

長寿医療研究開発費 2020年度 総括研究報告

栄養代謝系の変容による認知機能低下およびフレイル発症機構の解明に関する
研究（20-7）

主任研究者 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）

研究要旨

中年期の肥満・糖尿病および高齢期の低栄養は共に認知症のリスク要因となることが明らかとなっている。これらの知見は、中年期から高齢期へのライフステージの変遷に伴う生体内の栄養環境の変化が認知機能へ影響を与える事を示唆することから、エネルギー代謝の変容は、フレイルと認知症の発症機構を解明する上で重要な要因であり、エネルギー代謝調節経路である糖代謝シグナルが認知症の発症に関与する可能性が考えられる。

これまでに我々は、アルツハイマー病（AD）死後脳で発見された糖代謝シグナルの主要調節因の特異的变化が、2型糖尿病および老化に伴うA β 非依存性の認知機能低下に連動する事を明らかにした。しかしながら、認知機能に関与する脳の糖代謝シグナルの機能する細胞種や全身の栄養エネルギー代謝調節との関係については未知の部分が多く残している。

本研究では、認知機能と栄養代謝の調節における脳と末梢組織の糖代謝シグナルの役割と臓器間相互作用を基礎研究と臨床研究の両側面から認知機能障害およびフレイルを誘導する未知の発症機構を明らかにし、これらの疾患の新たな予防および治療法開発へと発展させることを目標とする。

主任研究者

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）

分担研究者

王 蔚 国立長寿医療研究センター 統合神経科学研究部（流動研究員）

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）

櫻井 孝 国立長寿医療研究センター もの忘れセンター（センター長）

佐治 直樹 国立長寿医療研究センター もの忘れセンター（副センター長）

A. 研究目的

これまでに我々は、アルツハイマー病 (AD) 死後脳で発見された糖代謝シグナルの主要調節因子の特異的变化が、2 型糖尿病および老化に伴う A β 非依存性の認知機能低下に連動する事を明らかにした。しかしながら、認知機能に関与する脳の糖代謝シグナルの機能する細胞種や全身の栄養エネルギー代謝調節との関係については未知の部分が多く残している。

本研究では、高齢期低栄養モデル、アストロサイト特異的糖代謝シグナル変異マウス、糖代謝シグナル分子欠損 2 型糖尿病モデルの各種動物モデルの認知機能と栄養代謝について検討すると共に AD 患者死後脳などのヒト疾患組織における糖代謝シグナルの変化についての解析から、認知機能と栄養代謝の調節における脳と末梢組織の糖代謝シグナルの役割と臓器間相互作用を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1. 各種認知機能障害および栄養代謝異常モデルマウス：

1) 高齢期低栄養モデル：高齢期 (1 年齢～) C57/B6J マウスに低タンパク質 (Low Protein Diet : LPD) による低栄養食を長期投与 (5 ヶ月～) により作製；2) アストロサイト特異的糖代謝シグナル主要調節因子変異マウス：アストロサイト特異的 hGFAP-Cre マウスと floxed マウスの交配後 6 週齢でタモキシフェンを投与し、成体特異的欠損マウスを作製した；3) 糖代謝シグナル主要調節分子欠損 2 型糖尿病モデル (Withers DM et al. Nature 1998) を戻し交配により C57/B6J 遺伝子背景で維持し使用した。

2. ヒト疾患組織：AD 患者死後脳：

神経原線維変化ステージ V, VI の前頭前野、運動野を使用 (新潟大学脳研から供与)。

3. 糖代謝調節経路および関連シグナルの解析：

各種マウスから脳および糖代謝関連末梢組織を分離後ホモジネートした細胞溶解液を用いて、ウエスタンブロッティング法、免疫沈降法、ELISA 法および質量分析法により解析を行った。

4. 組織学的解析：

各種マウスから脳および末梢組織を分離、固定、脱水後、切片を作製した。神経細胞新生、神経炎症等を査定するため、特異的な各種抗体およびその他標的分子の抗体を用いた免疫組織学的解析を行い評価した。

