

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08788

研究課題名(和文) 脈絡叢を介する糖の脳内輸送動態に着目した糖尿病による認知症発症促進機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of promoting dementia caused by diabetes mellitus, focusing on the transport dynamics of glucose through the choroid plexus

研究代表者

上野 正樹 (Ueno, Masaki)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：30322267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：酸化ストレス軽減に関与している尿酸の輸送体であるGLUT9とURAT1が、脈絡叢上皮細胞の各々脳室側と基底側の細胞膜に局在していることを報告した。また、酸化ストレス傷害に密接に関係している鉄の排出輸送体であるフェロポルチンとその脳内輸送に関係しているヘプチジンやヘファエスチンが、アストロサイトのみならず脈絡叢の上皮細胞と上衣細胞に存在していることを報告した。そして、ナトリウムとともにグルコースを輸送するsodium/glucose cotransporter 2 (SGLT2)が脈絡叢上皮細胞と脳室上衣細胞に局在することを新たに見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖や鉄や尿酸が脈絡叢に存在する輸送体を介して脳内に輸送されていることが明らかになった。酸化ストレスや糖化ストレスに密接に関係しているこれらの物質が脈絡叢に局在する輸送体を介して脳室周囲領域に流入してくれば、その領域に影響を及ぼすであろうことは容易に想像できる。以上から、糖尿病患者の認知機能低下に関与していると考えられる脳室周囲領域における組織傷害にこれらの輸送体を介する物質の移動が関係していると考えられ、その輸送体をターゲットにした糖尿病患者の認知機能低下に対する新規治療法に繋がるものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Urate transporters, GLUT9 and URAT1, which are believed to be related with reduction of oxidative stress, were located on apical and basal cytoplasmic membranes of choroid plexus epithelium (Nerosci Lett 2017, 659, 99-103). An efflux transporter of iron which is related to oxidative damage, ferroportin, as well as hepcidin and hephaestin were located in the cytoplasm of choroid plexus epithelium (Neuropathol 2020, 40, 75-83). In addition, sodium/glucose cotransporter 2 (SGLT2), through which glucose is transported based on sodium concentration gradient, was located in the cytoplasm of choroid plexus epithelium (Neuropathol 2020, in press).

研究分野：神経病理学

キーワード：糖輸送体 脈絡叢

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、糖尿病患者が世界的規模で増加し、日本でも医学的・社会的に大きな問題となっている。糖尿病は脳血管障害を進展させて血管性認知症増悪の危険因子となるだけでなく、アルツハイマー病との関係も注目されてきている。久山町の認知症研究では、耐糖能異常群のアルツハイマー病発症率は有意に増加していた。その機序の詳細は不明であるが、糖化反応の亢進による過剰な最終糖化産物 (AGEs) の生成が関与する可能性が指摘されている。糖化反応では酵素の働きなしに糖がタンパク質や脂質に結合し、その中間反応産物は強い反応性を有する。最終的に生成した AGEs がその受容体に結合すると活性酸素種を生み出し、組織を傷害する。果糖はブドウ糖に比べ約 10 倍も糖化反応に使われやすいことが知られており、果糖の過剰摂取が高血圧やメタボリック症候群(引用文献(d))やインスリン抵抗性の増悪に繋がることが報告されている。認知症との関係については疫学的に関連を示唆する報告はあるが、結論は出ていない。我々は、これまで、脈絡叢上皮細胞における果糖輸送体(引用文献(a)(b))や β 輸送体(引用文献(c))の発現に着目してヒト剖検脳とげっ歯類脳を用いた解析を行ってきた。さらに、血中の果糖が GLUT5 や GLUT8 などを通して脳内に入り、脳室周囲組織に影響を及ぼすであろうこと、SGLT2 が脳内で発現している可能性が高い事も新たな知見として得てきている。これらの成果を元に、認知症の病態、中でも、脳室周囲領域の傷害を修飾する要因として、糖化や酸化によるストレスを亢進させるであろう糖や鉄などの物質の脈絡叢上皮細胞を介する輸送動態の変化に着目するに至った。

2. 研究の目的

果糖の過剰摂取や糖尿病が認知症を増悪させる可能性が指摘されているが、その病態機序は明らかではない。従来より、ブドウ糖はその代表的な輸送体である GLUT1 により脳内血管内皮細胞から脳内に入りうる事、また、GLUT1 は脈絡叢上皮細胞の基底側の細胞膜にも存在することが知られていたが、我々は、さらに、果糖が直接脳内に入りうる事、果糖の輸送体である GLUT5, GLUT8 が脈絡叢に存在する可能性を新規に見出してきた(引用文献(a)(b)(c)(d)(e))。これらの知見から、“糖などの過剰になると神経細胞に傷害を与えるであろう物質の脈絡叢上皮細胞を介する輸送により、海馬を含む脳室周囲組織に傷害を与え、認知症増悪に寄与する”との仮説を立てた。本研究では、脈絡叢における種々の糖の輸送体の局在と機能を解明し、糖の過剰摂取が脈絡叢における糖輸送動態、脳室周囲領域の組織傷害、個体の認知機能に与える影響を明らかにすることにより、この仮説を検証する。これにより、認知症増悪の生物学的な根拠の提示が可能となる。

