

アルツハイマー様記憶障害モデルラットにおける免疫機能の変化

松下奈央, 北筋広美, 松下英樹, 坂口 実*, 松村瑛子

Effects of Basal Forebrain Lesions on Immune Responses in Rats

Nao MATSUSHITA, Hiromi KITASUJI, Hideki MATSUSHITA, Minoru SAKAGUCHI*, Eiko MATSUMURA

Laboratory of Cell Biology, Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1 Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan

(Received November 1, 2012; Accepted December 7, 2012)

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of progressive cognitive dysfunction. In patients with AD, there is a loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis of Meynert and a significant decrease in both the cortical and hippocampal choline acetyltransferase activity and acetylcholine content. A growing number of studies in AD have also reported alterations in peripheral immune systems including lymphocyte function and subset distribution. The mutual relation between the central nervous and immune system are well known. We therefore investigated whether the alterations in immune responses would occur in rats with bilateral basal forebrain (BF) lesions as AD model animal. The spleen cells in BF-lesioned rats show changes a significant increase in the response to concanavalin A in vitro. This effect manifests 3 weeks after lesioning. We therefore investigated the effects of various neurotransmitters, hormones and neuropeptide on the proliferation of spleen cells. As a result the spleen cells in BF-lesion rats show decrease in the response to immunosuppressant corticosterone. We also demonstrated that plasma corticosterone concentration reach significantly higher levels and expression level of glucocorticoid receptors in spleen cells significantly lower level than sham operated control rats. These data suggest a pathophysiological link between glucocorticoid secretory regulation and the basal forebrain function, with possible implications for the process of alterations in peripheral immune systems in AD.

Key words —basal forebrain lesions; immune response; spleen cells; corticosterone; glucocorticoid receptor

1. 緒言

「病は気から」という言葉に象徴されるように、さまざまな社会・心理的ストレスに伴い、ヒトの免疫機能が変化することは昔から知られてきた。動物実験でも、心理的状態と免疫機能との間に因果関係のある現象が観察でき、ストレスの種類、時間、強度や観察する免疫反応のどの時期にストレスが加わったかなどの条件の違いで、免疫反応が抑制されたり、逆に増強されたりすることが判明している。脳が、免疫器官を支配する自律神経系や内分泌系を介して免疫機能を修飾するこ

とを示す証拠として、脳の特定部位の刺激や破壊によって免疫機能が変化すること、免疫反応が条件づけられることなどが挙げられる。一方、従来神経内分泌系の情報伝達物質と考えられてきたホルモンやペプチドが免疫系でも産生され、神経内分泌系に情報伝達していることが知られるようになった^{1,2)}。現在では、脳と免疫系は、共通の情報伝達物質（サイトカイン、ホルモン、神経・内分泌ペプチド、古典的神経伝達物質）とそれらの受容体を持っており、これらの間には多様なコミュニケーションチャンネルが存在していることが明らかにされている^{3,4)}。

* 大阪薬科大学 生体機能解析学研究室, e-mail: sakaguti@gly.oups.ac.jp
本論文は、2012年5月7日に御逝去された恩師、松村瑛子先生（元大阪薬科大学教授）追悼論文です。

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease; AD) は老人斑, 神経原線維変化, 大脳の萎縮などを伴い, 記憶障害を中心とした認知機能の全般的な低下をきたす進行性の痴呆である⁵⁾. AD は, 発症初期からマイネルト基底核に局在しているコリン作動性神経の神経細胞が変性脱落し, 基底核が損傷を受けている脳機能障害であり⁶⁾, 高齢化社会の到来とともに注目を集めている疾患である. この AD 患者でナチュラルキラー (NK) 細胞の細胞傷害活性の亢進⁷⁾ や, 血中サイトカイン/ケモカイン濃度の上昇⁸⁾ といった免疫反応の変動が報告されている. これらのことは, AD 患者における脳組織の損傷が免疫系に影響を及ぼしている可能性を示唆している.

近年では, 前臨床研究に用いる AD 動物モデルとして, 老化モデルや遺伝子改変モデルなどが主流となっているが, 従来, AD 様記憶障害モデル動物として, ヒトのマイネルト基底核に相当する前脳基底核 (basal forebrain; BF) を電気的あるいは化学的に損傷したラットが使用されてきた⁹⁾. そこで本研究では, AD 発症の初期から認められているコリン作動性神経の選択的障害を模したモデルである両側 BF 損傷ラット¹⁰⁾ における脾臓細胞の機能変化を検討した.

