

長寿医療研究開発費 平成28年度 総括研究報告

糖尿病および加齢による認知症促進機構に着目した
次世代の認知症創薬を目指す標的分子の探索
(28-45)

主任研究者 里 直行 国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部 (部長)

研究要旨

高齢化社会においてアルツハイマー病 (AD) に対する根本的治療薬は最重要課題の一つである。AD の原因とされている A β やタウを中心に根本的治療薬が開発されているものいまだ臨床使用可能となるような薬剤はいまだなく、これら以外の開発戦略も必要であると考えられる。本研究では A β やタウを踏まえながら、先天的および後天的危険因子が AD の発症を促進する分子機序を明らかにすることにより、次世代認知症薬の標的分子を同定することを目的とする。① 糖尿病による認知症促進の鍵分子 Factor X の解明、② 老人斑と神経原線維変化(NFT)を繋ぐ因子の解明、③ A β と神経変性を加齢により繋ぐ因子の解明の3つの戦略で標的候補分子を同定する。

主任研究者

里 直行 国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部 (部長)

分担研究者

なし

A. 研究目的

高齢化社会において認知症は根本的治療薬がないことから解決が迫られている重要な課題である。その中でもアルツハイマー病 (AD) は認知症のおおよそ半分以上を占めることから、特に重要である。AD に対する根本的治療薬は老人斑の主要構成成分である A β を標的とした治療薬の開発が進んでおり、またもう一つの主要病理である神経原線維変化の本態であるタウに対する治療法の開発もその途上にある。本研究では A β やタウを踏まえながら、先天的および後天的危険因子が AD の発症を促進する分子機序を明らかにすることにより、次世代認知症薬の標的分子を同定することを目的とする。

B. 研究方法

以下の3つの戦略で標的候補分子を同定する。

① 糖尿病による認知症促進の鍵分子 Factor X の解明

糖尿病合併 AD モデル (18 か月齢) のトランスクリプトーム解析により、糖尿病と AD が合併することによって初めて発現増加する *Btg2*, *Cyr61*, *Fos*, *JunB*, *Dusp1* などの遺伝子群などを見出している (未発表)。さらに脳内環境に存在する比較的分子量の大きい蛋白質を解析可能な独自に開発した脳内マイクロダイアリス (Neuroscience, 2011, Neurobiol. Aging, 2013. 特許第 4625914 号) を用いて量的・質的に発現変化のある分子を同定する。これらの遺伝子あるいは分子に関して *in vitro* 実験系で機能スクリーニングを行う。機能的に興味深い候補に関しては、遺伝子欠損マウスを作成し、APP マウスと交配して糖尿病負荷による認知機能の変化を検討することで生体での機能解析をおこなう。

② 老人斑と神経原線維変化(NFT)を繋ぐ因子の解明

糖尿病合併 AD マウスではタウのリン酸化が亢進する方向に働くことを見出しているが NFT は認められない。タウの遺伝子変異なしに NFT が出現することを期待して糖尿病合併 AD マウスとヒト化タウ・マウスとの掛け合わせを行い、NFT ができるかを評価し、 $A\beta$ と NFT の missing link を見つける。またヒト剖検脳 (健常者、老人斑優位型 (NFT(-)神経変性(-)、AD) の RNA 抽出もすでに終えており、網羅的解析を行い、老人斑と NFT を繋ぐ因子を検索する。

③ $A\beta$ と神経変性を加齢により繋ぐ因子の解明

独自に時間・空間的 $A\beta$ 発現マウスの開発を行い、個体を得ている (未発表)。この時間・空間的 $A\beta$ 発現マウスを用いて「 $A\beta$ に対する生体防御反応」への加齢による影響を *in vivo* で解析し、次世代 AD 治療薬の候補分子を探索する。

(倫理面への配慮)

本研究のすべての動物実験は下記の国のガイドライン・法律などを遵守し、実施する。

「動物の愛護および管理に関する法律」(昭和 48 年法律第 105 号)

「研究機関などにおける動物実験等の実施に関する基本指針」(平成 18 年度厚生労働省告示第 71 号)

また、剖検脳を用いた研究に関しては、研究に関する倫理指針 (人を対象とする医学系研究に関する倫理指針およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針) を遵守しながら、国立長寿医療研究センターでの倫理委員会に本研究での解析の申請を行い、承認されたあと、実験を行う。高齢者ブレインバンクにて設定された匿名化番号を付けた書類、

サンプルが国立長寿医療研究センターに送付される。

C. 研究結果

① 糖尿病による認知症促進の鍵分子 Factor X の解明

糖尿病合併 AD モデル (18 か月齢) のトランスクリプトーム解析により、糖尿病と AD が合併することによって初めて発現増加する遺伝子のうち、Btg2, Cyr61 のゲノム編集マウスの作出に成功した。

さらに脳内環境に存在する比較的分子量の大きい蛋白質を解析可能な独自に開発した脳内マイクロダイアリシス (**Neuroscience**, 2011, **Neurobiol. Aging**, 2013. 特許第 4625914 号)を用いて量的・質的に発現変化のある分子を同定する準備を整えている。さらに我々が独自に開発した脳内マイクロダイアリシスと脳光刺激システムを同時に行えるシステムを本年度に導入した。この導入により、神経の定常状態に加え、活動時の神経細胞の細胞外環境を捉えることが可能となる。