5. 行動解析：

自発活動量、空間認知記憶、長期記憶を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、受動回避試験により解析した。

6. 代謝パラメーター解析：

体重、血糖値は週毎に測定し、血中ホルモン値は ELISA 解析により測定した。糖代謝能はグルコース耐性試験およびインスリン耐性試験により評価した。血中脂質については生化学検査によって評価した。深部体温は直腸温度により評価した。

(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の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、国立長寿医療研究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. 高齢期における低栄養が認知機能・栄養エネルギー代謝に与える影響:

老齢 LPD マウスは、同齢普通食対照群 (Normal Diet: ND マウス) に比べ有意な体重と摂食量の低下と体温調節異常を示した。両群間の血糖値に差は見られなかったが、老齢 LPD マウスは自発運動量変化を呈した。この時、老齢 LPD マウス海馬では、認知機能障害を示す 2 型糖尿病モデルと老齢モデルの海馬で見られる糖代謝シグナルの主要調節因子の変化が同様に観察されることが分かった。さらに、LPD から ND に変更された老齢マウスは糖代謝異常を呈することが明らかとなった。

2. 認知機能・栄養代謝・自発運動の調節におけるアストロサイト糖代謝シグナルの役割:

我々は、認知機能低下を示す中年期以降の 2 型糖尿病モデルマウス脳では老齢脳と類似のアストロサイトの変化が生じていることを見出した。アストロサイトは脳のエネルギー栄養代謝調節を担う中心的役割を果たしているが、糖代謝と認知機能調節におけるアストロサイトの糖代謝シグナルの役割は不明である。この疑問を解決するため、アストロサイト特異的糖代謝シグナル調節分子の成体特異的欠損マウスを作製した。当該マウスでは、正常な自発行動量が見られるが、若齢期より糖代謝と認知機能に変化が生じていることが明らかとなった。この時、海馬の記憶学習能に関与する神経細胞新生にも変化が生じており、加えてミトコンドリア関連因子にも有意に変化が見られることが分かった。

3. 認知症患者死後脳を用いた解析:

我々を含むこれまでの研究から、脳の糖代謝シグナルは、栄養エネルギー代謝や寿命老化の調節、神経変性疾患や加齢に伴う認知機能低下の発症に関与することが明らかになっている。ヒトでの知見として海外の解析から、AD 死後脳で糖代謝シグナル経路の特異的变化が発見されている。我々は、認知症と脳の糖代謝シグナル経路の関係について、日本国内での知見を得るため、認知症患者死後脳 (新潟大学脳研から供与) を用いて

解析を行った。海馬での神経細胞の脱落が見られる死後脳検体（前頭前野、運動野）を用いた解析から、Tau の発現 および Tau のリン酸化レベルの顕著な増加が観察される神経原線維変化進行ステージで、糖尿病の有無および老人斑の有無に関係なく、糖代謝シグナル主要調節因子の顕著な変化が生じていることを見出した。またこの時、エネルギー代謝および運動関連因子の顕著な変化も観察された。

4. 糖代謝シグナル主要調節分子欠損による 2 型糖尿病が認知機能へ与える影響:

糖代謝シグナル主要調節分子は、ヒトの糖尿病でも遺伝子多型が見つかっている。当該分子の欠損雄マウスは重篤な 2 型糖尿病を発症するため、認知機能への影響について興味を持たれていたが、当該雄マウスは早期に死に至るため、成体での認知機能については不明のままであった。しかしながら、本センターの飼育環境下では重篤な 2 型糖尿病は見られるものの早期致死が改善されたため、当該雄マウス若齢期の認知機能を解析することが可能となった。今回我々は、当該分子の欠損に起因して 2 型糖尿病を発症する当該雄マウスは認知機能障害を呈することを明らかにした。この時、体温調節障害が生じており、海馬では認知機能調節に関与する体温調節センサータンパク質とエネルギー代謝関連分子の異常な発現変化が起きていることを突き止めた。