2. 実験方法

2.1. 両側前脳基底核 (BF) 損傷ラットの作製

実験動物には, 体重 250–300 g の Wistar 系雄性ラット (日本チャールズリバー) を使用した. 動物は 12 時間毎の明暗サイクル, 恒温 (24 ± 1 °C), 恒湿 (55 ± 5 %) の飼育室において, 水および標準固形試料 (オリエンタル酵母) を自由に摂取させて, 約 2 週間予備飼育した. 両側 BF 損傷は, Nakamura らの方法¹¹⁾ に準じた. ラットにペントバルビタール麻酔 (50 mg/kg, i.p.) を施し, 脳定位固定装置 (SR-6N, ナリシゲ) を用いて Bregma と Lambda が水平になるように頭部を固定した. 予めドリルを用いて目標付近の頭蓋骨に穴をあけ, Paxinos and Watson の脳図¹²⁾ に従って, Bregma の後方 1.5 mm, 正中より右側 2.8 mm, 骨表面から深さ 7.3 mm の位置 (A-1.5 mm,

L-2.8 mm, V-7.3 mm) にある右側の BF に外径 0.5 mm のステンレスパイプを垂直に刺入した. このパイプにビニルチューブで接続したマイクロシリンジ (HAMILTON 7001) を用いて, リン酸緩衝化生理食塩水 (PBS, 日水製薬) に溶解したイボテン酸 (60 nmol/10 µg/µL, Sigma) 0.5 µL を 0.1 µL/min の速さで 5 分間かけて注入し, 5 分間静置した後パイプを抜き, 縫合後, ペニシリン (明治製菓) 2,000 単位を皮下投与した. 1 週間後, 左側 BF (A-1.5 mm, L2.8 mm, V-7.3 mm) も同様にイボテン酸を注入し, 両側 BF 損傷ラット (Lesion) 群を作製した. 対照として, ステンレスパイプを刺入後 PBS を注入した偽手術 (Sham) 群を作製した. なお, 本動物実験は, 大阪薬科大学動物実験委員会の承認を得て, 「大阪薬科大学動物実験規程」に従って実施した.

2.2. 受動回避反応試験

BF 損傷ラットの学習記憶能の測定は, Page らの方法¹³⁾ に準じて, ステップスルー方式の受動回避反応試験を行った. 装置は, Ugo Basile 社の 7550 型ステップスルー受動回避学習装置を使用した. 本試験は, 馴化後の獲得試行および 24 時間後の保持試行を行った. まず, 馴化は, ラットを明室に入れ, 約 30 秒後にギロチンドアを開け, ラットが暗室に入ったらギロチンドアを閉めて 60 秒間そこにとどませた後にホームケージに戻した. 馴化の約 10 分後にラットを再び明室に入れ, その 30 秒後にギロチンドアを開けて, ラットが暗室に入るまでの反応潜時 (step-through latency) を測定した. ラットが暗室に入ったら直ちにギロチンドアを閉め, グリッドから 1 mA, 3 秒間の電気ショックを与えた後ホームケージに戻した. 獲得試行の 24 時間後に行った保持試行では, ラットを再び明室に入れ, その 30 秒後にギロチンドアを開け, ラットが明室から暗室に入るまでの反応潜時を最大 300 秒まで測定した.

2.3. コリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) 活性の測定

脳内の ChAT 活性は、Fonnum らの方法¹⁴⁾で行った。ラットにエーテル麻酔を施し、断頭後、速やかに脳を摘出し、氷上で大脳皮質、小脳、海馬、線条体の一部を採取後、 -20°C で保存した。解凍後、組織重量あたり4倍量の20mMリン酸緩衝液(pH7.4, 10mM EDTA, 0.5% TritonX-100 含有)を加え、ヒスコトロンハンディホモジナイザー(マイクロテック・ニチオン)でホモジナイズしたのち、遠心分離($700\times g$, 4°C , 10min)して得られた上清を酵素液とした。10 μL の酵素液と0.2mM $[\text{^3H}]$ -Acetyl Coenzyme A, 300mM NaCl, 8mM 塩化コリン, 20mM EDTA, 0.1mM 臭化ネオスチグミンを含む50mMリン酸緩衝液(pH7.4) 25 μL を混合し、 37°C で20分間反応後、氷冷リン酸緩衝液1mLを加えて反応を停止させた。直ちにこの反応液1mLを5mL容のシンチレーションバイアルに移し、5mg/mLのKallignost(ナカライテスク)を含む0.4mLのアセトニトリルと、5g/LのPOP(ナカライテスク), POPOP(ナカライテスク) 0.1g/Lを含む2.0mLの液体シンチレーション用トルエン(ナカライテスク)を加え振盪後、シンチレーター層に溶解した $[\text{^3H}]$ -アセチルコリンを液体シンチレーションアナライザー(トライカブ1600CA型, PACKARD社)で測定した。本法において、水層の $[\text{^3H}]$ -Acetyl Coenzyme Aは液体シンチレーションカウンターでは計数されない。酵素液中のタンパク量は、DC Protein Assay Reagent Package (Bio-Rad)を用いて測定した。

2.4. 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium chloride(TTC)による脳切片の染色¹⁵⁾

ラットにエーテル麻酔を施し、断頭後、速やかに脳を摘出し、brain slicer(G8142, EM Japan)を用いて厚さ2mmのスライスを作製した。これを2% TTC(ナカライテスク)溶液に浸漬して 37°C で30分インキュベートした後、実体顕微鏡で損傷部位である非染色領域を確認した。

2.5. ラット脾臓細胞の調製

ラットをエーテル麻酔下で断頭後、無菌的に脾臓を摘出し、冷 Hanks' solution(日水製薬)を入れた35mmディッシュ(FALCON)中で、2枚のフロスト付きスライドガラスのフロスト部分でつぶし、滲出した細胞の浮遊液を、ステンレススチールメッシュ(200 mesh)でろ過した。ろ液を遠心分離($150\times g$, 10min, 4°C)して集めた細胞を、2mLのRPMI 1640 mediumに懸濁し、遠心チューブ中の3mLのLymphocyte Separation Medium(ICL)に重層し、遠心分離($400\times g$, 15-30min, 室温)した後、リンパ球層を分取した。得られた細胞は、Hanks' Solutionで2回洗浄した後、5mLの10% FBS, 50 μM 2-mercaptoethanol, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ streptomycin 含有 RPMI 1640 medium(Life Technologies)に再懸濁した。細胞浮遊液の一部を、同量の0.3%トリパンブルー試液と混和し、非染色性の生細胞が 2.0×10^6 cells/mLとなるように調製した。

2.6. ラット脾臓細胞のマイトジェン反応の測定

1.0×10^6 cells/mLの脾臓細胞浮遊液200 μL を96wellマイクロプレート(IWAKI)に分注し、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concanavalin A(Con A, Sigma)あるいは50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ lipopolysaccharide(LPS, Sigma)を20 μL 加え 37°C , 5% CO_2 存在下で48時間培養した。培養終了4時間前に5mg/mLの3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, Sigma)を10 μL ずつ添加し、培養終了後、遠心分離($130\times g$, 5min, 室温)を行い、上清を除去し、dimethyl sulfoxideを200 μL ずつ加え、溶出した暗青色をマイクロプレートリーダー(Model 550, BIO-RAD)を用いて570nmにおける吸光度を測定した。

2.7. ラット血漿中コルチコステロン濃度の測定

エーテル麻酔下、ラットの外頸動脈からヘパリン処理したシリンジを用いて血液を採取し、遠心分離($1,500\times g$, 10min, 4°C)して血漿を採取した。この血漿を0.1%アジ化ナトリウムを含む0.02Mホウ酸緩衝液(pH7.4)で5倍希釈し、

60°C, 30分インキュベートして血漿中に存在する cortisol binding globulin を除去した。血漿中のコルチコステロンは, ラットコルチコステロン [¹²⁵I]アッセイシステム (GE Healthcare) を用いて測定した。

2. 8. グルココルチコイド受容体量の測定

脾臓細胞は, 氷冷下4%パラホルムアルデヒドで30分間固定した後, PBSで2回洗浄し, 0.2% Triton X-100, 1% BSA含有PBSで10分間処理した。PBSで2回洗浄後, 1% BSA含有PBSで100倍に希釈した抗GR抗体 (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) で4°C, 1時間インキュベートした。1% BSA含有PBSで洗浄後, 同液で100倍に希釈したFITC標識ウサギIgG抗体 (Cappel) で4°C, 1時間インキュベートを行い, 同液で遠心洗浄を行った後, フローサイトメトリー (FACScan, Becton Dickinson) で波長540nmの蛍光を測定し, ヒストグラムパターンと平均蛍光強度 (MFI: mean fluorescence intensity) の解析から, GR量の比較を行った。

2. 9. 統計学的処理

得られたデータは平均値および標準誤差で表した。受動回避学習試験における有意差検定は, Mann-Whitney's *U*-testで行った。また, 多群の差の検定にはKruskal-Wallis testで対照群との比較はBonferroni testで, 2群の差の検定はStudent's *t*-testで行った。

3. 結果

3. 1. 両側BF損傷ラットにおける免疫機能の変化

両側BF損傷ラットでは, 受動回避試験による記憶学習障害¹³⁾, 大脳皮質でのChAT活性の低下¹⁶⁾が起こることが知られている。本研究では, 作製したBF損傷ラットについて, ステップスルー方式の受動回避反応試験で記憶学習障害を確認し, かつ大脳皮質のChAT活性が低下していたラットにおける免疫機能の変化を検討した。

受動回避反応試験は, 嫌悪刺激を与えること

により抑制される動物の行動を指標として記憶の獲得を測定する試験法である。両側BF損傷後, 1-3週においてこの試験を行った結果, 獲得試行 (acquisition trial) では1-3週に渡ってSham群とLesion群の反応潜時に差は見られなかった。一方, 保持試行 (retention trial) では, 1-3週においてLesion群はSham群に比べて有意に反応潜時が低下していた (Fig. 1A)。

両側BF損傷後1-3週目のラットの大脳皮質, 小脳, 海馬, 線条体のホモジネート上清のChAT活性を測定した結果, 1-3週に渡ってLesion群の大脳皮質はSham群に比べて有意に低下していた。小脳, 海馬および線条体のChAT活性は, 両群に差が認められなかった (Fig. 1B)。

イボテン酸によるBF損傷を組織学的に確認する目的で, Lesion群およびSham群から任意に抽出したラットの脳スライスについて, TTC染色を行った。Fig. 1Cにその1例を示したように, 両側BF損傷3週間後のラットでは, Sham群のラット脳では見られないBF部位の損傷が確認できた (Fig. 1C)。

以上のBF損傷モデルとして適切であることが確認できたラットにおける免疫反応の変化を探る目的で, 脾臓細胞のマイトジェンに対する反応性を検討した。Lesion群およびSham群のそれぞれから調製した脾臓細胞について, T細胞マイトジェンであるconcanavalin A (Con A) とB細胞マイトジェンであるlipopolysaccharide (LPS) に対する反応性を比較した。その結果, 手術後1-2週は差が見られなかったが, 3週目のLesion群でCon Aに対する反応性が亢進しており, Sham群に比べ約1.3倍の有意な増強が認められた。一方, LPSでは有意な変化が見られなかった (Fig. 2)。

3. 2. 両側BF損傷後の脾臓細胞の刺激応答性の変化

先にも述べたように, 脳と免疫系が共通の情報伝達物質と受容体を有することが明らかになっている。そこでBF損傷による脾臓細胞のマイトジェンに対する反応性が変化した原因を探る目的

