

アルツハイマー型認知症におけるオレキシンの 関与とオレキシン受容体拮抗薬の効果の検討

羽田 和弘、大井 義明
(医療生命薬学研究ユニット)

【背景および目的】

軽度認知障害 (Mild Cognitive Impairment; MCI) は健常と認知症との中間の症状であり、MCI が進行することでアルツハイマー型認知症 (Alzheimer's disease; AD) へと移行する可能性の高い状態であると考えられている。MCI の主な症状は物忘れだが、日常生活への影響はほとんどなく、認知症とは診断できない状態である。主なリスク因子として加齢があげられ、近年、高齢者の増加に伴い患者数が増大している疾患である。病理学的には Amyloid beta ($A\beta$) の脳脊髄液内での上昇と脳実質への蓄積がみられ、MCI において適切な予防や治療を行うことで AD の発症を防ぐことや、遅らせることが可能であることが明らかとなってきた。しかし、劇的な効果を示す治療薬や、確固たる治療法が確立されていないことから、新たな側面からのアプローチが求められている。近年、いくつかの臨床試験において MCI および AD 患者脳脊髄液内オレキシン (OX) 濃度の上昇が報告されていることから OX と MCI および AD の関係が示唆されている。しかし、MCI における OX の主な役割、 $A\beta$ の凝集・分解過程における OX の関与は未だ明らかとなっていない。そのため、MCI における OX の関与を明らかにすることは MCI の新規治療法および AD の新規予防法開拓に貢献しうると考える。したがって、本研究の目的は MCI と OX の関係を明らかにすることで、未だ有効な治療薬の存在しない MCI および AD の新たな治療・予防標的を提示することである。

【方法】

① OX 受容体拮抗薬の脳内薬物動態の解明

6 ヶ月齢雄性マウス 3~5 匹に Suvorexant (Suv) または Lemborexant (Lem) をそれぞれ 10 mg/kg 経口より投与し、Suv では 10、20、30、40、60 分後に、Lem では 5、10、15、30、60 分後に海馬および視床下部外側野を採取した。採取したサンプルをアセトニトリルにて徐タンパクした後、LC-MS/MS にて薬物濃度を定量した。

② $A\beta$ 凝集体処置初代培養神経細胞に対する OX 及び OX 受容体拮抗薬の効果 顕微鏡下 E15 の野生型仔マウスより海馬を採取し、トリプシン処置した後播

種した(DIV0)。DIV2にて Ara-C 処置 (final; 1 uM) し、DIV5 で AAV-CAGGS-FLEX-EGFP-P2A と Zac-hSyn-Cre を感染させた。さらに、DIV17 で A β -O (final 2.5 uM)、DIV19 で Control (PBS)、OXA または OXB を処置 (final; 10⁻⁹~10⁻⁶ M) し、DIV21 でサンプリングした。

③ *In vivo* microdialysis による OX 濃度の測定

6 ヶ月齢野生型マウスの海馬にガイドカニューレを留置し、回復後プローブを挿入した。プローブ挿入後、リンゲル液を 1 ul/min の速度で灌流し、海馬より CSF を採取した。採取した CSF を用い、LC-MS/MS にて OX 濃度を試みた。

④ OX 受容体拮抗薬による AD モデルマウス認知機能障害の評価

4 ヶ月齢の野生型および *App*-KI マウスに Control、Suv (30 mg/kg) または Lem (30 mg/kg) を経口より 2 か月間投与し、その後 Y-maze 試験により認知機能の評価した。試験終了後は Suv および Lem を経口より投与し、それぞれ 30 分後および 10 分後に凍結切片と凍結組織用にサンプリングした。

【結果と考察】

Suv または Lem を経口投与した後、脳内における薬物濃度を定量したところ、海馬および視床下部外側野において Suv では 30 分後、Lem では 10~15 分後に高い濃度を示した。本結果より、Suv および Lem は視床下部外側野にて最も効率的に作用している可能性と、海馬においても効果が得られる可能性が示唆され、疾患関連性の観点より海馬を標的とすることとした。*In vivo* microdialysis による OX の測定では海馬より採取した CSF 中 OX を直接測定することはできなかった。本結果より、測定限界又は交雑物により測定できていない可能性が考えられる。また、野生型および *App*-KI マウスに 2 ヶ月間 Control、Suv または Lem を投与し、Y-maze 試験を行った。結果、野生型マウスに比べ *App*-KI マウスでは認知機能が障害され、Suv および Lem 投与群では認知機能が改善するという傾向が得られた。

【今後の研究方針】

今年度はおおよその薬物動態を把握するため 10 mg/kg にて Suv および Lem の脳内濃度を評価したが、次年度では 30 mg/kg 投与後の薬物動態を評価する。さらに、*in vitro* の実験に関しては継続中であり、引き続き OX 濃度の検討と OX 受容体拮抗薬の効果を検証する。また、*in vivo* microdialysis による OX の測定では固相抽出カラムを用い、CSF 中の交雑物の除去と OX を濃縮することで OX 濃度測定を試みる。行動解析においても改善傾向が得られているため再度行う。その際のサンプルは LTP の評価に用いる。