

## 神経変性疾患におけるアクアポリン 1,4 発現の検討

星明彦<sup>1)</sup>

研究分担者 清水敬子<sup>1)</sup>、宇川義一<sup>1)</sup>、柿田明美<sup>3)</sup>、高橋均<sup>3)</sup>

研究協力者 西澤正豊<sup>2)</sup>

福島県立医科大学神経内科<sup>1)</sup> 新潟大学脳研究所神経内科<sup>2)</sup> 新潟大学脳研究所病理<sup>3)</sup>

### [研究要旨]

近年、アルツハイマー病(AD)におけるアストロサイトの AQP1 と AQP4 が、老人斑(SP)形成の機序に関与することで注目されている。我々は AD 剖検脳を使用し、AQP1 および AQP4 発現アストロサイトとアミロイドβ(Aβ40, 42)分布の関連性を明らかにするため免疫組織学的に検討を行った。AD 群はコントロール群よりも全体的に AQP4 発現が高度であった。アミロイドアンギオパチー(CAA)合併例では Aβ40 沈着 SP 近傍での AQP4 発現亢進が顕著な一方で、Aβ40 沈着 CAA 周囲の AQP4 発現にはバリエーションが見られた。さらに AD 群では反応性アストロサイトと考えられる AQP1 陽性細胞の増生を認めたが、Aβ42 沈着が高度な領域では AQP1 陽性細胞があまり観察されなかった。AD の AQP1 および AQP4 発現変化は Aβ pathology に関連し、神経変性プロセスに影響を及ぼす可能性がある。

### A.研究目的

中枢神経疾患と水チャネル-アクアポリン(AQP)研究の分野では、脳血管障害に伴う脳浮腫と AQP4 の関連性や NMO の抗 AQP4 抗体発現などについて多数の報告がある。近年、アルツハイマー病(AD)患者剖検脳や AD 動物モデルにおけるアストロサイトの AQP1 および AQP4 が、老人斑(SP)形成やアストロサイト遊走メカニズムに関与することが報告されている。しかし、その AQP 発現アストロサイトが、アミロイドβ(Aβ)サブタイプ 42 および 40 をそれぞれ主要な component とする SP やアミロイドアンギオパチー(CAA)とどのような関連性を有しているか詳細に検討された報告はこれまでない。我々は上記を明らかにする目的で今回の研究を行った。

なお我々は、AD 以外にパーキンソン病や脊髄小脳変性症など他の神経変性疾患の AQP 発現も病理学的に検討し、それぞれの神経変性プロセスとの関連性を考察する予定である。

n=3))、コントロール群(n=5)の剖検脳連続パラフィン切片を使用した(Table)。側頭葉(上・中・下側頭回)での AQP1 と AQP4 発現および Aβ40 と Aβ42 発現について免疫組織学的に検討し、画像解析ソフトを用いて定量的な評価も試みた。

Table

Case	Sex	Age at death, yr	PMI, hr	Braak stage	Brain weight, g
Control1	M	76	3.5		1270
Control2	M	80	3		1300
Control3	F	82	4.5		1210
Control4	M	77	22		1175
Control5	M	76	2		1275
sAD1	F	104	3.5	VI/C	780
sAD2	F	86	4.5	VI/C	860
sAD3	F	86	4	VI/C	995
sAD4	F	100	3	VI/C	935
sAD5	M	78	3.5	VI/C	910
fAD1	F	65	3.5	VI/C	750
fAD2	F	57	4	VI/C	470
fAD3	F	66	3	VI/C	910

fAD1, 3: APP, 717Val→Ile. fAD2: presenilin L381V

### B.研究方法

AD 群(弧発性 AD 群(sAD, n=5)、家族性 AD 群(fAD,

### C.研究結果

AD 群の AQP4 免疫染色性は全体的にコントロール群

よりも高度であったが、Aβ40沈着が高度なCAA合併例ではAQP4染色性がpatchyなパターンを呈する領域があった。それらのAQP4/Aβ40の免疫二重染色では、Aβ40沈着SP近傍で高度なAQP4発現の増強を認めた (Figure 1)。また、Aβ40沈着CAA周囲のAQP4発現はAβ40沈着が軽度なもので亢進しており、むしろAβ40沈着が明らかな血管周囲では比較的その発現は軽度であった (Figure 1)。画像解析ソフトによるAQP4発現レベルの評価では、一部のfAD群の評価を除き、コントロール群よりも有意にsAD、fAD群でAQP4発現レベルの増強を認めた (Figure 2)。

Figure 1

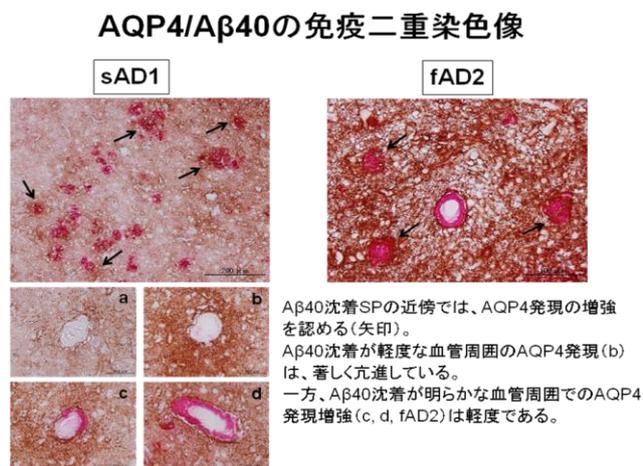
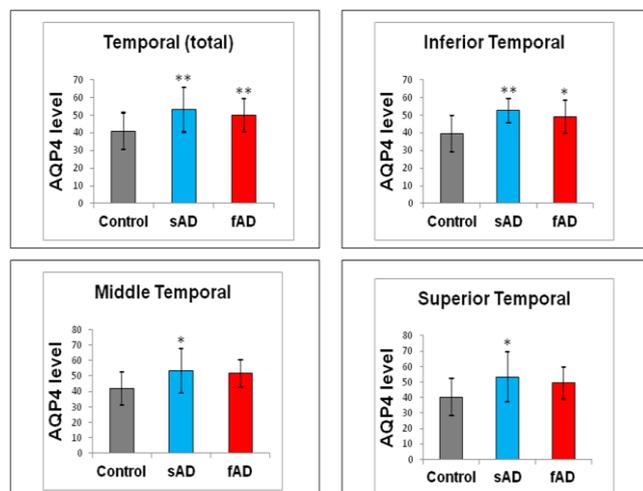


Figure 2



\*P<0.05 vs. Control, \*\*P<0.01 vs. Control

一方、AQP1についてはコントロール群で孤立性にAQP1陽性細胞が認められ、AD群では形態学的に反応性アストロサイトと思われるAQP1陽性細胞の増生を認めた。しかし、Aβ42沈着が著しい領域ではAQP1陽性細胞の増生は軽度な傾向があった。AQP1/Aβ42の蛍光免疫二重染色を行ったところ、上記の傾向が明らかであった (Figure 3)。さらに、画像解析ソフトで上記のAQP1/Aβ42発現レベルを検討したところ、有意な負の相関関係が認められた (Figure 4)。

Figure 3

**AQP1/Aβ42の蛍光免疫二重染色像**

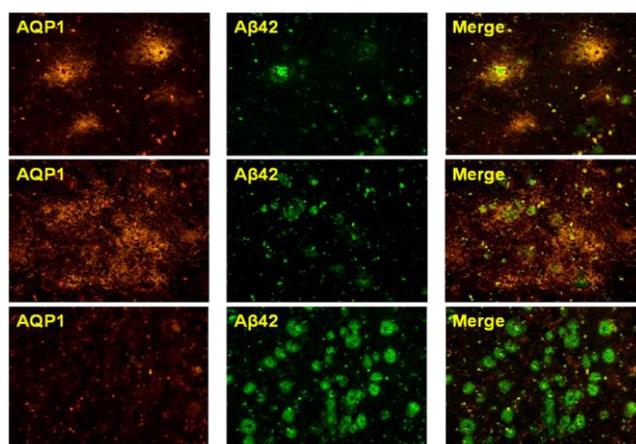
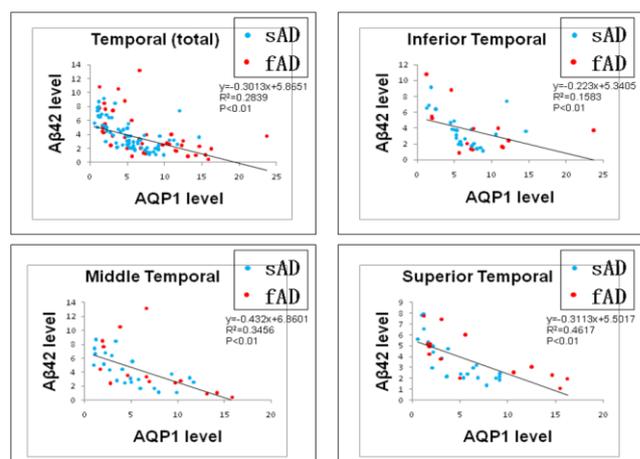


Figure 4



**D. 考察**

一般にADのAβ pathologyにおいて、早期SPとしてAβ42が沈着し、成熟したSPではAβ40がその

component に加わることが知られている。一方、CAA の主要な A $\beta$  は A $\beta$  40 と考えられてきた。

今回の AD 剖検脳を使用した研究により、SP 成熟度や分布に従い、AQP1 および AQP4 の特徴的な発現パターンが判明した。すなわち、A $\beta$  42 沈着 SP 分布が軽度から重度になるに従い、増生していた AQP1 陽性アストロサイトが減少し、一方で A $\beta$  40 沈着 SP 近傍での AQP4 が発現増強する、といったパターンである。

最近、AD 剖検脳でアストロサイトの AQP1 および AQP4 発現と A $\beta$  に注目した報告が散見されるが、A $\beta$  サブタイプとの関連性に注目した検討はない。Misawa ら(2008)による AD 剖検脳の検討では、AQP1 陽性アストロサイト/A $\beta$  プラークが他の神経変性疾患に見られるそれよりも有意に多く観察されたと報告し、AD の A $\beta$  pathology において AQP1 が重要な役割を果たしている可能性を指摘した。Moftakhar ら(2010)は、AD における AQP1 と AQP4 の発現パターンが SP の distribution と同様であることから、SP に伴う神経変性をこれらの AQP が modify する可能性を主張している。今回の我々の結果からは、AD の SP 末期には AQP1 陽性アストロサイトよりも AQP4 陽性アストロサイトの SP への関与が示唆された。AD で観察される AQP1 陽性アストロサイトは、A $\beta$  沈着あるいは分解に携わった後にその発現を失い、SP 形成が重度な領域ではあまり観察されないのかもしれない。

一方、上述の Moftakhar ら(2010)は AD における CAA と AQP4 発現にも注目し、CAA 周辺の AQP4 発現増強を報告した。我々の観察でも、AD の A $\beta$  40 沈着 CAA 周辺で AQP4 発現増強が確認されている。しかし、A $\beta$  40 沈着が著しい CAA で AQP4 発現が比較的軽度なものもあり、CAA の進行によって AQP4 発現はダイナミックに変化しているように思われた。CAA を合併する AD の glio-vascular unit における病理学的変化として、興味深い知見と考えられる。

## E. 結論

AD では、その神経変性プロセスに伴い AQP4 発現は高度となる。特に A $\beta$  40 が沈着した成熟 SP 近傍で

の AQP4 発現亢進が顕著である一方で、A $\beta$  40 沈着 CAA では A $\beta$  40 沈着の程度により AQP4 発現のバリエーションが見られる。また、AQP1 発現アストロサイトの増生は AD に特徴的な病理学的変化の可能性があり、A $\beta$  42 沈着・分解の機序に関与しているかもしれない。

AD の A $\beta$  pathology におけるアストロサイトの役割はいまだ不明な点が多いが、AQP に注目した新しい観点でその病態の更なる解析が待たれる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Chemical preconditioning-induced reactive astrocytosis contributes to the reduction of post-ischemic edema through aquaporin-4 downregulation. Akihiko Hoshi, Teiji Yamamoto, Keiko Shimizu, Yoshihiro Sugiura, Yoshikazu Ugawa. *Exp Neurol* 227 (2011) 89-95

### 2. 学会発表

第 52 回日本神経学会総会. アルツハイマー病における水チャネル-アクアポリン 1, 4 (AQP1,4) 発現の検討. 星明彦、清水敬子、宇川義一、西澤正豊、柿田明美、高橋均. 平成 23 年 5 月 20 日、名古屋.

## G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得: 特になし
2. 実用新案登録: 特になし
3. その他: 特になし