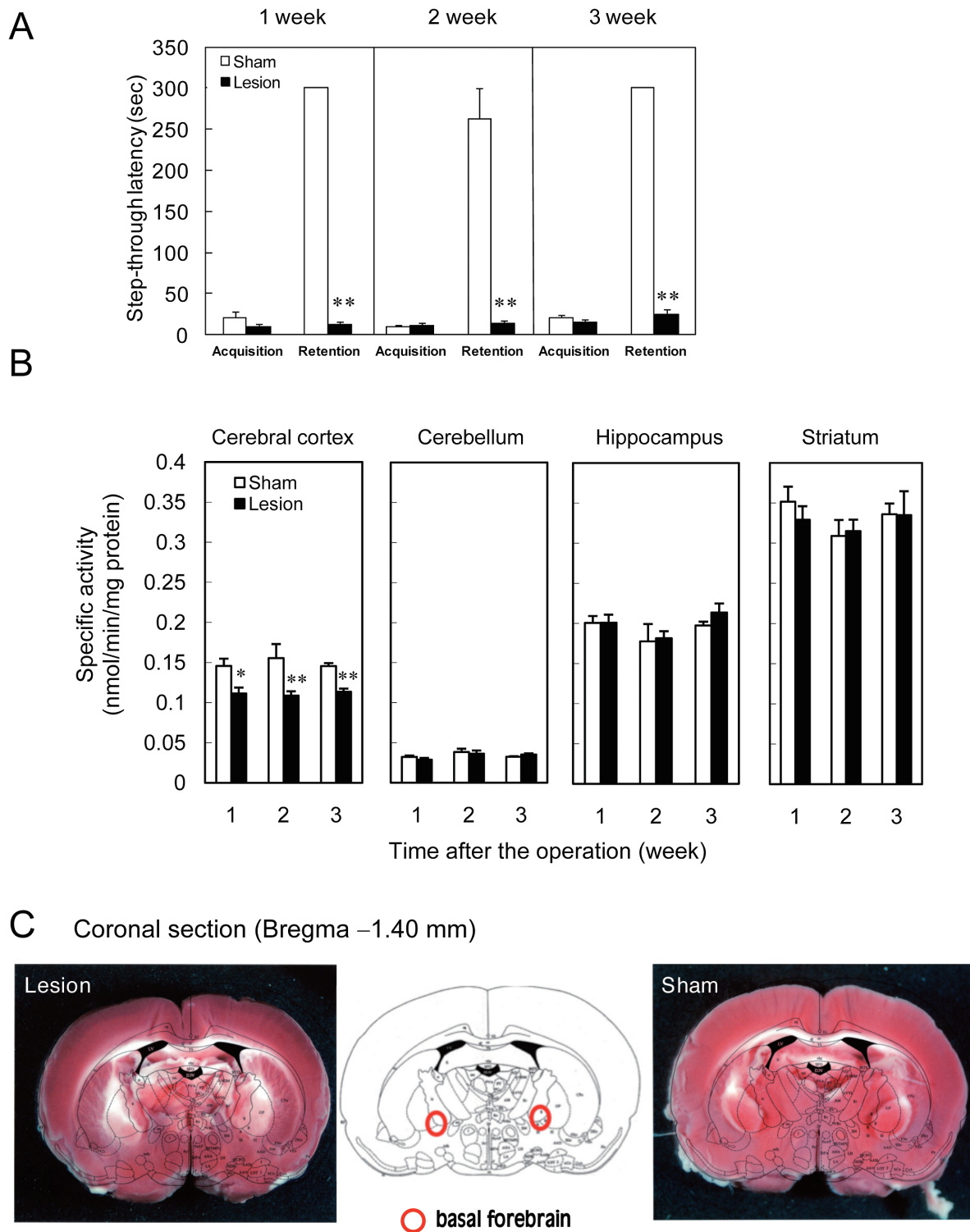


Fig. 1 Effects of ibotenic acid on passive avoidance task and ChAT activity in brain, and the extent of the lesions of the basal forebrain in rats.

(A) The latencies of the step-through passive avoidance task in sham operated and BF-lesioned rats (1w, sham $n=5$, lesion = 6; 2w, sham $n=6$, lesion = 10; 3w, sham $n=35$, lesion = 28). Results are mean \pm S. E. M. The differences in experimental groups were determined by Mann-Whitney's U -test. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with sham rats. (B) ChAT activity in cerebral cortex, cerebellum, hippocampus and striatum of sham operated and BF-lesioned rats (1w, sham $n=5$, lesion = 6; 2w, sham $n=6$, lesion = 10; 3w, sham $n=35$, lesion = 28). Results are mean \pm S. E. M. The differences in experimental groups were determined by Student's t -test. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with sham rats. (C) Representation of the extent of the bilateral basal forebrain lesions according to the atlas of Paxinos and Watson by TTC staining.

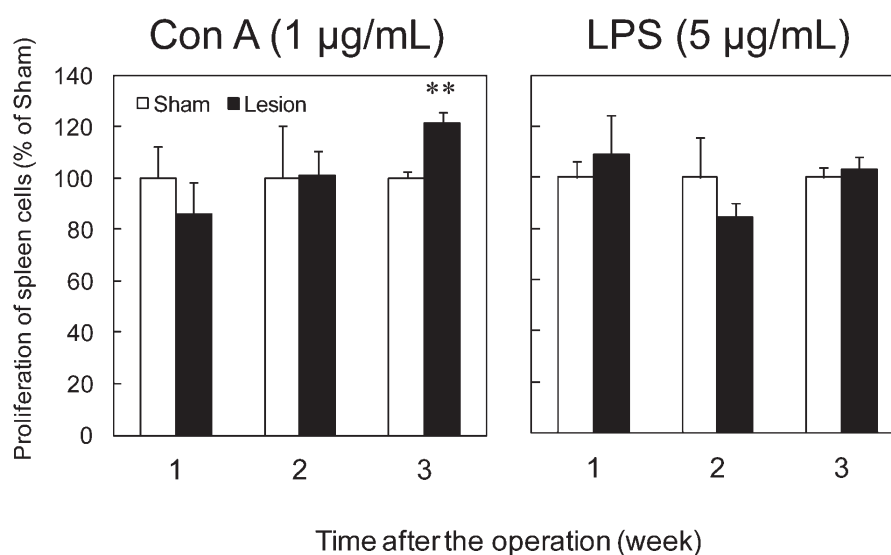


Fig. 2 Spleen cell responsiveness to mitogen stimulation in BF-lesioned and sham operated rats (1w, sham n=5, lesion=6; 2w, sham n=5, lesion=6; 3w, sham n=26, lesion=22). Results are mean \pm S. E. M. The differences in experimental groups were determined by Student's *t*-test. ** $P < 0.01$ compared with sham rats.

で、免疫系に影響を与えていることが知られている情報伝達物質の中から¹⁷⁾、免疫機能を亢進することが知られているアセチルコリン、デヒドロエピアンドロステロン (DHEA)、メチオニン-エンケファリン、また免疫機能を抑制するアドレナリン、コルチコステロンに対する脾臓細胞の反応性を調べた。その結果、Lesion 群の脾臓細胞において、コルチコステロンの増殖抑制作用に対する反応性が有意に低下していた。また、アセチルコリンおよびメチオニン-エンケファリンによる増殖促進作用が増強していたが、DHEA とアドレナリンでは差が認められなかった (Fig. 3)。これらの情報伝達物質の中で、コルチコステロンに対する反応性の変化が著しかったこと、また、AD 患者で末梢グルココルチコイド反応性の低下が報告されている¹⁸⁾ ことから、脾臓細胞のマイトジェン反応性に対するコルチコステロンの影響についても検討した。その結果、Con A 刺激による増殖反応に対して、コルチコステロン 10^{-6} M の抑制反応は Lesion 群と Sham 群で差が見られなかったが、 10^{-7} M では Lesion 群で有意に減弱していた。一方、LPS 刺激に対しては Lesion 群と Sham 群に差が見られなかった (Fig. 4)。

