

【トピックス】

脳血管の老化と認知症の関連性

上野 正樹

香川大学医学部・病理病態生体防御医学講座・炎症病理学

1. はじめに

脳血管には、血液脳関門 (blood-brain barrier: BBB) というバリア機能が備わっており、血管内から脳内への高分子量物質の無用な侵入を防いでおり、一方、ブドウ糖などの栄養物質は、脳血管にある輸送体を通して選択的に脳内へ輸送されている [1]。この BBB が脳虚血などの侵襲によって障害されると、脳実質に障害性のある抗体や補体などの血管内物質にさらされやすくなり、さらに、栄養物質が神経細胞に輸送されなくなり、脳機能障害をもたらすと考えられる。それ故、様々な脳病態において、脳血管の BBB 機能障害が関与している可能性が推定されている。

ところで、老化に伴い増悪しうる血管性認知症は、脳の虚血あるいは出血を原因とし、多発梗塞性認知症と小血管性認知症に大きく分類され、後者は、病理学的にはラクナ梗塞の多発や白質病変によって特徴づけられる。具体的には、高血圧に基づく細動脈硬化の結果、血管壊死とフィブロヒアリノーシスがもたらされ、その中の血管壊死からは小血管閉塞やラクナ梗塞が引き起こされ、血管周囲の線維化で特徴づけられるフィブロヒアリノーシスからは慢性低灌流状態や白質病変で特徴づけられるビンスワンガー型脳梗塞が引き起こされ、それらに基づき血管性認知症が引き起こされるのではないかと、という仮説も提唱されている (図 1) [2]。その血管壊死とフィブロヒアリノーシスの形成に BBB 障害の関与が想定されだしている [2,3]。血管性認知症における BBB 障害の役割を考える上で、血管性認知症を特徴づけるどの侵襲が BBB を障害するのか、どこかの BBB が障害を受けやすいのか、また、どのような機序で障害されるか、を明らかにすることは治療を考える上でも有意義であると考えられる。それ故、血管性認知症を特徴づける種々の因子に対する実験モデル動物脳を用いて BBB 機能の検討を行った。

2. 血管性認知症を特徴づける種々の実験モデル動物における BBB 障害

まず、血管性認知症を特徴づける因子として、(1) 老

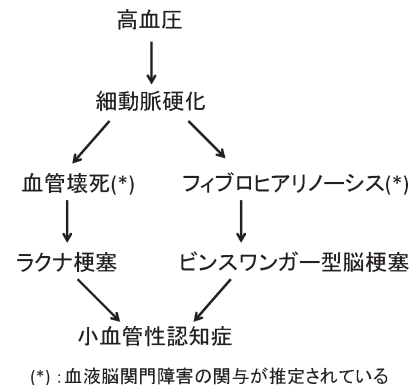


図 1 高血圧から細動脈硬化性病変、そして、血管性認知症の病理像形成へ至る経路 (仮説)

化、(2) 記憶学習障害、(3) 高血圧、(4) 慢性低灌流、(5) 急性虚血後再灌流、(6) 高血糖、(7) 水頭症の 7 因子に分け、それぞれの因子に対する実験モデル動物の BBB 機能の検討を行った。ラジオリラベルされた外因性アルブミンの脳内移行で BBB 障害を定量的に評価し、内因性アルブミンと西洋ワサビペロキシダーゼ (horseradish peroxidase: HRP) の血管外漏出部位で BBB 障害の確認とその血管の超微形態学的特徴を評価した。

(1, 2) 老化、記憶学習障害を検討するための動物モデルとして、老化促進モデルマウス (SAM)、中でも、加齢に伴い記憶学習障害を発症する SAMP8 とコントロールとして SAMR1 を用いた。まず、ラジオリラベルされたアルブミンの脳内移行は、老齢 SAMP8 の海馬や嗅球では若齢 SAMP8 や老齢 SAMR1 と比べ亢進していた [4,5]。尚、コントロール SAMR1 において、アルブミンの脳内移行に加齢変化を認めるも、形態学的裏付けは得られなかった。次に、血管内の HRP や内因性アルブミンの脳内への移行が、老齢 SAMP8 の海馬や嗅球において観察された [6-8]。その他、マウス脳室周囲領域はもともと BBB 機能が脆弱であり、加齢変化も受けやすい事が示唆された [9,10]。