3. 研究の方法

過剰になると細胞傷害をもたらす糖や鉄などの物質の輸送体の脈絡叢上皮細胞における局在については未だ解明されていないので、我々は、まず、ヒト剖検脳とマウス脳を用いて、糖や鉄などの物質の局在を共焦点レーザー顕微鏡などを用いて免疫組織学的に検討した。さらに、特定の物質については、mRNA の発現ならびにウエスタンブロットにての検討を追加した。また、培養神経細胞やグリア細胞に糖を添加し、培養細胞の形態学的変化を含む種々の物質濃度の変化を指標に、その影響を評価した。

4. 研究成果

我々は、強い糖化ストレスを引き起こしうる果糖の輸送体である glucose transporter 5 (GLUT5)と GLUT8 がグリア系細胞のみならず脈絡叢の上皮細胞と上皮細胞に存在するこ

とは既に報告していた(引用文献(a)(b))が、酸化ストレスを軽減している可能性が指摘されている尿酸の輸送体である GLUT9 と URAT1 が、脈絡叢上皮細胞の各々脳室側と基底側の細胞膜に局在していることを報告し(*Neurosci Lett* 2017, 引用論文(f))、脈絡叢上皮細胞を介する尿酸輸送が酸化ストレス対応機序の一つである可能性を指摘した。そして、酸化ストレス傷害に密接に関係している鉄の排出輸送体である ferroportin だけでなく、その脳内輸送に関係している hepcidin や hephaestin もアストロサイトのみならず脈絡叢の上皮細胞と上皮細胞にも存在していることを報告し(*Neuropathology*, 2020. 40, 75-83, 引用論文(o))、酸化ストレスを引き起こしうる過剰な鉄の脈絡叢上皮細胞を介する脳内移行に基づく脳室周囲領域の細胞傷害の機序の一つを指摘した。さらに、エネルギーとして最も重要なグルコースの輸送体に関しては、その濃度勾配によってグルコースを輸送する GLUT1 が脳内血管内皮細胞やアストロサイトのみならず脈絡叢上皮細胞の基底膜側にも局在することは知られていた(*Int J Mol Sci* 2019, 引用論文(m))が、ナトリウムの濃度勾配とともにグルコースを輸送する sodium/glucose cotransporter 2 (SGLT2)/SLC5A2 が脈絡叢上皮細胞と脳室上皮細胞に局在することを新たに見出した(*Neuropathology*, 2020, in press, 引用論文(p))。その半定量的解析からは、脈絡叢上皮細胞における SGLT2 の mRNA 並びに蛋白の発現量は腎尿細管に比してかなり少ないものと推測された。このように、脳室周囲領域は血管内の様々な酸化ストレスおよび糖化ストレス物質にさらされており、それらの物質が血管内で過剰になれば脈絡叢上皮細胞を介して脳室周囲に移行し、脳室周囲白質傷害を引き起こしうる可能性が推測される。それ故、糖尿病の治療薬として近年汎用されだしている SGLT2 阻害薬の投与によって、その輸送体が存在する脳室周囲領域において過剰な糖化による神経細胞傷害を軽減できる、言い換えれば、認知症増悪に関与する脳室周囲白質傷害を軽減できる、可能性を示しているため、この SGLT2 が脈絡叢上皮細胞と脳室上皮細胞に局在することは、認知症の新規治療法開発の点からも極めて重要な知見である。一方、SGLT2 阻害により脳内グルコース濃度を低下させる可能性も考えられ、その阻害薬の脳内神経細胞に対する正確な作用の解明が急務である。一方、*in vitro* 実験では、新たな所見は得られていない。また、神経細胞に傷害を与える因子の解明を目指して、低酸素虚血、老化、特定の遺伝子変異の神経細胞に対する影響について検討を行い、その結果を報告した(引用論文(g)(h)(i)(j)(k)(l)(m)(n))。

(引用文献)

