

# ゼブラフィッシュを用いた 遺伝性認知症 CADASIL の発症機構解析

SATテクノロジー・ショーケース2024

## ■ はじめに

CADASILは代表的な遺伝性血管性認知症であり、患者はリスク因子がなくとも中年期から脳血管障害を繰り返し認知症に至る。成人の血管の機能調節を担うNotch3の点変異を生まれつき持っているヒトがCADASILを発症することはわかっているが、なぜNotch3の変異が脳血管障害や認知機能障害を引き起こすか不明である。

過去にCADASILモデルマウスは複数作製されているが、いずれもヒトの病態を完全には模倣することができなかった。そこで、本研究ではヒトとの遺伝的相同性が高く、寿命も長いゼブラフィッシュを新たなモデルとして用い、ヒト病態を模倣できるか検証した。

さらに、CADASILの発症機構の解明のために、発症初期における全脳の遺伝子発現変化を解析した。

## ■ 活動内容

### 1. CADASIL特異的な病変であるGOMの蓄積

CADASIL患者では、血管壁周囲にGOMと呼ばれるNotch3を含むタンパク質凝集体が認められることがわかっている。GOMは多糖類を検出するPAS染色と呼ばれる手法で陽性を示すことがわかっているため、ゼブラフィッシュ全脳サンプルを用いてPAS染色を行った。その結果、CADASILモデルゼブラフィッシュでは5ヶ月齢以降に血管周囲にPAS染色陽性の沈着物が認められた。

### 2. 脳血流率

CADASIL患者の脳では、健常者に比べて脳血流が低下していることが知られている。そこで、血管と赤血球を同時に蛍光ライブイメージングできるゼブラフィッシュを用いて経時的に脳血流を撮影した。その後、全ての血管長に対する血流のある血管長の割合を脳血流率として算出した。その結果、CADASILモデルゼブラフィッシュでは11ヶ月齢以降に野生型に比べて脳血流率が低下していた。

### 3. 脳血管機能を支えるペリサイトの数

CADASIL患者では、脳微小血管周囲に巻き付くように存在し、血管機能を調節しているペリサイトが健常者に比べて減少、または機能低下を引き起こしていることがわかっている。そこで、ペリサイトを蛍光ライブイメージングできるゼブラフィッシュを用いて経時的にペリサイト数の変化を解析した。その結果、CADASILモデルゼブラフィッシュでは9ヶ月齢以降にペリサイト数の減少が認められた。

### 4. 認知機能

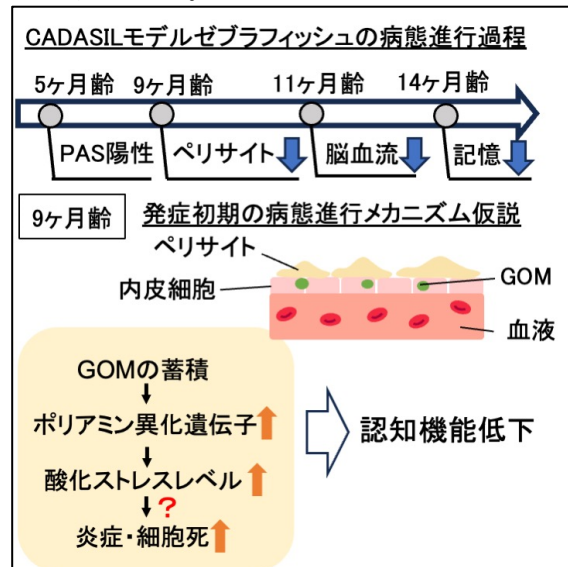
CADASIL患者の最も代表的な症状である認知機能障害

の有無を調べるために、電気刺激と緑色の光を関連づけた恐怖条件付けを行い、11ヶ月齢と14ヶ月齢の魚において学習記憶を評価した。その結果、11ヶ月齢では記憶能力に変化はなかったが、14ヶ月齢ではCADASILモデルゼブラフィッシュで記憶能力の低下が見られた。

### 5. 発症初期における遺伝子発現変化の解析

1から4までの解析で、5ヶ月齢からみられたGOMの蓄積の影響が最初に現れたのは9ヶ月齢でのペリサイトの減少であった。よって、9ヶ月齢がCADASIL発症初期を模倣していると考え、9ヶ月齢の全脳RNAを網羅的に解析する3' RNA-seq解析を行った。その結果、9ヶ月齢のCADASILモデルゼブラフィッシュでは、野生型に比べてポリアミンの異化に関与する遺伝子の発現上昇が見られた

以上の解析により、本研究で用いたゼブラフィッシュモデルの有用性が示された。また、CADASIL発症初期にはポリアミン異化が亢進している可能性が新たに示唆された。ポリアミン異化に関連する遺伝子は、Notch3凝集により誘導される小胞体ストレスにตอบสนองして活性化されるNF- $\kappa$ B経路により制御されている。また、ポリアミン異化の亢進は、抗酸化作用を持つスペルミジンの細胞内レベルを減少させることが知られている。そのため、CADASIL患者の発症初期には、Notch3発現細胞においてスペルミジンが減少して酸化ストレスが上昇し、細胞障害や炎症を引き起こしている可能性がある。



代表発表者 **加納 永梧(かのう とおご)**  
 所属 **千葉大学大学院 医学薬学部  
 先端医学薬学専攻 生化学研究室**  
 問合せ先 **〒260-0856 千葉県千葉市中央区亥鼻1-8-1  
 医療系総合研究棟 I 期棟 308 室  
 TEL:043-226-2892  
 Mail: ahya1025@chiba-u.jp**

■キーワード: (1) 遺伝性血管性認知症 CADASIL  
 (2) ゼブラフィッシュ  
 (3) ポリアミン

■共同研究者: 王林 思帆<sup>1</sup>、古川健吾<sup>2</sup>、楊 鵬<sup>2</sup>、  
 溝口 貴正<sup>2</sup>、伊藤 素行<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> 千葉大学薬学部  
<sup>2</sup> 千葉大学薬学研究院