(3) 実験的高血圧モデル動物として、脳卒中易発症系自然発症高血圧ラット (SHRSP) を用いて、BBB 機能を検討したところ、3ヶ月齢という若齢の SHRSP 海馬において HRP の漏出、即ち、BBB 障害が観察された [11]。

(4) 慢性低灌流のモデルとして、脳血流が 30 ~ 40% にまで低下している両側総頸動脈結紮ウイスターラットを用いて BBB 機能を検討したところ、結紮後 7 日目に脳梁の粗鬆化を来す前の結紮後 3 日目に脳梁で BBB

連絡先 : 〒 761-0793

香川県木田郡三木町池戸 1750-1

TEL : 087-891-2115

FAX : 087-891-2116

E-mail : masaueno@med.kagawa-u.ac.jp

障害が生じていた [12]。

(5) 急性虚血後再灌流のモデルとして、一過性に片側頸動脈を結紮した砂ネズミを用いて検討したところ、結紮側の海馬血管において BBB 障害を認めた [13]。

(6) 高血糖のモデル動物として、レプチン遺伝子変異のある *db/db* マウスを用いて高血糖の血管透過性に対する影響を検討したところ、HRP の血管透過性に明らかな異常は観察されなかった。尚、血管内皮細胞表面に存在し荷電を有する glyocalyx の存在は荷電を有する物質の脳内移行を妨げているが、その減少を認め、そのことからは荷電を有している物質の脳内移行が亢進する可能性が示唆された [14]。

(7) 水頭症のモデル動物としては、生後水頭症を発症する低酸素誘導因子 (*Hif-1 $\alpha$* ) の中枢神経系細胞特異的ノックアウトマウス [15] を用いて BBB 障害の有無を検討したところ、水頭症を生じている 10 週齢のノックアウトマウスでは BBB 障害は明らかではなかったが、老齢マウスにおいて軽度の BBB 障害を示した [16]。また、このノックアウトマウスでは、胎児期においてカスパーゼ 3 を介する神経系細胞のアポトーシス死とカスパーゼ 2 を介する血管系細胞のアポトーシス死が同時に生じ、結果、胎児期の脳皮質の神経細胞が脱落し、生後に水頭症を発症する事も明らかとなった [17]。Neurovascular unit や BBB の形成を考える上で興味深い所見と考えられる。

以上からは、明らかに BBB 障害を示したのは、急性虚血後再灌流状態と高血圧状態の海馬と、慢性低灌流状態の脳梁であり、海馬と白質の血液脳関門障害から血管性認知症が引き起こされる可能性が推測された (図 2)。尚、記憶学習障害、水頭症といった単独の因子では、BBB 障害は明らかではなく、SAMR1 の結果からは定量的検討では加齢に伴う BBB 障害が示唆されたが、形態学的裏付けが得られなかった。

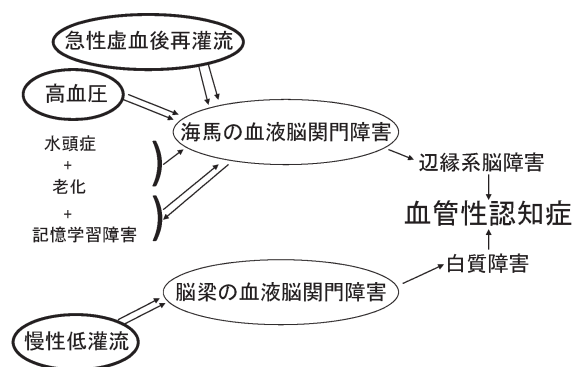


図 2 実験結果に基づいた血管性認知症における血液脳関門障害の役割 (仮説)

