

長寿医療研究開発費 2020年度 総括研究報告

脳インスリンシグナルの変化を指標とした
糖尿病によるアルツハイマー病増悪化前段階変化に関する研究（20-48）

主任研究者 王 蔚 国立長寿医療研究センター 統合神経科学研究部 研究員

研究要旨

超高齢化社会への進展に伴う認知症患者数の大幅な増加は、大きな社会問題になることが予想されるが、未だ認知症発症機序は不明であり、本質的な認知機能障害の治療薬も存在しない。最近の認知症研究から、糖尿病はアルツハイマー病（AD）の重要な危険因子であることが報告されており、糖代謝障害による認知機能障害発症メカニズムの解明が求められている。本研究では、脳での糖代謝シグナルの主要調節因子変化と認知症の関係を次世代型 AD モデル（APPKI）マウスを用いて研究を行った。我々はこれまでに、認知機能が正常である若齢 APPKI マウスの脳において、ヒト AD 死後脳で見られた脳糖代謝シグナル主要調節因子の特定残基リン酸化が惹起されていることを明らかにし、さらに、2型糖尿病で観察された脳糖代謝シグナル主要調節因子の特定残基リン酸化は、アミロイド β ($A\beta$) とは独立し、認知機能低下に連動することを報告した。しかしながら、2型糖尿病付加 APPKI マウスにおける糖代謝シグナルおよび代謝の変化と認知機能悪化との詳細な関係は不明である。本研究では、 $A\beta$ の増加が見られるが正常な認知機能を保持する APPKI マウスの若齢期から認知症発症前段階を研究対象に、脳および末梢組織における糖代謝シグナルの変化を指標として、 $A\beta$ とは独立な 2 型糖尿病による認知機能悪化誘導メカニズムを解明することを目的とする。

主任研究者

王 蔚 国立長寿医療研究センター 統合神経科学研究部 研究員

分担研究者

田口明子 国立長寿医療研究センター 統合神経科学研究部 部長

田之頭 大輔 国立長寿医療研究センター 統合神経科学研究部 外来研究員

A. 研究目的

海外の疫学および基礎研究から、糖代謝障害が AD の重要な危険因子であることが明らかにされているが国内の久山町研究からも糖尿病と認知症の関係についてと同様の結果が

得られている。しかしながら、糖代謝シグナルと認知症の関係について焦点を当てた研究はほとんど行われていない。最近の研究から、AD患者の死後脳では、糖代謝シグナル主要調節因子の特定残基リン酸化が見られる事が明らかにされ、認知機能障害と糖代謝シグナルの変化の関係に関心が高まっている。我々はこれまでに、本研究課題の基盤となる結果の一部として、若齢 APPKI マウスでは、認知機能は正常であるにも関わらず、既に脳糖代謝シグナル主要調節因子の特定残基リン酸化が惹起されていることを見出した。さらに、APPKI マウスでは、脳糖代謝シグナル主要調節因子の特定残基リン酸化は A β の増加に連関する可能性を明らかにした。一方、2型糖尿病で観察された脳糖代謝シグナル主要調節因子の特定残基リン酸化は、A β とは独立し、認知機能低下に連動することを報告した (Wang et al., *Nutrients* 2019)。以上の研究結果から、2型糖尿病や AD モデルマウスで見られた神経機能異常に脳糖代謝シグナルが関与する可能性が示された。しかしながら、2型糖尿病による AD 病態の誘導過程における代謝変化の影響と脳と全身の糖代謝シグナルの経時的変化とその役割については不明である。本研究では、A β の増加が見られるが正常な認知機能を保持する APPKI マウスの若齢期から認知症発症前段階を研究対象に、脳および末梢組織における糖代謝シグナルの変化を指標として、A β とは独立な 2型糖尿病による認知機能悪化誘導メカニズムを解明することを目的とする。

B. 研究方法

- ①野生型マウスと APPKI マウスのそれぞれに生後 4 週齢から 60% kcal 脂肪含有高脂肪食 (HFD) を与え、2型糖尿病を誘導した群と普通食 (ND) を与えた群 (WT:ND, APPKI:ND, WT:HFD, APPKI:HFD) を作製する。12 週齢の時点で、代謝パラメータ (体重、血糖値、体温測定、血中インスリン値、グルコース耐性試験およびインスリン耐性試験など) を測定する。
- ②若齢当該マウスの認知機能を複数のバッテリー行動試験 (オープンフィールド試験、高架式十字迷路試験、T 字水迷路試験、受動回避試験) により解析する。
- ③若齢当該マウスの海馬を含む脳の各部位および末梢組織の糖代謝シグナル関連タンパク質の変化を分子生物学的、生化学的および組織学的に解析する。
- ④若齢当該マウスを用い、各種異なる代謝条件下での体温変化について検討する、さらに、体温調節に関与した脳領域および末梢組織における関連する因子の変化について、分子生物学的、生化学的および組織学的に解析する。
- ⑥体系的な代謝変化が神経機能異常を誘導する経路の一つとして、中間代謝産物を介した分子機序について検討する。

(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及びヘルシンキ宣言 (医学研究の倫理的原則) を遵守し、国立研究開発法人長寿医療研究

センター各規程に準じて遂行される。動物実験は、動物を用いることによって、実験目的が達成されると判断される場合に限定する。動物実験での使用個体数は綿密に実験計画を立てた後、統計学的に必要な最小数に使用する。可能な限り動物が被る生理的・心理的苦痛を軽減し、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、センター内の動物実験倫理委員会での審査を受けて実施する。また、動物の愛護に留意し、動物を飼育する場所・ケージ・管理方法の配慮、被る苦痛の減退に努力する。最後、屠殺は法令で決められた方法に準拠する。

C. 研究結果

1. 2型糖尿病を誘導した若齢期 APPKI マウスの代謝パラメータ

2型糖尿病を誘導した若齢期 APPKI は、普通食 APPKI マウスに比べ、体重の上昇が見られることに加え、2型糖尿病により惹起される糖代謝機能の悪化に影響を与えることがわかった。

2. 2型糖尿病を誘導した若齢期 APPKI マウスの認知機能

若齢期 APPKI マウスは、2型糖尿病を誘導しても、正常な認知機能を保持することがわかった。

3. 2型糖尿病を誘導した若齢期 APPKI マウスの海馬糖代謝シグナル変化

これまでに我々は、認知機能が正常である若齢期 APPKI マウス海馬においては、ヒト AD 死後脳研究から見つかった糖代謝シグナルの主要調節因子が特定残基リン酸化されていることを報告していた。2型糖尿病は、若齢期 APPKI マウス海馬の糖代謝シグナル主要調節因子の特定残基リン酸化にさらに影響を与えることがわかった。

4. 2型糖尿病を誘導した若齢期 APPKI マウスの体温調節機能

認知機能患者では体温調節機能異常を示すことが報告されている。2型糖尿病を誘導した若齢期 APPKI マウスの深部体温について検討したところ、体温調節機能に変化は観察されなかった。

5. 2型糖尿病を誘導した APPKI マウスの中間代謝産物を介した分子機序について検討

体系的な代謝変化が認知機能障害を誘導する経路の一つとして、中間代謝産物レベルの変化について検討した。2型糖尿病を誘導した APPKI マウスでは、血中脂質群の値が2型糖尿病マウスに比べ有意に変化していることが分かった。

6. 2型糖尿病を誘導した若齢期 APPKI マウスの海馬細胞内小器官関連タンパク質変化

AD を含めた神経変性疾患の脳では細胞小器官の機能低下が報告されている。2型糖尿病

を誘導した若齢期 APPKI マウスの海馬では、細胞内小器官関連タンパク質群に明らかな変化は見られなかった。

D. 考察と結論

1. これまでの研究結果から、2型糖尿病に誘導される脳の変化は、糖代謝障害および A β の変化とは独立して惹起されることが示唆された。
2. 普通食および2型糖尿病付加 APPKI マウスの若齢期から観察される海馬糖代謝シグナル主要調節因子の特定残基リン酸化変化は、中年期以降の当該マウスの認知機能障害発症に関与する可能性が示された。

本研究は、2型糖尿病による A β とは独立な認知症誘導メカニズムの解明に近づくことができると考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoichiro Takayanagi, Koko Ishizuka, Thomas M. Laursen, Hiroshi Yukitake, Kun Yang, Nicola G. Cascella, Shuhei Ueda, Akiko Sumitomo, Zui Narita, Yasue Horiuchi, Minae Niwa, Akiko Taguchi, Morris F. White, William W. Eaton, Preben B. Mortensen, Takeshi Sakurai & Akira Sawa. From population to neuron: exploring common mediators for metabolic problems and mental illnesses. *Mol. Psychiatr.*, 2020. DOI: 10.1038/s41380-020-00939-5
- 2) Daisuke Tanokashira, Wei Wang, Megumi Maruyama, Chiemi Kuroiwa, Morris F. White, Akiko Taguchi. Irs2 deficiency alters hippocampus-associated behaviors during young adulthood. *BBRC.*, 559: 148-154, 2021. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.04.101

2. 学会発表

- 1) 王蔚、田之頭大輔、丸山めぐみ、黒岩智恵美、倉地秀明、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子（責任著者） 脳インスリンシグナルの変化を指標とした糖尿病によるアルツハイマー病増悪化前段階変化についての検討. 第5回 NCGG サマーリサーチセミナー、2020年8月28日、国立長寿医療研究センター・教育研修棟、大府市、日本
- 2) 王蔚、田之頭大輔、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子（責任著者） 認知機能障害発症におけるセリンリン酸化を介した海馬 IRS1 シグナルの変化. 第39回日本認知症学会、2020年11月26日、名古屋・オンライン開催、日本
- 3) 王蔚、田之頭大輔、丸山めぐみ、黒岩智恵美、倉地秀明、田口明子（責任著者） 認

知機能調節におけるグリアインスリンシグナルの役割. 第 43 回日本分子生物学会、
2020 年 12 月 2 日、神戸・オンライン開催、日本

- 4) 王蔚、田之頭大輔、丸山めぐみ、黒岩智恵美、倉地秀明、田口明子 (責任著者) 認知機能調節におけるグリアインスリンシグナルの役割についての検討. 第 35 回日本糖尿病合併症学会、2020 年 12 月 7 日、金沢・オンライン開催、日本
- 5) 王蔚、田之頭大輔、丸山めぐみ、黒岩智恵美、倉地秀明、齊藤貴志、西道隆臣、田口明子 (責任著者) 2 型糖尿病によるアルツハイマー病の認知機能障害増悪化への海馬インスリンシグナルの関与. 第 98 回日本生理学会、2021 年 3 月 28 日、名古屋・オンライン開催、日本

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