

令和 5 年 5 月 15 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07296

研究課題名(和文) 核酸薬を用いた肥満・高血糖を伴う認知機能低下に対する治療戦略

研究課題名(英文) Strategy for the treatment of neurodegeneration associated with obesity and hyperglycemia using antimiR

研究代表者

青山 晃治 (Aoyama, Koji)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：00420943

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：認知症の発症には、脳内において酸化ストレスを惹起する肥満および高血糖の病態が関与することが示唆されている。神経細胞に存在するGTRAP3-18は、重要な抗酸化物質であるグルタチオン(GSH)合成や摂食および血糖値を制御するタンパク質であり、脳内においてはmicroRNA(miR-96-5p)による制御を受けている。本研究では、miR-96-5pを抑制する核酸薬であるantimiR-96-5pを肥満・糖尿病モデルマウスに経鼻投与した結果、脳内におけるGSH量増加の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題は、認知症発症の危険因子と考えられる肥満・糖尿病が脳内で引き起こす酸化ストレスを抑制するため、新たな遺伝子治療薬となりうる「microRNA標的核酸分子」を動物実験に応用した研究である。脳内における重要な抗酸化物質であるグルタチオンの産生を促進すると同時に摂食抑制・血糖値低下をもたらすタンパク質を制御しているmicroRNAの働きを抑制する核酸薬antimiRを投与し、肥満・糖尿病を改善すると同時に認知症の発症および病態進行を抑制する新たな治療戦略に基づいた研究である。

研究成果の概要(英文)：Previous studies have proposed a link between obesity, hyperglycemia, oxidative stress in the brain, and the pathogenesis of dementia. In the brain, GTRAP3-18, a protein expressed in neurons, plays a crucial role in regulating the synthesis of the essential antioxidant glutathione (GSH), as well as modulating food intake and blood glucose levels. The expression of GTRAP3-18 in the brain is regulated by microRNA miR-96-5p. This study aimed to investigate the effects of intranasal administration of antimiR-96-5p, a nucleic acid drug designed to inhibit miR-96-5p, in an obesity and diabetes mouse model. Our findings suggest that intranasal administration of antimiR-96-5p may elevate GSH levels in the brains of obesity and diabetes model (ob/ob) mice.

研究分野：神経科学

キーワード：グルタチオン

1. 研究開始当初の背景

我が国においては Alzheimer 病をはじめとする認知症の有病率が年々増加しており、早急な病態解明と治療薬開発が望まれているが、認知症発症後の根治的治療法はない。一方で、認知症発症前の肥満や糖尿病は認知症発症の重要な危険因子である。肥満や糖尿病の長期的な治療は認知症の発症を予防することが期待されるが、現時点において認知症予防効果をもつ肥満・糖尿病治療薬はない。

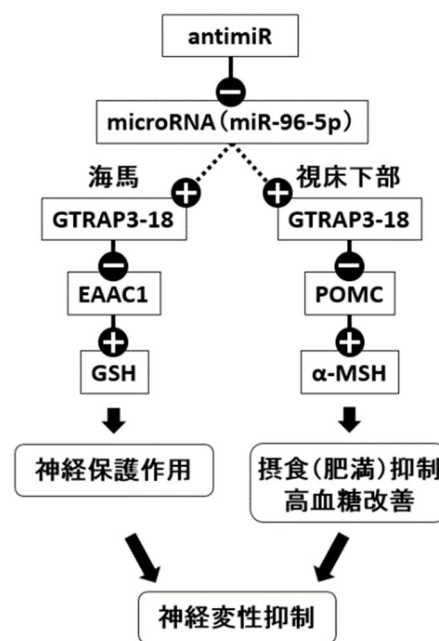
これまでの我々の研究から小胞体蛋白質である GTRAP3-18 の機能が記憶学習ならびに摂食・血糖値制御に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。GTRAP3-18 は、標的となる結合蛋白質の小胞体-ゴルジ輸送を抑制的に制御するアンカー蛋白質であり、GTRAP3-18 の機能抑制は、脳部位で異なる結合蛋白質の機能を促進し神経細胞のシグナル伝達を促進する。