- (a) Ueno M, Nishi N, Nakagawa T, Chiba Y, Tsukamoto I, Kusaka T, Miki T, Sakamoto H, Yamaguchi F, Tokuda M. Immunoreactivity of glucose transporter 5 is located in epithelial cells of the choroid plexus and ependymal cells. *Neuroscience* 2014; 260: 149-157.
- (b) Murakami R, Chiba Y, Tsuboi K, Matsumoto K, Kawauchi M, Fujihara R, Mashima M, Kanenishi K, Yamamoto T, Ueno M. Immunoreactivity of glucose transporter 8 is localized in the epithelial cells of the choroid plexus and in ependymal cells. *Histochem Cell Biol* 2016; 146: 231-236.
- (c) Matsumoto K, Chiba Y, Fujihara R, Kubo H, Sakamoto H, Ueno M. Immunohistochemical analysis of transporters related to clearance of amyloid- β peptides through blood-cerebrospinal fluid barrier in human brain. *Histochem Cell Biol* 2015; 144: 597-611.
- (d) Ueno M, Chiba Y, Matsumoto K, Murakami R, Kawauchi M, Fujihara R, Miyanaka H, Nakagawa T. Blood-brain barrier damage in vascular dementia. *Neuropathol* 2016; 36: 115-124.

- (e) Ueno M, Chiba Y, Murakami R, Matsumoto K, Kawauchi M, Fujihara R. Blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier in normal and pathological conditions. *Brain Tumor Pathol* 2016; 33: 89-96.
- (f) Naoya Uemura, Ryuta Murakami, Yoichi Chiba, Ken Yanase, Ryuji Fujihara, Masato Mashima, Koichi Matsumoto, Machi Kawauchi, Gotaro Shirakami, Masaki Ueno. Immunoreactivity of urate transporters, GLUT9 and URAT1, is located in epithelial cells of the choroid plexus of human brains. *Neuroscience Letters* 659 (2017) 99-103.
- (g) Ichiro Akiguchi, Mercè Pallàs, Herbert Budka, Haruhiko Akiyama, Masaki Ueno, Jingxian Han, Hideo Yagi, Tomohumi Nishikawa, Yoichi Chiba, Hiroshi Sugiyama, Ryoya Takahashi, Keiko Unno, Keiichi Higuchi, Masanori Hosokawa. SAMP8 mice as a neuropathological model of accelerated brain aging and dementia: Toshio Takeda's legacy and future directions. *Neuropathology* 37 (2017) 293 – 305.
- (h) Wataru Jinnai, Shinji Nakamura, Kosuke Koyano, Satoshi Yamato, Takayuki Wakabayashi, Yinmon Htun, Yasuhiro Nakao, Takashi Iwase, Makoto Nakamura, Saneyuki Yasuda, Masaki Ueno, Takanori Miki, Takashi Kusaka. Relationship between prolonged neural suppression and cerebral hemodynamic dysfunction during hypothermia in asphyxiated piglets. *Brain & Development* 40 (2018) 649-661.
- (i) Ryuji Fujihara, Yoichi Chiba, Toshitaka Nakagawa, Ryuta Murakami, Koichi Matsumoto, Machi Kawauchi, Takayuki Fujii, Ryuichi Shimono, Tetsuji Yamamoto, Masaki Ueno. Histomorphometry of ectopic mineralization using undecalcified frozen bone sections. *Microscopy Research and Technique* 81 (2018) 1318 – 1324.
- (j) Htun Y, Nakamura S, Nakao Y, Mitsue T, Nakamura M, Yamato S, Jinnai W, Koyano K, Ohta K, Morimoto A, Wakabayashi T, Sugino M, Fujioka K, Kato I, Kondo S, Yasuda S, Miki T, Ueno M, Kusaka T. Hydrogen ventilation combined with mild hypothermia improves short-term neurological outcomes in a 5-day neonatal hypoxia-ischaemia piglet model. *Scientific Reports* (2019) 9-4088. Doi: 10.1038/s41598-019-40674-8.
- (k) Yasuhiro Ishihara, Kouichi Itoh, Ami Oguro, Yoichi Chiba, Masaki Ueno, Mayumi Tsuji, Christoph F.A. Vogel, Takeshi Yamazaki. Neuroprotective activation of astrocytes by methylmercury exposure in the inferior colliculus. *Scientific Reports* (2019) 9:13899. Doi: 10.1038/s41598-019-50377-9.
- (l) Shishido H, Ueno M, Sato K, Matsumura M, Toyota Y, Kirino Y, Tamiya T, Kawai N, Kishimoto Y. Traumatic Brain Injury by Weight-Drop Method Causes Transient Amyloid- β Deposition and Acute Cognitive Deficits in Mice., *Behavioural Neurology* (2019) 2019:3248519. Doi: 10.1155/2019/3248519.
- (m) Masaki Ueno, Yoichi Chiba, Ryuta Murakami, Koichi Matsumoto, Ryuji Fujihara, Naoya Uemura, Ken Yanase, Masaki Kamada. Disturbance of intracerebral fluid clearance and blood-brain barrier in vascular cognitive impairment. *International Journal of Molecular Sciences* (2019) 20, 2600; doi: 10.3390/ijms20102600.
- (n) Yuki Nakano, Kazuyuki Hirooka, Yoichi Chiba, Masaki Ueno, Daiki Ojima, Md Razib Hossain, Hiroo Takahashi, Tohru Yamamoto, Yoshiaki Kiuchi. Retinal ganglion cell loss in kinesin-1 cargo Alcadein a deficient mice. *Cell Death & Disease* (2020) 11:166. Doi: 10.1038/s41419-020-2363-x.
- (o) Ken Yanase, Naoya Uemura, Yoichi Chiba, Ryuta Murakami, Ryuji Fujihara, Koichi Matsumoto,

Gotaro Shirakami, Nobukazu Araki, Masaki Ueno. Immunoreactivities for hepcidin, ferroportin, and hephaestin in astrocytes and choroid plexus epithelium of human brains. *Neuropathology* 2020,40, 75-83.

(p) Yoichi Chiba, Yasunori Sugiyama, Nozomu Nishi, Wakako Nonaka, Ryuta Murakami, Masaki Ueno. Sodium/glucose cotransporter 2 is expressed in choroid plexus epithelial cells and ependymal cells in human and mouse brains. *Neuropathology* (2020) in press, doi:10.1111/neup.12665

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fujihara Ryuji, Chiba Yoichi, Nakagawa Toshitaka, Murakami Ryuta, Matsumoto Koichi, Kawauchi Machi, Fujii Takayuki, Shimono Ryuichi, Yamamoto Tetsuji, Ueno Masaki	4. 巻 81
2. 論文標題 Histomorphometry of ectopic mineralization using undecalcified frozen bone sections	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microscopy Research and Technique	6. 最初と最後の頁 1318 ~ 1324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jemt.23140	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mashima Masato, Chiba Yoichi, Murakami Ryuta, Uemura Naoya, Matsumoto Koichi, Kawauchi Machi, Kanenishi Kenji, Hata Toshiyuki, Ueno Masaki	4. 巻 636
2. 論文標題 Glucose transporter 8 immunoreactivity in astrocytic and microglial cells in subependymal areas of human brains	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 90 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2016.11.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uemura Naoya, Murakami Ryuta, Chiba Yoichi, Yanase Ken, Fujihara Ryuji, Mashima Masato, Matsumoto Koichi, Kawauchi Machi, Shirakami Gotaro, Ueno Masaki	4. 巻 659
2. 論文標題 Immunoreactivity of urate transporters, GLUT9 and URAT1, is located in epithelial cells of the choroid plexus of human brains	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 99 ~ 103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2017.09.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ueno Masaki, Chiba Yoichi, Murakami Ryuta, Matsumoto Koichi, Fujihara Ryuji, Uemura Naoya, Yanase Ken, Kamada Masaki	4. 巻 20
2. 論文標題 Disturbance of Intracerebral Fluid Clearance and Blood?Brain Barrier in Vascular Cognitive Impairment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2600 ~ 2600
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20102600	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yanase Ken, Uemura Naoya, Chiba Yoichi, Murakami Ryuta, Fujihara Ryuji, Matsumoto Koichi, Shirakami Gotaro, Araki Nobukazu, Ueno Masaki	4. 巻 40
2. 論文標題 Immunoreactivities for hepcidin, ferroportin, and hephaestin in astrocytes and choroid plexus epithelium of human brains	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 75 ~ 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12611	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chiba Yoichi, Sugiyama Yasunori, Nishi Nozomu, Nonaka Wakako, Murakami Ryuta, Ueno Masaki	4. 巻 -
2. 論文標題 Sodium/glucose cotransporter 2 is expressed in choroid plexus epithelial cells and ependymal cells in human and mouse brains	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12665	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 上野正樹
2. 発表標題 血液脳関門障害の機序解明から血管性認知症の治療と予防に向けて
3. 学会等名 第3回日本脳神経外科認知症学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上野正樹
2. 発表標題 血液脳関門障害の機序解明から血管性認知症の治療と予防に向けて
3. 学会等名 第3回日本脳神経外科認知症学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 千葉陽一
2. 発表標題 老化と認知症の神経病理：ヒトとSAMマウスの接点を考える
3. 学会等名 第34回老化促進モデルマウス (SAM) 学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoichi Chiba, Koichi Matsumoto, Murakami Ryuta, Uemura Naoya, Mashima Masato, Yanase Ken, Fujihara Ryuji, Kawauchi Machi, Ueno Masaki
2. 発表標題 Expression of transporters of glucose and fructose in epithelial cells of the choroid plexus and ependymal cells of human and mouse brains
3. 学会等名 19th International Congress of Neuropathology (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔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
研究分担者	千葉 陽一 (Chiba Yoichi) (30372113)	香川大学・医学部・講師 (16201)	