### 3. BBB 障害血管における生化学的分析

次に、血液脳関門障害血管において発現量が変化している物質を明らかにするため、BBB 障害血管をマイクロディセクトし、そこから mRNA を抽出し cDNA マイ

クロアレイ解析を行った。その際、高血圧は血管性認知症の主要な原因となりうること、SHRSP は海馬の神経細胞脱落を示す 6 ヶ月齢より以前の 3 ヶ月齢にて海馬の BBB 障害を引き起こすこと [18] から、この SHRSP 海馬血管の解析をおこなった。その結果、オステオポンチンの発現が障害血管において最も亢進していた [19]。その他、transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 受容体 II の発現亢進もみられた。発現が低下している遺伝子としては、エストロゲン受容体などがあげられた。さらに、障害血管での種々の遺伝子や蛋白発現を RT-PCR やウエスタンブロットで検討したところ、P-糖蛋白 [20] やマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) -13 [21] の発現が BBB 障害血管で増加していた。オステオポンチンは、心臓にて TGF- $\beta$  や MMP と協調して虚血障害後の線維化などの心筋のリモデリングに関わっていると報告されているので、ヒトの虚血脳においても、障害血管ではオステオポンチンや MMP や TGF- $\beta$  の発現を介して血管壁の肥厚を含めた血管組織の修復が起こっていることが推測される。また、P-糖蛋白 [20] だけでなく、アミロイドベータ ( $A\beta$ ) 蛋白の脳血管における脳外への輸送体としても想定されている LDL 受容体 [22] や CD36 [23] の発現も亢進していた。尚、tight junction を構成している分子として claudin5 や occludin が知られているが、高血圧に基づく BBB 障害血管でのそれらの発現量の変化は明らかではなかった (表 1)。

表 1 海馬と大脳皮質から採取されたサンプルにおける遺伝子発現解析結果の要約

	Hip-SHRSP / Hip-WKY	Hip-SHRSP / CX-SHRSP
Osteopontin	up	up
<i>Abcb1</i>	up	up
MMP-13	up	up
TGF $\beta$ -RI	up	up
TGF $\beta$ -RII	up	up
LDLR	up	up
CD36	up	up
MMP-2	not significant	up
MMP-9	not significant	down
aquaporin-1	not significant	up
aquaporin-4	not significant	up
occludin	not significant	up
MMP-3	not significant	not significant
RAGE	not significant	not significant
LRP-1	not significant	not significant
ILGF-2R	not significant	not significant
TGF $\beta$	not significant	not significant
Smad3	not significant	not significant
claudin-5	not significant	not significant
P450-OXR	not significant	not significant

—血液脳関門障害を示す SHRSP 海馬 (Hip-SHRSP) での遺伝子発現と血液脳関門障害を示さない WKY 海馬 (Hip-WKY) もしくは SHRSP 大脳皮質 (CX-SHRSP) における遺伝子発現量の比較—

### 4. おわりに

私は、これまで、加齢に伴う血管病としての血管性認知症の発症増悪における BBB の役割を明らかにするため、血管性認知症を特徴づける種々の因子に対する実験モデル動物の BBB 機能を検討してきた。すると、主

として高血圧 [11] と急性虚血後再灌流 [13] が海馬血管の BBB 障害をもたらし、慢性低灌流 [12] が白質血管の BBB 障害をもたらしていた。このことは、ヒトでも急性虚血後再灌流と高血圧が海馬障害を引き起こし、慢性低灌流が白質障害を引き起こしている可能性を示唆しており、MRI や CT 画像所見から病態を類推し、治療へ応用されうる結果である。次に、高血圧に基づく血液脳関門障害血管の生化学的分析から、オステオポンチン [19]、MMP-13 [21]、TGF  $\beta$  受容体、さらには、P-糖蛋白 [20]、LDL 受容体 [22]、CD36 [23] の発現が亢進していることが明らかになった。これらからは、CD36 などの物質の発現を低下させる作用のある薬剤（ある種の抗血小板薬など）が BBB 障害の軽減をもたらす血管性認知症の治療薬になりうることを示唆している。ところで、高血圧は、血管壁の肥厚を含めた血管形態の変化を誘導し、さらにアルドステロンやアンギオテンシン II の産生亢進から酸化ストレスを亢進させる可能性が推測される。また、 $A\beta$  蛋白によって誘導される酸化ストレスに、NADPH 酸化酵素だけでなく CD36 の関与が指摘されているが、糖化を受けたタンパク質は advanced glycation end products (AGE) 産生から酸化ストレスを亢進させるだけでなく、タンパク質のベータシート構造を誘導することからは、糖化が  $A\beta$  蛋白沈着亢進に繋がる可能性も推測される。さらに、CD36 の発現亢進そのものが血管障害を助長すると報告されている [24] ことから、 $A\beta$  産生増加は CD36 などの排出輸送体の発現亢進をもたらし、そして、その CD36 の発現亢進そのものがさらなる血管障害を助長し、血管性認知症増悪を引き起こす可能性が推測される（図 3）。即ち、CD36 は、アルツハイマー病と血管性認知症とを関連付ける分子である可能性が考えられるだけでなく、その発現をコントロールすることによって認知機能を改善させうる可能性も推測される。