D. 考察と結論

1. 高齢期における低タンパク質を含む低栄養の長期間摂取は、体重減少に加え、摂食量と体温の調節に影響を与えることが示唆された。さらに、老齢マウスの餌を低栄養食から普通食に戻した後、老齢マウスは糖代謝異常を呈したことから、高齢期での長期低栄養摂取は、代謝調節関連臓器の機能と臓器間相互作用を介した栄養調節機構へ影響を与える可能性が示された。
2. アストロサイトの糖代謝シグナルは、ミトコンドリアの機能調節に影響を与えることを一つの端緒として、栄養エネルギー代謝調節に影響を与え、糖代謝異常を誘導する可能性が示された。また、当該シグナルは海馬の神経細胞新生に関与し、誘導される変化は、当該欠損マウスで観察される認知機能低下に関連することが示唆された。
3. 認知症の死後脳で観察される糖代謝シグナル主要調節因子の特異的变化は、神経原線維変化の進行ステージで顕著に観察されることから、この特異的变化は、Tau の活性化に関与することが示唆された。
4. 糖代謝シグナル主要調節分子は、全身の栄養代謝調節に関与するだけでなく、認知機能に関連する脳のエネルギー代謝制御と体温調節センサー分子の発現調節に重要な役割を果たすことが示唆された。さらに、その調節機構の破綻が 2 型糖尿病に連動する認知機能障害の発症に関与する可能性が示された (Tanokashira et al. 2021)。近年、認知症患者では、病気発症前から脳のエネルギーの枯渇状態が進み、また体温調節障害が見られることが報告されていることから、今回の研究結果は、ヒトの認知症

前症状および認知症発症時の病態を反映している可能性があり、当該変異マウスは、2型糖尿病を伴う認知機能障害の有用なモデルとなることが考えられる。さらに最近の我々の臨床研究において、精神疾患患者の神経細胞で糖代謝シグナル主要調節分子の特異的変化が観察されたことから、当該シグナル主要調節分子は、現在注目される神経変性疾患と精神疾患の両疾患共通に関与する病態基盤である可能性が考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

論文発表（主任研究者）

1. Takayanagi Y, Ishizuka K, Laursen TM, Yukitake H, Yang K, Cascella NG, Ueda S, Sumitomo A, Narita Z, Horiuchi Y, Niwa M, Taguchi A, White MF, Eaton WW, Mortensen PB, Sakurai T, Sawa A. : From population to neuron: exploring common mediators for metabolic problems and mental illnesses. Mol Psychiatry. 2020. doi: 10.1038/s41380-020-00939-5.
2. Tanokashira D, Wang W, Maruyama M, Kuroiwa C, White MF, Taguchi A. : Irs2 deficiency alters hippocampus-associated behaviors during young adulthood. Biochemical and Biophysical Research Communications 2021. doi:10.1016/j.bbrc.2021.04.101

論文発表（分担研究者）

1. Sugimoto T, Ono R, Kimura A, Sakai T, Saji N, Niida S, Toba K, Sakurai T. : Impact of frailty on activities of daily living, cognitive function, and conversion to dementia in older adults with mild cognitive impairment. J Alzheimers Dis. [IF:3.5] 2020 Aug 04 ; 76(3):895-903 doi:10.3233/JAD-191135.
2. Wang X, Hu X, Zhang L, Xu X, Sakurai T. : Nicotinamide mononucleotide administration after severe hypoglycemia improves neuronal survival and cognitive function in rats Brain Res Bull. 2020 Jul; 160: 98-106, 2020 doi:10.1016/j.brainresbull.2020.04.022
3. Yasuno F, Nakamura A , Kato T , Iwata K, Sakurai T, Arahata Y, Washimi Y, Hattori H, Ito K. : An evaluation of the amyloid cascade model using in vivo positron emission tomographic imaging

Psychogeriatrics 2020 Aug 11 doi:10.1111/psyg.12589.

