

脳の糖代謝調節経路をインターフェイスにした糖尿病性認知症誘導機構の解明に関する研究（29-21）

主任研究者 田口 明子 国立長寿医療研究センター 統合加齢神経科学研究部（部長）

研究要旨

従来の認知症研究は、主として病気発症後を対象に既存仮説を基盤として進められてきたが、発症機構は未だ不明で本質的な認知症治療薬も存在しない。認知症は発症までに長い年月をかけて進行することから、認知症の発症前段階を研究対象とし、疾患発症までの誘導機構を明らかにすることが認知症発症の根本的な機序の理解に繋がることに期待が持たれている。近年、糖尿病は認知機能障害を誘導し、認知症の発症を促進する重要なリスク要因であることが、国外や我が国の久山町研究をはじめとする臨床研究と疾患モデルを用いた解析から明らかにされている。これらの知見から、認知機能は脳内だけで管理される訳では無く、代謝障害の影響を強く受け、体系的に調節される可能性が考えられる。

本研究では、これまでの研究成果を基盤に、糖尿病と認知機能障害を結ぶ重要な分子経路の1つとして考えられる脳インスリンシグナルが認知機能の恒常性に果たす役割とそのメカニズムを明らかにし、認知機能障害を誘導する根本的な分子機構に迫ることで、認知症の新たなシーズ探索へと繋げることを目標としている。

主任研究者	田口 明子	国立長寿医療研究センター	統合加齢神経科学研究部
分担研究者	徳永 暁憲	国立長寿医療研究センター	統合加齢神経科学研究部
	多田 敬典	国立長寿医療研究センター	統合加齢神経科学研究部
	田之頭大輔	国立長寿医療研究センター	統合加齢神経科学研究部
	櫻井 孝	国立長寿医療研究センター	もの忘れセンター
	佐治 直樹	国立長寿医療研究センター	もの忘れセンター
外部分担研究者	澤本 和延	名古屋市立大学大学院	医学研究科 再生医学分野

A. 研究目的

糖尿病は、血管性認知症のみならずアルツハイマー型認知症（AD）のリスク因子であることが明らかとなってきた。このことから、糖尿病による認知症発症前段階から発症への誘導過程までの理解が認知症発症の根本的な分子機序解明の手がかりとなり、新たな

予防・治療法の開発へと繋がることに期待が持たれている。これまでの我々の研究から、脳におけるインスリンシグナルは、認知機能調節に重要な役割を果たすことが示唆される。我々は、加齢に伴い認知機能障害を呈する中年期以降の2型糖尿病モデルマウスの認知機能低下が惹起される時、脳インスリンシグナルの変化が連動することを見出している。本研究では、要因や病態の異なる認知機能障害モデル動物の脳インスリンシグナルについて精査し、我々が見出した本シグナルの変化およびその誘導因子と認知機能障害の関係について検討することを目的とする。

## B. 研究方法

- ・使用モデルマウス：認知機能障害を呈する2型および1型糖尿病モデルマウスおよび次世代型ADモデル(APPKI)マウス（理化学研究所脳科学研究所西道先生との共同研究）。
- ・解析：1)脳各部位およびインスリン標的末梢組織におけるインスリンシグナルと関連経路の変化についての生化学的手法を用いた解析。2)各組織における、増殖分化、神経炎症および標的分子の抗体を用いた免疫組織学的解析。3)オープンフィールド試験、Y字迷路試験、T字水迷路試験、モリス水迷路試験、受動回避試験等の行動解析。4)体重、血糖値、糖代謝能などの代謝パラメーター解析。5)各種代謝疾患治療薬を用いた薬理的解析。

（倫理面への配慮）

本研究は、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律を遵守し、国立長寿医療研究センターの遺伝子組換え実験管理規程及び国立長寿医療研究センター遺伝子組換え実験管理細則に準ずる。動物実験での使用個体数は綿密に実験計画を立てた後、必要最小限に留め、実験終了後はすみやかに麻酔により安楽死させる。動物実験は、センターの動物実験委員会での審査を受けて実施する。また、その愛護に留意し、痛みを防止するため適切な麻酔薬などを用いて実験を行う。実験動物数は最小限に留め、屠殺は法令で決められた方法に準拠する。

## C. 研究結果

### 1. 1型糖尿病に伴う認知機能障害

1型糖尿病モデルであるSTZマウスも2型糖尿病モデル同様に認知機能の低下を示すことが報告されている。我々は高濃度のSTZの単回投与により平均随時血糖値400mg/dLを超えるSTZマウスを作成し、上記研究手法を用いて解析を行った。我々が作製したSTZマウスの海馬依存的記憶学習能に異常は見られなかったが、反転T字水迷路試験の結果、STZマウスの海馬・前頭葉関連記憶学習能は対照群に比べ有意に低下することを確認した。この時、海馬インスリンシグナルは、2型糖尿病モデルマウスと同様に変化する事を突き止めた（論文投稿準備中）。

### 2. 次世代型ADモデル（APPKI）マウスにおける認知機能障害

従来のADモデルマウスの数種は糖尿病を示すことが報告されていることから、最初にAPPKI

マウスの代謝パラメーターについて解析を行い、結果として、APPKI マウスの体重、随時血糖値は正常である事を確認した。一方、APPKI マウスは、6ヶ月齢で認知機能障害を発症することが報告されているが (Saito et al. 2014)、本センターの動物施設的环境下では、その再現性を確認することはできなかった。そのため、加齢を進め、約8ヶ月齢の APPKI マウスを用いて、再度、T字水迷路試験および反転T字水迷路試験を行った結果、海馬依存の記憶学習能および海馬・前頭葉関連記憶学習能が有意に低下し、海馬の記憶学習能に関与する神経幹細胞の新生も顕著に減少していることも確認できた。さらに、APPKI マウスが認知機能障害を呈する時の海馬のインスリンシグナルについて解析を行ったところ、本マウスの耐糖能は正常であるにも関わらず、本シグナルは、糖尿病モデルマウスと同様に変化する事を見出した (論文投稿準備中)。

### 3. 糖尿病治療薬が認知機能へ与える影響

近年、ドラッグリポジショニングとして、糖尿病薬による神経保護効果に関心が高まっている。我々は、糖尿病の第一選択薬として知られるメトフォルミンの認知機能へ与える影響を精査するため、中年期の2型糖尿病マウスに、メトフォルミンの長期投与を行った。長期メトフォルミン投与は、加齢および糖尿病に誘導される神経炎症を顕著に抑制し、血中インスリン濃度を低下させたものの、血糖値を改善させることができなかったが、海馬の神経細胞神経および認知機能を有意に回復させた。さらにこの時、治療薬投与群の当該マウスの海馬では、メトフォルミンの標的分子 AMPK と関連因子 aPKC $\lambda$  のリン酸化に加え、両者に関連する IRS1 の特異的セリン・スレオニン 3 残基のリン酸化の亢進が伴うことを突き止めた (Tanokashira D et al. FEBS Open Bio. 2018)。

## D. 考察と結論

### 1. 1型糖尿病に伴う認知機能障害

今回の結果から、我々が2型糖尿病マウスの解析から見出した海馬インスリンシグナルの変化は、インスリン作用とは独立に誘導される変化であることが示唆された。

### 2. 次世代型 AD モデル (APPKI) マウスにおける認知機能障害

今回の結果から、我々が認知機能障害を伴う糖尿病モデル動物から見出した脳インスリンシグナルの変化は、糖尿病の種類あるいはその有無に関わらず、認知機能の低下と連動して惹起される可能性が示された。

### 3. 糖尿病治療薬が認知機能へ与える影響

長期メトフォルミン投与による認知機能改善効果は、本剤による血糖値降下作用とは独立に、海馬の AMPK/IRS1/aPKC $\lambda$  シグナルの活性化を介して誘導されることが明らかになった。

## E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mamada N, Tanokashira D, Ishii K, Tamaoka A, Araki W.: Mitochondria are devoid of amyloid  $\beta$ -protein ( $A\beta$ )-producing secretases: Evidence for unlikely occurrence within mitochondria of  $A\beta$  generation from amyloid precursor protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 486(2):321-328, 2017
- 2) Tada H, Miyazaki T, Takemoto K, Jitsuki S, Nakajima W, Koide M, Yamamoto N, Taguchi A, Kawai H, Komiya K, Suyama K, Abe H, Sano A, Takahashi T. Social isolation suppresses actin dynamics and synaptic plasticity through ADF/cofilin inactivation in the developing rat barrel cortex. *Sci. Rep.*, 8471, 2017
- 3) Takemoto K, Iwanari H, Tada H, Suyama K, Sano A, Nagai T, Hamakubo T, Takahashi T. Optical inactivation of synaptic AMPA receptors erases fear memory. *Nat Biotechnol.* 2017 Jan;35(1):38-47.
- 4) Tanokashira D, Kurata E, Fukuokaya W, Kenshiro Kawabe, Takeuchi H, Kashiwada M, Nakazato M, Taguchi A. Metformin treatment ameliorates diabetes-associated decline in hippocampal neurogenesis and memory via phosphorylation of insulin receptor substrate 1. *FEBS Open Bio.* 2018 May 18;8(7):1104-1118.
- 5) Sugimoto T, Yoshida M, Ono R, Murata S, Saji N, Niida S, Toba K, Sakurai T. Frontal Lobe Function Correlates with One-Year Incidence of Urinary Incontinence in Elderly with Alzheimer Disease. *J Alzheimers Dis.* 56(2):567-574, 2017
- 6) Tsujimoto M, Sakurai T, Yamaoka A, Takeda A, Arahata Y, Washimi Y, et al. The Validation of the NCGG-4D (National Center for Geriatrics and Gerontology differential diagnostic tool For degenerative Dementia): -a simple and effective tool for diagnosis and longitudinal evaluation. *Journal of Clinical Gerontology & Geriatrics* in press
- 7) Kamiya M, Osawa A, Kondo I, Sakurai T. Factors associated with cognitive function that affect decline in activities of daily living level in Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int.* In press
- 8) Fujisawa C, Umegaki H, Nakashima H, Okamoto K, Kuzuya M, Toba K, Sakurai T. Physical Function Differences Between the Stages From Normal Cognition to Moderate Alzheimer Disease. *J Am Med Dir Assoc.* 18(4):368.e9-e368.e15, 2017
- 9) Ogama N, Sakurai T, Nakai T, Niida S, Saji N, Toba K, Umegaki H, Kuzuya M. Impact of Frontal White Matter Hyperintensity on Instrumental Activities of Daily Living in Elderly Women with Alzheimer Disease and Amnesic Mild Cognitive Impairment. *PLOS ONE*
- 10) Tamura Y, Kimbara Y, Yamaoka T, Sato K, Tsuboi Y, Kodera Y, Chiba Y, Mori S, Fujiwara Y,

Tokumaru AM, Ito H, Sakurai T, Araki A. White matter hyperintensity in elderly patients with diabetes mellitus is associated with cognitive impairment, functional disability, and a high glycoalbumin/glycohemoglobin ratio.

Front Aging Neurosci, in press

- 1 1) 田之頭大輔、田口明子. : 糖尿病治療薬アクトスの認知症への応用 Medical Science Digest. 43(10):2-4, 2017
- 1 2) 櫻井 孝、佐治直樹、鈴木啓介、伊藤健吾、鳥羽研二. オレンジレジストリ-MCI レジストリを中心として- 老年精神医学雑誌 28(10), 2017. 10
- 1 3) 杉本大貴、櫻井 孝 認知症高齢者の包括的な診療体制の構築 内科 120(2) : 221-224, 2017
- 1 4) 清家 理、住垣千恵子、大久保直樹、藤崎あかり、竹内さやか、森山智晴、水野伸枝、米津綾香、佐治直樹、武田章敬、遠藤英俊、鳥羽研二、櫻井 孝. 認知症疾患医療センターにおける認知症家族介護教室の効果と課題 医療 71(7)314-319, 2017
- 1 5) 櫻井 孝. 認知症の身体疾患 国立医療学会誌 医療 71(10)414-419, 2017
- 1 6) 櫻井 孝. フレイルと人参養栄湯~健康長寿に向けて~ Phil 漢方 メディカルパブリッシャー 65, 2017
- 1 7) 杉本大貴、櫻井 孝. 高齢者糖尿病の疫学 日本臨床 75(11)1641-1645, 2017. 11
- 1 8) 佐治直樹、荒井秀典、櫻井 孝、鳥羽研二. フレイル・サルコペニアと認知症 日本臨床増刊号「実地診療のための最新認知症学」CurrentTherapy 35(4)387(81), 2017

## 2. 学会発表

- 1) 田口明子. : 糖尿病と認知症を結ぶ潜在的経路としての脳インスリンシグナルの機能 第30回日本老年学会総会、第59回日本老年医学会学術集会 2017年6月14-16日、名古屋市、日本(シンポジウム)
- 2) 田口明子. : 糖尿病関連疾患として捉える認知症の誘導機構における脳インスリンシグナルの関与. 関西医科大学 Diabetes Research Forum, 2017年10月25日、ANAクラウンプラザホテル大阪、大阪市、日本(特別講演)
- 3) Daisuke Tanokashira, Wataru Fukuokaya, Akinori Tokunaga, Tamiko Saji, Eiko Kurata, and Akiko Taguchi. : Neural insulin signaling correlates with diabetes-related cognitive impairment. Cell Symposia-Metabolic Disease Therapies Oct15-17, 2017 San Diego, USA(シンポジウム)
- 4) Akiko Taguchi. : Altered neural insulin signaling correlates with both age and diabetes-related cognitive impairment. The International Symposium on Dementia 2017, November 25, 2017. Monash University Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia (特別講演)

- 5) Tada H, Tokunaga A, Tanokashira D, Kashiwada M, Saji T, Imai M, Taguchi A.: Analysis of synaptic insulin signaling in the hippocampus and prefrontal cortex in diabetes-associated cognitive impairment. Society of Neuroscience Nov 14, 2017 Washington DC, USA
- 6) Tokunaga A, Tada H, Tanokashira D, Saji T, Kashiwada M, Taguchi A: Mechanisms linking between impaired hippocampal insulin signaling and diabetes-associated cognitive dysfunction. Society of Neuroscience Nov 15, 2017 Washington DC, USA
- 7) 田之頭大輔、徳永暁憲、多田敬典、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、佐藤駿介、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子：糖尿病に付随する脳インスリンシグナルの変容がアルツハイマー病態に与える影響。第26回海馬と高次脳機能学会 2017年9月30-10月1日、名古屋、日本
- 8) 徳永暁憲、多田敬典、田之頭大輔、佐治多美子、柏田舞波、田口明子：糖尿病モデル動物を用いた認知機能障害発症喜寿尾の解析。第26回海馬と高次脳機能学会 2017年9月30-10月1日、名古屋、日本
- 9) 田之頭大輔、徳永暁憲、多田敬典、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子.: 糖尿病による脳インスリン様シグナルを介したアルツハイマー病態増悪化機構の検討 第32回日本糖尿病合併症学会 2017年10月27-29日 京王プラザホテル, 東京
- 10) 田之頭大輔、福岡屋航、倉田栄子、中里雅光、田口明子.: 神経細胞新生に対する糖尿病薬の効果についての検討 The effect of diabetes drug on adult hippocampal neurogenesis. 第13回成体脳のニューロン新生懇談会 2017年12月2日 九州大学、福岡市
- 11) 田之頭大輔、徳永暁憲、多田敬典、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子.: 糖尿病に伴う脳インスリン様シグナル変容がアルツハイマー病態に与える影響。第36回認知症学会学術集会 2017年11月24-25日、石川県立音楽堂 ANA クラウンプラザホテル金沢, 石川
- 12) 田之頭大輔、徳永暁憲、多田敬典、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、佐藤駿介、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子：糖尿病によるアルツハイマー病態増悪化メカニズムの検討 第32回日本糖尿病肥満動物学会 2018年2月23-24、名古屋、日本
- 13) 徳永暁憲、多田敬典、田之頭大輔、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、佐藤駿介、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子：糖尿病モデル動物を用いた認知機能障害発症機構の解析 第32回日本糖尿病肥満動物学会 2018年2月23-24、名古屋、日本
- 14) 今井萌乃、田之頭大輔、倉田栄子、福岡屋航、柏田舞波、中里雅光、田口明子：メトフォルミンが海馬依存的認知機能へ与える影響についての検討 第32回日本糖尿病肥満動物学会 2018年2月23-24、名古屋、日本

- 1 5) 多田敬典、徳永暁憲、田之頭大輔、柏田舞波、佐治多美子、田口明子：糖尿病に伴う脳内糖代謝シグナル活性異常を介したシナプスを起点とする認知機能障害誘導メカニズムの解析 第95回日本生理学会大会 2018年3月28-30、高松市、日本
- 1 6) 櫻井孝 Hot Topics 講演「Orange 研究の進捗状況」第7回日本認知症予防学会 (2017. 9. 22-24. 岡山)
- 1 7) 水上勝義、櫻井孝、乗竹亮治 Advanced -Age Healthy Society (地域活動) を考える 第7回日本認知症予防学会 (2017. 9. 22-24. 岡山)
- 1 8) 杉本大貴、櫻井孝、木村藍、小野玲、佐治直樹、新飯田俊平、鳥羽研二 糖尿病を有するもの忘れ外来患者の血糖コントロールとADL低下との縦断的関連性 第7回日本認知症予防学会 (2017. 9. 22-24. 岡山)
- 1 9) 森山智晴、清家理、竹内さやか、大久保直樹、藤崎あかり、水野伸枝、鳥羽研二、櫻井孝 認知症の人や家族介護者のための集いの場に必要支援内容の探索研究 第7回日本認知症予防学会 (2017. 9. 22-24. 岡山)
- 2 0) 清家理、森山智晴、竹内さやか、大久保直樹、藤崎あかり、水野伸枝、鳥羽研二、櫻井孝 集团的家族介護者支援従事者に対する教育的支援プログラム開発研究-持続可能な認知症カフェ・認知症家族介護者教室開催のために-第7回日本認知症予防学会 (2017. 9. 22-24. 岡山)
- 2 1) 竹内さやか、清家理、森山智晴、大久保直樹、藤崎あかり、水野伸枝、佐治直樹、堀部賢太郎、鳥羽研二、櫻井孝 認知症家族介護者と集团的家族支援運営者の実態調査 第7回日本認知症予防学会 (2017. 9. 22-24. 岡山)
- 2 2) 倉坪和泉、加藤隆司、木村ゆみ、岩田香織、文堂昌彦、木澤 剛、櫻井 孝、佐治直樹、遠藤英俊、鷺見幸彦、新畑 豊、武田章敬、伊藤健吾、中村昭範、MULNIAD Study Group 認知機能正常高齢者において近時記憶の経時変化と関係するアミロイド集積部位の検討 第41回日本神経心理学会学術集会 (2017. 10. 12~13東京)
- 2 3) Taiki Sugimoto, Takashi Sakurai, Ai Kimura, Rei Ono, Naoki Saji, Shunpei Niida, Kenji Toba: The longitudinal association of glycemic control based on glycemic target of the JDS/JGS joint committee with cognitive and ADL decline in patient with MCI and AD. CTAD2017 10th edition of Clinical Trials on Alzheimer' s Disease (2017. 11. 1-5, Boston USA)
- 2 4) Ai Kimura, Takashi Skurai, Taiki Sugimoto, Kazuya Kitamori, Naoki Saji, Shumpei Niida, Kenji Toba: Nutritional Status in patients with MCI, AD and DLB and its clinical meaning for dementia prevention and care CTAD2017 10th edition of Clinical Trials on Alzheimer' s Disease (2017. 11. 1-5, Boston USA)
- 2 5) 大釜典子、櫻井孝、佐治直樹、新飯田俊平、遠藤英俊、鳥羽研二、梅垣宏行、葛谷雅文 認知症高齢者における気分障害の関連因子-脳画像解析を用いた検討-第36回日本認知症学会学術集会 2017年11月24日-26日 金沢

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