今後、BBB 障害の具体的機序のさらなる検討から、新たな認知症治療薬の発見や開発へと繋がっていく事が期待される。

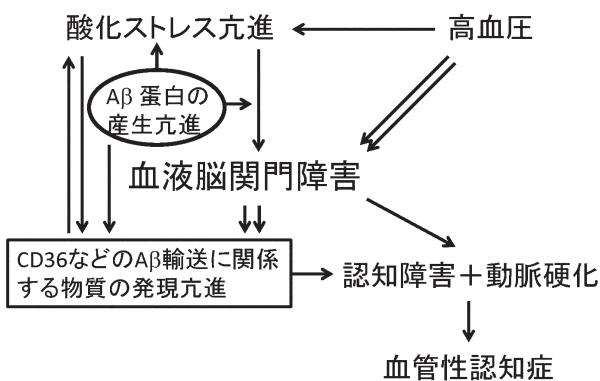


図 3 以上の実験結果に基づき導き出される高血圧と酸化ストレスと  $A\beta$  蛋白と血液脳関門障害と血管性認知症との関係についての考察（仮説）

—二重線：今回の実験結果から推定される道筋—

## 参考文献

1. Ueno M. Molecular anatomy of the brain endothelial barrier: an overview of the distributional features. *Curr Med Chem* 14:1199-1206, 2007.
2. Roman GC, Erkinjuntti T, Wallin A, et al.: Subcortical ischemic vascular dementia. *Lancet Neurol* 1:426-436, 2002.
3. Wardlaw JM, Doubal F, Armitage P, et al. Lacunar stroke is associated with diffuse blood-brain barrier dysfunction. *Ann Neurol* 65:194-202, 2009.
4. Ueno M, Akiguchi I, Yagi H, et al. Age-related changes in barrier function in mouse brain. I. *Arch Gerontol Geriatr* 16:233-248, 1993.
5. Ueno M, Dobrogowska DH, Vorbodt AW. Immunocytochemical evaluation of the blood-brain barrier to endogenous albumin in the olfactory bulb and pons of senescence-accelerated mice (SAM). *Histochem Cell Biol* 105:203-212, 1996.
6. Ueno M, Akiguchi I, Hosokawa M, et al. Age-related changes in the brain transfer of blood-borne horseradish peroxidase in the hippocampus of senescence-accelerated mouse. *Acta Neuropathol* 93:233-240, 1997.
7. Ueno M, Akiguchi I, Hosokawa M, et al. Ultrastructural and permeability features of microvessels in the olfactory bulbs of SAM mice. *Acta Neuropathol* 96:261-270, 1998.
8. Ueno M, Sakamoto H, Kanenishi K, et al. Ultrastructural and permeability features of microvessels in the hippocampus, cerebellum and pons of senescence-accelerated mice (SAM). *Neurobiol Aging* 22:469-478, 2001.
9. Ueno M, Akiguchi I, Hosokawa M, et al. Blood-brain barrier permeability in the periventricular areas of the normal mouse brain. *Acta Neuropathol* 99:385-392, 2000.
10. Ueno M, Sakamoto H, Kanenishi K, et al. Ultrastructural and permeability features of microvessels in the periventricular area of senescence-accelerated mice (SAM). *Microsc Res Tech* 53:232-238, 2001.
11. Ueno M, Sakamoto H, Tomimoto H, et al. Blood-brain barrier is impaired in the hippocampus of young adult spontaneously hypertensive rats. *Acta Neuropathol* 107:532-538, 2004.
12. Ueno M, Tomimoto H, Akiguchi I, et al. Blood-brain barrier disruption in white matter lesions in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 22:97-104, 2002.
13. Shinnou M, Ueno M, Sakamoto H, et al. Blood-brain barrier damage in reperfusion following ischemia in the hippocampus of the Mongolian

- gerbil brain. *Acta Neurol Scand* 98:406-411, 1998.
14. Liao Y-J, Ueno M, Nakagawa T, et al. Oxidative damage in cerebral vessels of diabetic db/db mice. *Diabetes/Metab Res Revs* 21:554-559, 2005.
  15. Tomita S, Ueno M, Sakamoto M, et al. Defective brain development in mice lacking the *Hif-1 $\alpha$*  gene in neural cells. *Mol Cell Biol* 23:6739-6749, 2003.
  16. Ueno M, Tomita S, Nakagawa T, et al. Effects of aging and HIF-1 $\alpha$  deficiency on permeability of hippocampal vessels. *Microsc Res Tech* 69:29-35, 2006.
  17. Ueno M, Tomita S, Ueki M, et al. Two pathways of apoptosis are simultaneously induced in the embryonal brains of neural cell-specific HIF-1 $\alpha$ -deficient mice. *Histochem Cell Biol* 125:535-544, 2006.
  18. Sabbatini M, Catalani A, Consoli C, et al. The hippocampus in spontaneously hypertensive rats: an animal model of vascular dementia. *Mech Ageing Dev* 123:547-559, 2002.
  19. Iwanaga Y, Ueno M, Ueki M, et al. The expression of osteopontin is increased in vessels with blood-brain barrier impairment. *Neuropathol Appl Neurobiol* 34:145-154, 2008.
  20. Ueno M, Nakagawa T, Huang C, et al. The expression of P-glycoprotein is increased in vessels with blood-brain barrier impairment in a stroke-prone hypertensive model. *Neuropathol Appl Neurobiol* 35:147-155, 2009.
  21. Ueno M, Wu B, Nishiyama A, et al. The expression of matrix metalloproteinase-13 is increased in vessels with blood-brain barrier impairment in a stroke-prone hypertensive model. *Hypertens Res* 32:332-338, 2009.
  22. Ueno M, Wu B, Nakagawa T, et al. The expression of LDL receptor in vessels with blood-brain barrier impairment in a stroke-prone hypertensive model. *Histochem Cell Biol* 133:669-676, 2010.
  23. Ueno M, Nakagawa T, Nagai Y, et al. The expression of CD36 in vessels with blood-brain barrier impairment in a stroke-prone hypertensive model. *Neuropathol Appl Neurobiol* 37:727-737, 2011.
  24. Cho S, Szeto HH, Kim E, et al. A novel cell-permeable antioxidant peptides, SS31, attenuates ischemic brain injury by down-regulating CD36. *J Biol Chem* 282:4634-4642, 2007.