これらの標的治療薬の候補となる遺伝子あるいは分子に関して *in vitro* 実験系で機能スクリーニングを行う為には十分に確実な遺伝子発現が必要であるが、その為、レンチ・ウイルスの使用が可能になるよう第二研究棟 3 階の分子基盤研究部実験室 5 に安全キャビネットを導入し、P 2 の遺伝子組み換え実験の申請を行った。

② 老人斑と神経原線維変化(NFT)を繋ぐ因子の解明

タウの遺伝子変異なしに NFT が出現することを期待して糖尿病合併 AD マウスとヒト化タウ・マウスとの掛け合わせを行い、NFT ができるかを評価し、A β と NFT の missing link を見つける為、大阪大学で飼育していたヒト化タウ・トランスジェニックマウス (大阪市立大学から譲渡) の MTA を再び取り交わし、当センターへ導入した。さらに理化学研究所の西道博士らが開発した、より厳格なモデルと考えられるヒト化タウ・ノックインマウスの導入も新たに準備中である。

またヒト剖検脳 (健常者、老人斑優位型 (NFT(-)神経変性(-))、AD) の RNA 抽出もすでに終えており (大阪大学にて)、網羅的解析により老人斑と NFT を繋ぐ因子を検索する為、これらのサンプルの当センターへの導入を行う。

③ A β と神経変性を加齢により繋ぐ因子の解明

独自に時間・空間的 A β 発現マウスの開発を行い、個体を得ているが、このマウスの大阪大学からの導入を行った。

この時間・空間的 A β 発現マウスを用いて「A β に対する生体防御反応」（この反応を示唆する独自データを既に得ている。Ccl3 および 4: Chemokine (C-C motif) Ligand3 および 4 など）への加齢による影響を *in vivo* で解析し、次世代 AD 治療薬の候補分子を探索する。これらマウスのデータとヒトのデータベースを合わせて信頼性の高い候補分子を検索する準備を進めている。

D. 考察と結論

高齢化社会において AD に対する根本的治療薬は最重要課題の一つであり、AD の原因とされている A β やタウを中心に根本的治療薬が開発されているもののいまだ臨床使用可能となるような薬剤はいまだなく、これら以外の開発戦略も必要であると考えられる。

本研究では A β やタウを踏まえながら、先天的および後天的危険因子が AD の発症を促進する分子機序を明らかにすることにより、次世代認知症薬の標的分子を同定することを目的として① 糖尿病による認知症促進の鍵分子 **Factor X** の解明、② 老人斑と神経原線維変化(NFT)を繋ぐ因子の解明、③ A β と神経変性を加齢により繋ぐ因子の解明の 3 つの戦略で標的候補分子の同定を目指している。

しかし、糖尿病による認知症促進の鍵分子 **Factor X** の解明に関してはモデルマウスを用いることからモデルの特異性を排除する必要があり、複数のモデルマウスを用いる必要があると考えられる。AD および糖尿病の両疾患について複数×複数の組み合わせで共通する分子に着目し、さらに剖検脳やヒトの生物学的試料を用いてその妥当性を証明することが重要であると考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Shinohara M, Sato N. Bidirectional interactions between diabetes and Alzheimer's disease. *Neurochem Int*. 2017 May 24. pii: S0197-0186(16)30412-0. doi: 10.1016/j.neuint.2017.04.020. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1) Naoyuki Sato

"Bidirectional Interactions between Diabetes and Alzheimer's disease"

The 7th BRI International Symposium 2017, Alzheimer's disease: Narrowing the gap between basic science and clinical application, March 11th, 2017, Niigata

2) Naoyuki Sato

"Bidirectional Interactions between Diabetes and Alzheimer's disease: Exploring Therapeutic Options"

2nd Geriatric Innovation Forum, January 21th, 2017, Nagoya

3) 里 直行

認知症の予防の最前線—糖尿病が認知症を促進する分子メカニズムの解明

脳心血管抗加齢研究会 2016 シンポジウム 6 「認知症における Topics (周辺情報・在宅を含めて)」 2016 年 12 月 18 日 東京

4) 里 直行

糖尿病と認知症

第 56 回 近畿理学療法学会 第 56 回 近畿理学療法学会 第 56 回 近畿理学療法学会 シンポジウム 3 「認知機能改善のアプローチ—運動処方の可能性を探る—」 2016 年 11 月 27 日 和歌山

5) 里 直行

糖尿病と認知症

第 38 回日本臨床栄養学会総会・第 37 回日本臨床栄養協会総会 第 14 回大連合大会 ワークショップ 5 「高齢者糖尿病患者の栄養管理」 2016 年 10 月 7 日 大阪

6) 里 直行

糖尿病と認知症－原因と結果の双方向の関係

第40回日本神経心理学会学術集会 公募シンポジウム II 「認知症の食行動異常」2016年9

月16日 熊本

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし