

加齢に伴う認知機能低下の病態解明とその応用

島根大学 医学部医学科 発生生物学

教授 藤田 幸

はじめに

高齢化が進む現代社会において、加齢に伴う認知機能低下や認知症は大きな社会問題となっている。記憶や学習をはじめとする高次脳機能の低下は、患者本人の生活の質を著しく損なうだけでなく、家族や社会に対しても大きな負担をもたらす。そのため、認知機能低下の原因を分子・細胞レベルで明らかにすることは、予防や治療法の開発に直結する重要な課題である。

成体脳においても特定の部位では神経幹細胞から新しい神経細胞が継続的に産生されることが報告されている⁽¹⁾。この現象は成体神経新生と呼ばれ、特に嗅球へと連なる脳下室帯(subventricular zone: SVZ)や海馬の歯状回で盛んに起こることが知られている。成体神経新生は学習や記憶、嗅覚機能に密接に関わっており、これらの機能が加齢に伴って低下する背景には、神経新生の減少が関与していると考えられている。実際、齧歯類では加齢により神経幹細胞の自己複製能や分化能が低下していることが報告されている。

ヒストン脱アセチル化酵素(histone deacetylase: HDAC)は、遺伝子発現をエピジェネティックに制御する分子群であり、神経発生や神経細胞の機能維持に重要な役割を果たす⁽²⁻³⁾。HDACファミリーの中でもHDAC8は、神経芽腫や脳腫瘍で発現亢進しており、腫瘍細胞の増殖に関与することが示唆されている。一方で、腫瘍という病理的状态ではなく、生理的条件下における成体脳NSCsでのHDAC8の役割は十分に解明されていない。

本研究では、HDAC8に着目し、成体脳における神経幹細胞の分化と神経新生における役割について検証した。特に、Nestin陽性細胞特異的にHDAC8を欠損させた遺伝子改変マウスを作製し、SVZにおける神経新生過程に対する影響を詳細に解析することで、加齢に伴う認知機能低下の分子機構の一端を解明することを目指した。

結 果

1. 成体脳におけるHDAC8の発現分布

成体脳におけるHDAC8の発現を解析するため、神経幹細胞マーカーであるNestinとHDAC8の二重免疫染色を行った。Nestinは成体脳に存在する神経幹細胞および初期前駆細胞に発現する中間径フィラメントタンパク質であり、マーカーとして広く利用されている。その結果、HDAC8はNestin陽性細胞に強く局在しており、特に脳室壁付近や海馬歯状回など、神経新生が活発な部位に高発現していることが確認された(図1A)。一方、Nestin陰性

の分化したニューロンやグリア細胞ではHDAC8の発現は弱く、神経幹細胞集団に特異的な発現パターンを示すことが明らかとなった。

さらに、神経新生過程における各分化段階でのHDAC8発現を明らかにするため、放射状グリア細胞マーカーのGFAP、増殖型前駆細胞マーカーのMash1、未熟ニューロンマーカーのDCXをそれぞれ用いた多重染色を行った。その結果、HDAC8はGFAP陽性細胞、Mash1陽性細胞、DCX陽性細胞においてもHDAC8の発現が認められた(図1B)。これらの結果は、HDAC8が神経幹細胞の維持や分化に関与していることを示唆している。

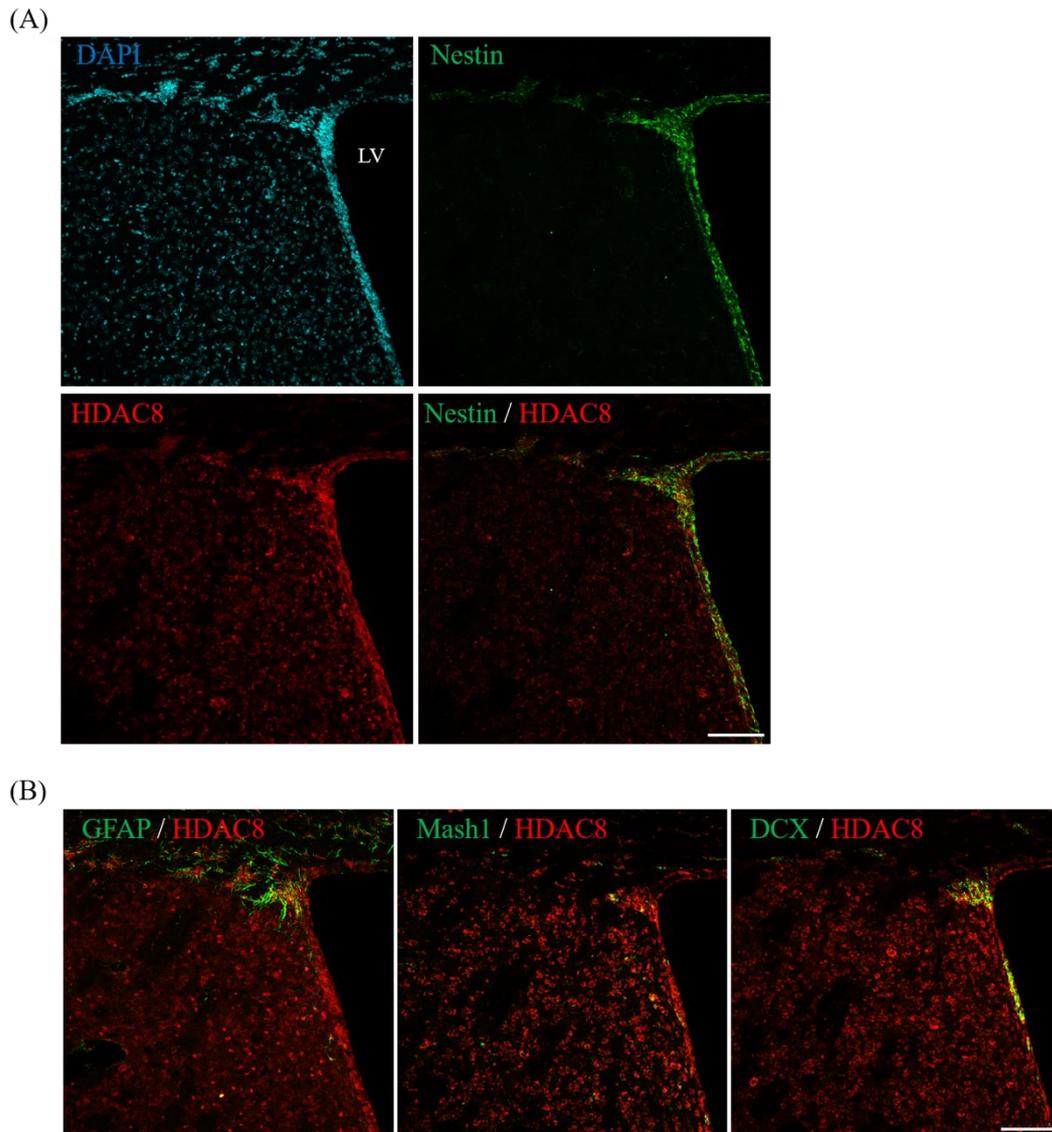


図1 SVZにおけるHDAC8の発現

(A) SVZにおけるNestin (緑)、HDAC8 (赤)、DAPI (青) の免疫染色像。

LV = lateral ventricle (側脳室)。

(B) SVZ神経幹細胞の各分化段階におけるHDAC8の発現。

GFAP、Mash1、DCX (緑) およびHDAC8 (赤) の免疫染色像。

2. Nestin陽性細胞特異的HDAC8欠損マウスの作製と解析

HDAC8の機能を直接的に解析するため、Cre-loxPシステムを用いてNestin陽性細胞特異的にHDAC8を欠損させる遺伝子改変マウスを作製した。Nestinプロモーター下流でタモキシフェン依存的にCreERT2を発現するマウスと、HDAC8遺伝子をloxP部位で挟み込んだHDAC8^{Flox/Flox}マウスを交配し、Nestin-CreERT2; HDAC8 Flox/Floxマウスを得た。成体期にタモキシフェンを投与することでCreが活性化され、Nestin陽性細胞特異的にHDAC8を欠損させた。

免疫染色により、コントロール群では神経新生領域にHDAC8の強いシグナルが確認された一方、タモキシフェン投与群ではシグナルが顕著に減弱した。この結果から、本実験系がNestin陽性細胞において特異的かつ効率的にHDAC8を欠損させることに成功していることが示された。

3. HDAC8欠損による神経新生細胞集団への影響

HDAC8による成体神経新生の分化に対する影響を検討した。コントロール群では成体脳の神経新生領域に多数のGFAP陽性細胞が分布していたが、HDAC8欠損群ではこれらの細胞数が顕著に減少していた。一方、コントロール群とHDAC8欠損群の間でMash1陽性細胞数に有意な差は認められなかった(図2)。このことから、HDAC8は神経幹細胞の初期分化段階そのものには直接的な影響を及ぼさず、その後の分化または維持の過程で重要な役割を果たしている可能性が考えられた。HDAC8欠損群では、MASH1陽性駆細胞がさらに分化して生じるDCX陽性の未熟ニューロンがコントロール群に比べて有意に減少していた。この減少は、HDAC8が未熟ニューロンの産生や生存において不可欠であることを強く示唆している。