3. 3. 両側 BF 損傷による脾臓細胞のグルココルチコイド反応性の低下

コルチコステロンなどのグルココルチコイドは、糖代謝の調節因子であることに加えて、免疫機能抑制因子であることがよく知られている。また、アルツハイマー病患者で血中グルココルチコイド濃度の異常が報告されている¹⁹⁾。本研究において、両側 BF 損傷によって、脾臓細胞のコルチコステロンに対する反応性が低下していることが示唆された。その原因を探る目的で、BF 損傷手術後 1-3 週における、血漿中コルチコステロン濃度および脾臓細胞のグルココルチコイド受容体量の経時変化を検討した。その結果、Lesion 群、Sham 群ともに顕著な血漿中コルチコステロン濃度の上昇が認められたが、2-3 週目にかけて Lesion 群で有意に上昇していた (Fig. 5A)。また、両側 BF 損傷後の脾臓細胞におけるグルココルチコイドレセプター (GR) 量を抗 GR 抗体を用いたフローサイトメトリーにより測定した。その結果、両側 BF 損傷後 3 週目において、Lesion 群の脾臓細胞における GR 量が Sham 群の約 70% まで有意に減少していた (Fig. 5B)。

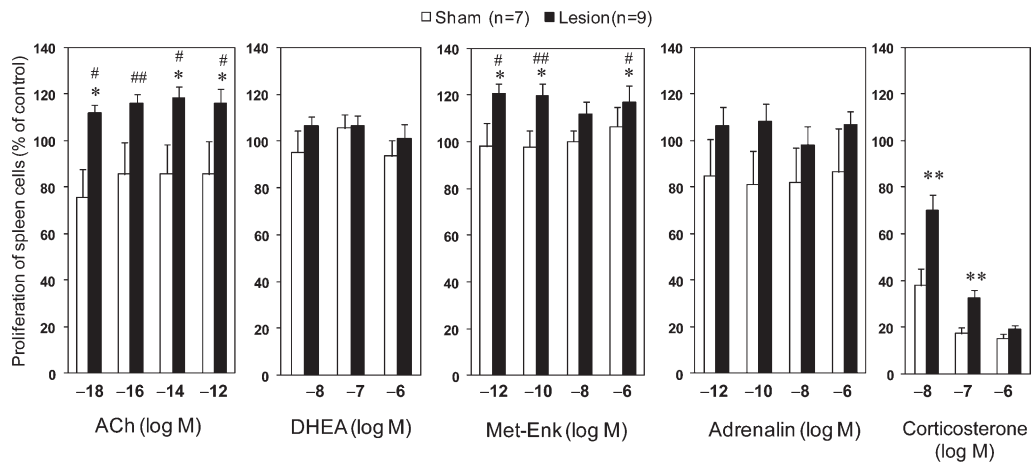


Fig. 3 Effects of various neurotransmitters, hormones and neuropeptide on the proliferation of spleen cells obtained from BF-lesioned and sham operated rats. (sham n=7, lesion=9). Results are mean \pm S. E. M. The differences in experimental groups were determined by Kruskal-Wallis non-parametric one-way analysis of variance followed by Bonferroni test. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with sham rats. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared with each control rats untreated with neurotransmitters, hormones or neuropeptide.

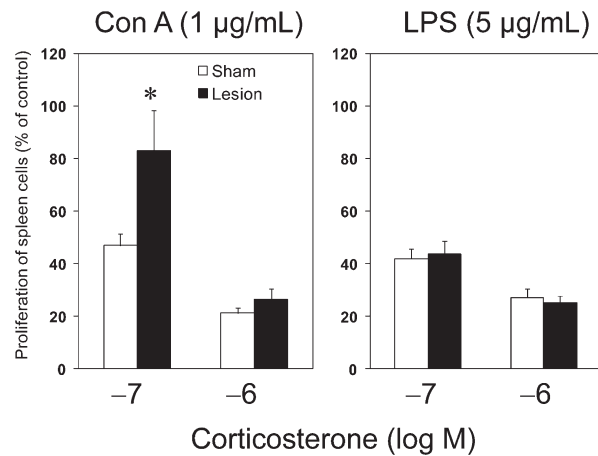


Fig. 4 Effects of corticosterone on spleen cell responsiveness to mitogen stimulation in rats after 3 weeks from BF-lesion and sham operation (sham n=9, lesion=8). Results are mean \pm S. E. M. The differences in experimental groups were determined by Student's *t*-test. * $P < 0.05$ compared with sham rats.

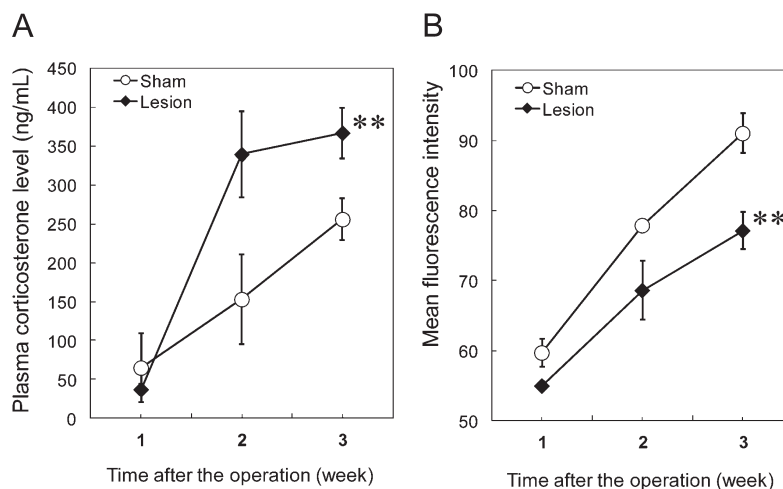


Fig. 5 Time course of plasma corticosterone concentrations (A) and GR receptor levels in spleen cells (B) in BF-lesioned and sham operated rats (1w, sham n=5, lesion=5; 2w, sham n=5, lesion=5; 3w, sham n=11, lesion=10). Results are mean \pm S. E. M. The differences in experimental groups were determined by Student's *t*-test. ** $P < 0.01$ compared with sham rats.

4. 考察

AD は老人斑，神経原線維変化が認められると同時に，発症初期よりコリン作動性神経の変性が顕著であり，ChAT 活性の低下，アセチルコリン含量の低下が認められる．コリン作動性神経の起始核である BF を選択的に損傷した BF 破壊ラットは，AD 様の記憶障害モデル動物として汎用されてきた．本研究では，この BF 損傷ラットを用いて免疫機能の変動について検討した．

本研究で，両側 BF 損傷により，脾臓細胞のマイトジェンに対する反応性が亢進することが明らかとなった．この免疫反応の亢進を引き起こしている原因の一つとして，脾臓細胞のコルチコステロンに対する反応性の低下が示唆された．そこで，BF 損傷によって引き起こされる血漿中コルチコステロン濃度の経時変化を検討した結果，Lesion 群，Sham 群ともに，手術後血漿中コルチコステロン濃度は上昇したが，手術3週間後には，Lesion 群が Sham 群に比べて有意に上昇していることが判明した．さらに，脾臓細胞の GR 量について検討した結果，手術3週間後において Lesion 群で抗 GR 抗体で検出される GR 量が有意に減少していた．以上のことから，BF 損傷ラット由来の脾臓細胞の反応性が亢進していた原因として，BF 損傷による血中コルチコステロン濃度の上昇に伴い，脾臓細胞内の GR がダウンレギュレーションを起こした可能性が示唆された．ただ，GR は，Hsp90 などの GR 結合タンパク質と複合体を形成した非活性な状態から，コルチコステロンなどのリガンドが結合して転写活性を示す状態になる過程で，構造変化することが知られており，本研究で認められた GR 量の減少が，量的変化なのか，抗体との結合性の変化なのか，今後，GR タンパク質あるいは mRNA レベルでの変化を解析することで明らかにすることが課題である．

脳の特定部位の機能が免疫系に影響を及ぼすことは，脳の局所的な損傷実験あるいは生理活性物質の微量注入実験によって調べられている．破壊することで免疫系に最も影響を及ぼす部位は，視

床下部と言われている．特に視索前野／前視床下部を両側性に損傷すると，胸腺および脾臓の細胞数の減少，脾臓細胞の Con A に対する反応性の低下，NK 細胞の細胞傷害活性の低下，抗体産生の減少など細胞性免疫および体液性免疫機能が抑制されることが知られている²⁰⁾．コルチコステロンなどのグルココルチコイドは，下垂体から分泌される ACTH の刺激を受けて副腎皮質から放出される．この ACTH の分泌は，視床下部室傍核 (PVN) の細胞で合成・分泌される CRH が調節しており，この一連の生体反応は，視床下部－下垂体－副腎皮質 (HPA) 系と呼ばれる²¹⁾．本研究において，Lesion 群，Sham 群ともに，手術後血中コルチコステロン濃度が上昇した．HPA 系はストレスによって柔軟に変動することがよく知られており²²⁾，BF 損傷後の血中コルチコステロン濃度の上昇は，手術によるストレスが原因であると考えられる．さらに，Lesion 群では，Sham 群と比較して有意なコルチコステロン濃度の上昇が認められた．HPA 系をコントロールしている PVN に作用する物質として γ -アミノ酪酸 (GABA) が知られている²³⁾．BF にも GABA 作動性神経が存在し，HPA 系の活性をコントロールしていることが知られている²⁴⁾．本研究結果とこれらの報告を考え合わせると，BF 損傷によって GABA 神経による視床下部の抑制が減弱することによって，CRH の放出が増加し，副腎におけるグルココルチコイドの産生・分泌が増加した可能性が推測された．

結論

AD モデル動物である両側 BF 損傷ラットにおいて，脾臓細胞のマイトジェンに対する反応性が亢進しており，脾臓細胞のコルチコステロンに対する反応性の低下がその原因の一つと考えられた．さらに，BF 損傷によって血漿中コルチコステロン濃度が上昇し，脾臓細胞の GR 量が有意に減少していたことから，脾臓細胞の GR がダウンレギュレーションを起こした可能性が示唆された．以上の結果から，AD における免疫反応の変

化は、前脳基底核とグルココルチコイド分泌調節機構の病態生理学的な連関が原因であることが示唆された。

REFERENCES

- 1) Rinner I., Kawashima K., Schauenstein K., *J. Neuroimmunol.*, **81**, 31-37 (1998).
- 2) Haddad J. J., Saadé N. E., Safieh-Garabedian B., *J. Neuroimmunol.*, **133**, 1-19 (2002).
- 3) Lawrence D. A., Kim D., *Toxicology*, **142**, 189-201 (2000).
- 4) Quan N., Banks W. A., *Brain, Behavior, and Immunity*, **21**, 727-735 (2007)
- 5) Bancher C., Brunner C., Lassmann H., Budkal H., Jellinger K., Wiche G., Seitelberger F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Wisniewski H. M., *Brain Res.*, **477**, 90-99 (1989).
- 6) Whitehouse P. J., Price D. L., Struble R. G., Clark A. W., Coyle J. T., Delon M. R., *Science*, **215**, 1237-1239 (1982).
- 7) Jadidi-Niaragh F., Shegarfi H., Naddafi F., Mirshafiey A., *Scand. J. Immunol.*, **76**, 451-456 (2012).
- 8) Lee K. S., Chung J. H., Choi T. K., Suh S. Y., Oh B. H., Hong C. H., *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, **28**, 281-287 (2009).
- 9) 高橋秀樹, *Folia Pharmacol. Jpn.*, **136**, 6-10 (2010).
- 10) Miyamoto M., Narumi S., Nagaoka A., Coyle J. T., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **248**, 825-835 (1989).
- 11) Nakamura S., Tani Y., Maezono Y., Ishihara T., Ohno T., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **42**, 119-130 (1992).
- 12) Paxinos G., Watson C., "The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates," Second edition, Academic Press, Sydney 1986.
- 13) Page K. J., Everitt B. J., Robbins T. W., Marston H. M., Wilkinson L. S., *Neuroscience*, **43**, 457-472 (1991).
- 14) Fonnum F., *J. Neurochem.*, **24**, 407-409 (1975).
- 15) Mathews K. S., McLaughlin D. P., Ziabari L. H., Toner C. C., Street P. C., Hisgrove E., Bezzina E. L., Stamford J. A., *J. Neurosci. Methods*, **102**, 43-51 (2000).
- 16) Johnston M. V., McKinney M., Coyle J. T., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **76**, 5392-5396 (1979).
- 17) 堀 哲郎, *Folia Pharmacol. Jpn.*, **115**, 209-218 (2000).
- 18) Linder J., Nølgård P., Näsman B., Bäck O., Udhammar A., Olsson T., *Gerontology*, **39**, 200-206 (1993).
- 19) Gurevich D., Siegel B., Dumlaio M., Perl E., Chaitin P., Bagne C., Oxenkrug G., *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **14**, 297-308 (1990).
- 20) Cross R. J., Brooks W. H., Roszman T. L., Markesbery W. R., *J. Neurol. Sci.*, **53**, 557-566 (1982).
- 21) Swaab D. F., Bao A. M., Lucassen P. J., *Ageing Res. Rev.*, **4**, 141-194 (2005).
- 22) Bao A. M., Meynen G., Swaab D. F., *Brain Res. Rev.*, **57**, 531-553 (2008).
- 23) Kovács K. J., Miklós I. H., Bali B., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1018**, 466-476 (2004).
- 24) Ziegler D. R., Herman J. P., *Integr. Comp. Biol.*, **42**, 541-551 (2002).