海馬における GTRAP3-18 は、アミノ酸トランスポーターの一つである EAAC1 の働きを制御している。EAAC1 は神経細胞における GSH 産生を促進する。EAAC1 の細胞膜上への発現は GTRAP3-18 により抑制的に制御されており、GTRAP3-18 の機能抑制は EAAC1 の機能を促進し神経細胞内 GSH 産生を促進する。さらに GTRAP3-18 欠損マウスでは、EAAC1 の機能促進による海馬 GSH 量の増加、酸化ストレスに対する抵抗性、および認知機能の促進を認めた。一方で、EAAC1 欠損マウスは脳内 GSH 低下、酸化ストレスに対する脆弱性、脳萎縮と認知機能障害を認めた。GTRAP3-18 の機能抑制は EAAC1 の機能を促進し神経細胞選択的に GSH 産生を高め、神経変性に対し抵抗性をもたらすと考えられる。

また、視床下部における GTRAP3-18 は、摂食抑制ホルモンである α -MSH の前駆ペプチドである proopiomelanocortin (POMC) と直接結合し α -MSH の生成を抑制的に制御する。野生型と比較し、GTRAP3-18 欠損マウスは視床下部および血中における α -MSH 値上昇による摂食量の減少、体脂肪の減少、および血糖値の低下を示し、ブドウ糖負荷試験においても野生型と比較し血糖値上昇が有意に抑制された。これらの結果から、GTRAP3-18 の機能抑制は α -MSH の作用を増強し、摂食抑制による肥満改善と血糖降下作用をもたらすと考えられる。

さらに、我々のこれまでの研究から GTRAP3-18 は microRNA である miR-96-5p により促進的な発現調節を受けていることが示唆された。近年、経鼻投与方法によるペプチドや microRNA の脳内への移行性が確認されており、血液脳関門に影響されない新たな薬物投与方法としての可能性が期待されている。これまで、動物実験で anti miR を経鼻投与し GTRAP3-18 の発現を制御する研究報告はない。

肥満・糖尿病モデルである ob/ob マウスは、表現型として過食、肥満、高血糖、および記憶・学習障害を示す。本研究では、ob/ob マウスを用いて、GTRAP3-18 の発現を anti miR によって制御し、肥満および糖尿病を改善すると同時に神経 GSH 産生を促進させ、酸化ストレスによる神経変性を抑制することで認知機能の低下を抑制できるかどうか課題となる。



2. 研究の目的

本研究では、GTRAP3-18 の発現を制御する microRNA (miR-96-5p) を標的とした antimiR を核酸薬として用いることで、海馬 GSH 増加による抗酸化・神経変性抑制作用と視床下部への作用による抗肥満・高血糖改善作用を肥満・糖尿病モデル ob/ob マウスで確認することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) - マウスへの経鼻反復投与

miR-96-5p antimiR を 3 日毎に野生型および ob/ob マウスへ経鼻投与し、投与開始 15 日後に脳組織を採取した。使用する antimiR はこれまでの我々の実験にて効果が確認されたものを使用した。投与量は、これまでの実験結果を参考にし、全身麻酔下のマウス鼻腔内に投与した。同時に negative control antimiR を用いて同様の処置を行い比較検討した。

(2) - 野生型および ob/ob マウスへ antimiR 核酸薬を 3 日毎に経鼻投与し、摂食量や体重、および血糖値を経時的に測定した。

(2) - 経鼻投与終了後の脳組織を用いて Western Blot 法にて海馬抽出液中の GTRAP3-18 および関連タンパク質発現量を測定した。

4. 研究成果

3 日毎に野生型および ob/ob マウスへ antimiR-96-5p を経鼻投与し、投与開始 15 日後に脳組織を採取した。投与期間中、経時的に摂食量、体重、および血糖値を測定したが、対照マウス（生理食塩水もしくは miRNA inhibitor control 投与）と比較し明らかな変化は確認されなかった。HPLC 法による脳組織を用いた GSH 測定では、ob/ob マウスは野生型マウスと比べて海馬における GSH 量が少ない傾向がみられたが、antimiR-96-5p 投与によって ob/ob マウスでは海馬の GSH 量が増加する傾向が示唆された。また、脳組織の各部位を用いた Western Blot では GSH 合成を制御する GTRAP3-18 などの関連タンパク質発現量の変化が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	角田 ワッタナボン (Sumida Wattanaporn)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関