4. Shigemizu D, Mori T, Akiyama S; Higaki S, Watanabe H, Sakurai T, Niida S, Ozaki K. : Identification of potential blood biomarkers for early diagnosis of Alzheimer' s disease through RNA-sequencing analysis
Alzheimer' s Research & Therapy 2020 Jul 16;12(1):87. doi:10.1186/s13195-020-00654-x

論文発表 (分担研究者)

1. Saji N, Murotani K, Hisada T, Kunihiro T, Tsuduki T, Sugimoto T, Kimura A, Niida S, Toba K, Sakurai T. : The relationship between dementia and metabolites attribute to gut microbiome: a cross-sectional sub-analysis study conducted in Japan.
Sci Rep. 2020 May 18;10(1):8088. doi: 10.1038/s41598-020-65196-6.
2. Kivipelto M, Mangialasche F, Snyder H, Allegri R, Andrieu S, Arai H, Baker L, Brodaty H, Brucki S, Calandri I, Caramelli P, Chen C, Chertkow H, Chew E, Crivelli L, De La Torre R, Espeland M, Feldman H, Du Y, Hartmanis M, Hartmann T, Heffernan M, Hong CH, Jeong JH, Henry CJ, Choi SH, Håkansson K, Jimenez-Maggiora G, Iwatsubo T, Koo EH, Launer LJ, Lehtisalo J, Lopera F, Martínez-Lage P, Martins R, Middleton L, Molinuevo JL, Moon SY, Pérez KM, Nitrini R, Nygaard HB, Park YK, Peltonen M, Qiu C, Quiroz YT, Raman R, Rao N, Sakurai T, Ravindranath V, Rosenberg A, Salinas RM, Scheltens P, Sevlever G, Soininen H, Sosa AL, Suemoto CK, Cuezva TM, Velilla L, Wang Y, Whitmer R, Xu X, Bain LJ, Solomon A, Ngandu T, Carrillo MC. :World-Wide FINGERS Network: A Global Approach to Risk Reduction and Prevention of Dementia
Alzheimers Dement. 2020 Jul 5. doi: 10.1002/alz.12123. Online ahead of print. PMID: 32627328

学会発表 (主任研究者)

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. 脳糖代謝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 サマリーサーチセミナー、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. 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～2020 年 11 月 28 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。認知機能調節におけるグリア糖代謝シグナルの役割。

第 43 回日本分子生物学会、2020 年 12 月 2 日～2020 年 12 月 4 日、神戸市・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。認知機能調節におけるグリア糖代謝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～2020 年 12 月 21 日、金沢市・オンライン開催、日本

5. Daisuke Tanokashira, Wei Wang, Megumi Maruyama, Chiemi Kuroiwa, Takashi Saito, Takaomi C. Saïdo, Akiko Taguchi. Type2 diabetes-induced cognitive deterioration in Alzheimer's disease is associated with modifications of IRS proteins but not with A β accumulation.

Society of Neuroscience Global Connectome, USA, January 11～13, 2021, Virtual Event(On line)

6. Wei Wang, Daisuke Tanokashira, Megumi Maruyama, Chiemi Kuroiwa, Hideaki Kurachi, Takashi Saito, Takaomi C. Saïdo and Akiko Taguchi. Association of hippocampal insulin signaling with worsening cognitive impairment in Alzheimer's disease with type 2 diabetes.

The 98th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, March 28～30 2021, Virtual Event(On line)

学会発表（分担研究者）

1. 櫻井 孝。認知症予防を目指した多因子介入によるランダム化比較試験シンポジウム 7 「認知症研究の最前線」

第 62 回日本老年医学会学術集会（2020 年 8 月 4 日～8 月 6 日・東京（WEB）

学会発表（分担研究者）

1. 佐治直樹。脳卒中関連のガイドラインは高齢者に対応しているか。高齢心房細動患者における抗凝固薬の服用状況：多施設共同観察研究から。

日本老年医学会合同企画。第 45 回日本脳卒中学会学術集会。

2020 年 8 月 23 日。横浜。日本老年医学会合同企画。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし