病 (AD) は高齢化の進む現代において大きな社会問題となっている。現在、AD の治療は神経細胞を標的とした対症療法しかなく、根本的な治療法の開発が望まれている。しかし、AD の病態は複雑であり詳細なメカニズムが解明されていないことが治療法の確立を妨げる大きな要因となっている。

近年、中枢神経系に存在するグリア細胞の 1 種であるアストロサイトが、シナプス形成やシナプス機能の調節において重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。また、神経変性疾患にアストロサイトの機能不全が関与していることも報告されている。したがって、AD においてもアストロサイト異常が関与することが示唆される。

$\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) は神経細胞の機能不全や神経細胞死をもたらすことから、AD の病態に深く関与していると考えられている。それに加えて、 $A\beta$  はアストロサイトの異常も引き起こすことが分かってきた。しかしながら、 $A\beta$  が作用したアストロサイトが神経細胞の機能不全に関与しているかは明らかではない。そこで本研究では、 $A\beta$  によるアストロサイトを介した神経細胞への影響を検討した。また、既存薬は神経細胞を対象としているためアストロサイトを用いた新たな治療方法を考察することを目的とした。

### 1. $A\beta$ 暴露アストロサイトによるシナプス伝達の変化の解析

$A\beta$  25-35 を前処置したアストロサイトと  $A\beta$  25-35 を処置していない野生型ニューロンを共培養することで、 $A\beta$  25-35 によるアストロサイトを介したニューロンへの影響を検討した。 $A\beta$  暴露アストロサイトと共培養したニューロンでは、興奮性シナプス伝達の減少 (図 1) および自発的な開口放出頻度の減少を示した (図 2)。これらのことから、神経終

末部に何らかの変化が生じていることが示唆された。

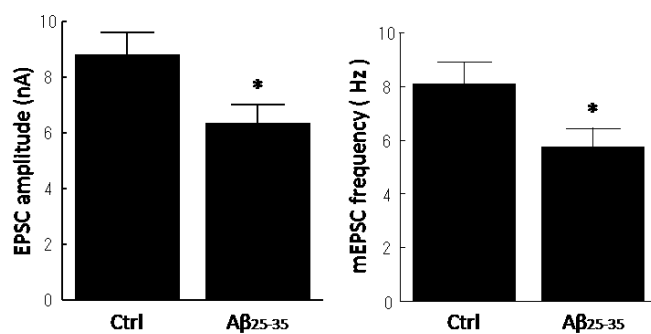


図1 興奮性シナプス伝達

図2 自発的開口放出頻度

シナプス伝達とシナプス形成は、アストロサイトがニューロンに直接接触することで促進される。そこで、アストロサイトとニューロン間の接触によるシナプス伝達への影響を検討した。

Aβ 暴露アストロサイトとニューロンが直接接触しないようにして共培養を行ったところ、興奮性シナプス伝達は変わらなかった (図3)。つまり、Aβ 暴露アストロサイトがニューロンに直接接着することが、シナプス伝達障害を引き起こす必要条件である事が明らかとなった。

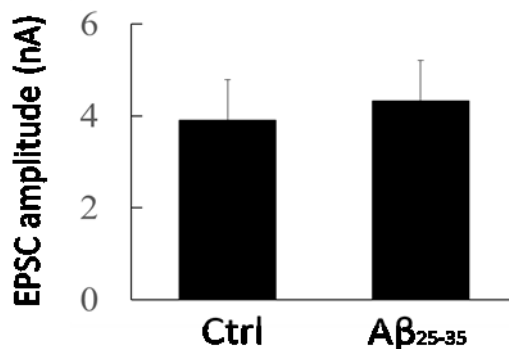


図3 興奮性シナプス伝達

## 2. アストロサイトの密度変化によるシナプス伝達解析

近年、ES 細胞や iPS 細胞を様々な細胞に分化させる研究が行われており、iPS 細胞からアストロサイトへの分化法も確立されている。したがって、このような技術を用いて正常なアストロサイトを作り出し、補充したアストロサイトが機能不全を補うことで、ニューロンの機能不全を補える可能性がある。すなわち、Aβ<sub>25-35</sub> を培養アストロサイトに暴露する事により、その細胞数は減少する事から、正常アストロサイトを補充する事は補充療法として有用かもしれない。

そこで、ニューロンに対するアストロサイト数の増加 (密度増加) によるシナプス伝達

への影響を検討した。ニューロン 1 つに対してアストロサイト数が 1~10 個の群を Low density group (LDG)、20~30 個の群を High density group (HDG)として分類した。結果、アストロサイトの密度が高い群において、興奮性シナプス伝達および自発的な開口放出頻度が増加することが明らかとなった。

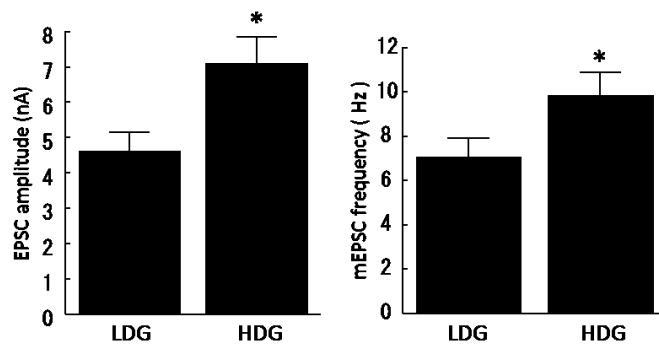


図4 興奮性シナプス伝達

図5 自発的開口放出頻度

### 3. 総括

A $\beta$  25-35 によるシナプス伝達障害は、A $\beta$  が直接ニューロンへ作用しなくても、A $\beta$  25-35 に暴露されたアストロサイトとの共存によって引き起こされた。すなわち、アストロサイトとニューロンの接着因子が関与している可能性が示唆された。したがって、アストロサイトの補充療法はアルツハイマー病における治療戦略になりうると考えられる。また、ニューロンに対するアストロサイトの比率を増加させるとシナプス伝達が亢進したことから、アストロサイトを補充することでシナプス伝達障害の回復を期待できると考えられる。

## 審査の結果の要旨

アルツハイマー病 (AD) は、物忘れなどの軽度な記憶障害から始まり、徐々に脳萎縮が進行する不治の病である。「人生 100 年時代」といわれる現代社会において、患者本人の QOL のみならず周囲による介護問題など、様々な社会問題を抱えている。現在、AD 治療は神経細胞を標的とした対症療法しかなく、根本的な治療法の開発が望まれている。しかし AD の病態は複雑であり、詳細なメカニズムが解明されていないことが治療法の確立を妨げる大きな要因となっている。近年、中枢神経系に存在するグリア細胞の一種であるアストロサイトが、シナプス形成やシナプス機能の調節において重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。また、神経変性疾患にアストロサイトの機能不全が関与していることも報告されている。したがって、AD においてもアストロサイトの機能異常が関与することが示唆される。 $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) は神経細胞の機能不全や神経細胞死をもたらすことから、AD の病態に深く関与していると考えられている。それに加えて、 $A\beta$  はアストロサイトの異常も引き起こすことが分かってきた。しかしながら、 $A\beta$  が作用したアストロサイトが神経細胞の機能障害に関与しているかは明らかではない。

本学位論文は、 $A\beta$  によるアストロサイトを介した神経細胞への影響を検討している。また、既存薬は神経細胞を対象としているが、本学位論文はアストロサイトを用いた新たな治療戦略およびグリア創薬への可能性を考察した点で独創性がある。

第 1 章では、 $A\beta$  25-35 を前処置したアストロサイトと  $A\beta$  25-35 を処置していない野生型ニューロンを共培養することで、 $A\beta$  25-35 によるアストロサイトを介したニューロンへの影響を検討している。結果、 $A\beta$  暴露アストロサイトと共培養したニューロンでは、興奮性シナプス伝達の減少および自発的な開口放出頻度の減少を示した。またこの結果は、神経伝達物質を放出できない“サイレントシナプス”の比率増加が関与していることも明らかとしており、脳の潜在的機能に迫る成果である。次に、アストロサイトとニューロン間の接触によるシナプス伝達への影響を検討するために、 $A\beta$  暴露アストロサイトとニューロンが直接接触しないようにして共培養を行った。この実験では、サンドイッチ培養法という特殊な培養技術を活用し、本研究に活かした点が高く評価できる。結果、興奮性シナプス伝達は変わらなかったことから、 $A\beta$  暴露アストロサイトがニューロンに直接接着することが、シナプス伝達障害を引き起こす必要条件である事を証明している。

第2章では、アストロサイトの密度変化によるシナプス伝達解析を行っている。本章の研究目的は、ES 細胞や iPS 細胞技術を用いて正常なアストロサイトを作出し、補充したアストロサイトが病態アストロサイトの機能低下を補うことで、ニューロンの機能障害を補える可能性を期待しての研究構想である。この発想は、第1章で得られた「 $A\beta$  25-35 によって培養アストロサイトの細胞数が減少する」という結果を踏まえており、正常アストロサイトの補充療法としての将来の有用性を期待している。具体的な実験では、ニューロンに対するアストロサイト数の増加（密度増加）によるシナプス伝達への影響を検討している。結果、アストロサイトの密度が高い群において、興奮性シナプス伝達および自発的な開口放出頻度が増加することを明らかにしている。この結果は、ニューロンを取り囲むアストロサイトが多いほど、シナプス伝達が高くなる現象を捉えている。

以上、本研究は、 $A\beta$  25-35 によるシナプス伝達障害は、 $A\beta$  が直接ニューロンへ作用しなくても、 $A\beta$  25-35 に暴露されたアストロサイトとの共存によって引き起こされていることを明らかにしている。このことは、将来的にグリア創薬への道を拓くものである。また、ニューロンに対するアストロサイトの比率を増加させるとシナプス伝達が亢進したことから、正常アストロサイトを補充することでシナプス伝達障害の回復を期待できると考えられる。このことは、近年再生医療分野で盛んな iPS 細胞を使った“細胞医薬品”の開発に貢献できる可能性を秘めている。したがって、アストロサイトの補充療法はアルツハイマー病における治療戦略になりうると期待する。すなわち、「人生 100 年時代」を健康に生き抜くために、AD 発症前の段階からの細胞治療の可能性を提唱できる発展的基礎研究と評価できる。その独創性・新規性、論文業績、さらには公聴会での質疑応答は、学位を授与するのに相応しいと判断した。よって本論文は、本学薬学研究科の博士学位論文として認定出来ると判定した。