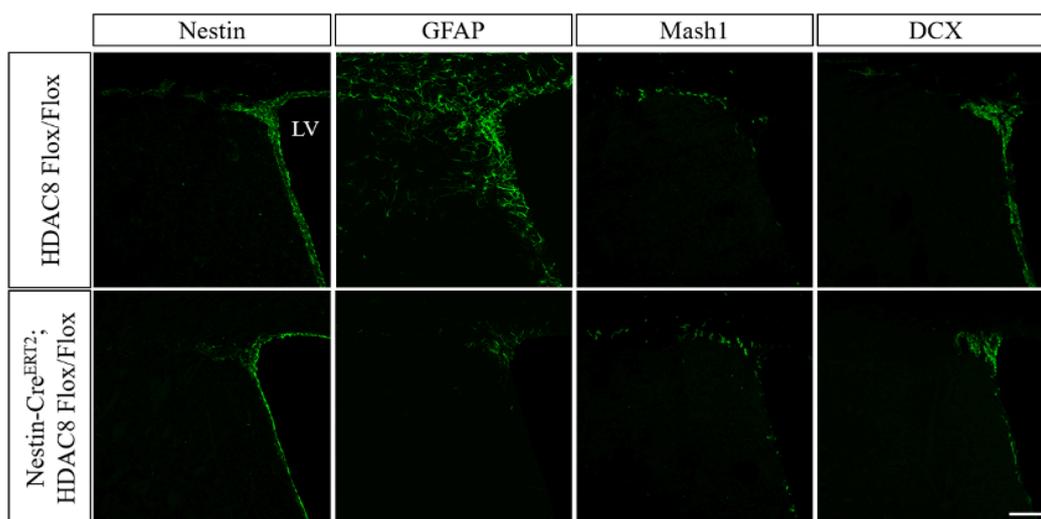


図2 HDAC8欠損が神経新生の各分化段階に与える影響

HDAC8 Flox/FloxマウスおよびNestin-CreERT2; HDAC8 Flox/Floxマウスにおける、Nestin, GFAP, Mash1, DCX陽性細胞の免疫染色像

考 察

本研究の結果から、HDAC8は成体脳における神経幹細胞の分化制御に重要な役割を果たしていることが明らかになった。HDAC8を欠損させたマウスでは、GFAP陽性細胞（放射状グリア様神経幹細胞）およびDCX陽性細胞が減少した一方で、Mash1陽性細胞には有意な変化が認められなかった。これらの結果から、HDAC8は神経幹細胞から未熟ニューロンに至る分化過程において特定の段階を制御している可能性が考えられた。特に、GFAP陽性細胞とDCX陽性細胞の両方が減少していたことは、HDAC8が神経幹細胞の維持とニューロン系列への分化の双方に関与しており、神経幹細胞プールの保持と新規ニューロン産生のバランスを決定する重要な分子である可能性を示唆している。

先行研究では、腫瘍細胞においてHDAC8の阻害が細胞死を誘導することが報告されている。本研究におけるGFAP陽性細胞やDCX陽性細胞の減少も、単なる分化障害だけでなく、細胞死の亢進が関与している可能性がある。この点を明らかにするためには、アポトーシスマーカーを用いた免疫染色や細胞周期解析などを行い、HDAC8欠損による細胞死の有無を詳細に検討する必要がある。また、本研究では神経幹細胞から未熟ニューロンに至る段階までを解析対象としたが、最終的な成熟ニューロンへの分化や、それらが嗅球や海馬回路に組み込まれる過程については未検討である。今後、成熟ニューロンマーカを用いた解析や行動学的評価を組み合わせることで、HDAC8欠損が神経回路形成や認知機能に及ぼす影響を包括的に理解できると考えられる。

加齢に伴って海馬や脳室周囲領域での神経新生は著しく減少することが知られており、この神経新生低下は記憶や学習、嗅覚などの認知機能低下と密接に関連している。本研究で得られたHDAC8の機能に関する知見は、加齢により神経新生が減少する分子基盤を理解するための重要な手がかりとなる。さらに、HDAC8を標的とした薬理的な介入が、加齢や認知症に伴う神経新生低下を改善し、認知機能を維持・回復させる治療戦略へと発展する可能性を秘めている。将来的には、神経幹細胞のエピゲノムを適切に制御することで、認知症の進行抑制や認知機能低下の予防に貢献する新たな治療法の開発につながることを期待される。

要 約

成体神経新生は学習や記憶、嗅覚機能に密接に関わっており、これらの機能が加齢に伴って低下する背景には、神経新生の減少が関与していると考えられている。本研究では、成体脳の神経幹細胞の分化におけるHDAC8の役割を検証した。Nestin陽性細胞特異的にHDAC8を欠損させた遺伝子改変マウスを用いた解析の結果、HDAC8はGFAP陽性細胞およびDCX陽性細胞の維持と分化に重要な役割を果たすことが示された。このことから、HDAC8は神経幹細胞から未熟ニューロンへの分化過程における重要な調節因子であることが示唆された。

これらの知見は、加齢に伴う神経新生低下と認知機能障害の病態を理解するための手がかり

りとなるものであり、HDAC8を標的とした認知症治療法の開発へと発展する可能性を秘めている。今後は、病態モデル動物や機能評価を組み合わせることで、加齢脳におけるエピジェネティックな変化の詳細を解明していくことを目指す。

文 献

1. Bond AM, Ming GL, Song H : Adult Mammalian Neural Stem Cells and Neurogenesis: Five Decades Later, Cell Stem Cell 17 : 385-395、2015
2. Sada N, Fujita Y, Mizuta N, Furukawa T, Yamashita T : Inhibition of HDAC increases BDNF expression and promotes neuronal rewiring and functional recovery after brain injury, Cell Death Dis 11 : 655、2020
3. Guan Z, Haggarty SJ, Giacometti E, Dannenberg JH, Joseph N, Gao J, et al. : HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity, Nature 459 : 55-60、2009