

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06466

研究課題名(和文)新規1型糖尿病モデルを用いたアルツハイマー病態誘導メカニズムの解明

研究課題名(英文)Pathogenesis of Alzheimer's disease caused by type 1 diabetes

研究代表者

徳永 暁憲 (Tokunaga, Akinori)

福井大学・ライフサイエンス支援センター・准教授

研究者番号：70549451

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)：認知症のリスク要因となる糖尿病とアルツハイマー病(AD)の両疾患で生じる脳内環境変化を精査し、海馬・前頭葉部位での機能的タンパク質のシグナル修飾変化と認知機能との相関性を検討した。1型糖尿病モデルであるSTZマウスとADモデルマウスを用いた解析から、行動学的試験で認知機能の低下が認められる時期に先行してAKT、GSK3 など共通するシグナル変化が観察された。更にAD病変の構成要因であるTau蛋白質の異常リン酸化がSTZマウス脳で強く認められ、病因は異なるがインスリン欠乏性の1型糖尿病においても高血糖状態に伴う障害によりAD脳と相関するシグナル異常が引き起こされることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化の進展に伴い認知症患者の更なる増加が見込まれており、その対策は喫緊の課題となっている。アルツハイマー病と糖尿病には、脳での病態進行において共通する分子基盤があることが明らかにされつつある。これまでにAD患者の死後脳解析からも糖代謝に関わるインスリンシグナルの質的变化が観察されている。今回1型糖尿病モデルにおいても同様のシグナル変化が確認され、血中インスリン量に依存しないシグナル誘導経路の存在が示唆された。今後の研究発展によりAD発症に関わる分子基盤の解明や新たな治療法の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：There is an increasing awareness that diabetes has an effect on the CNS and that diabetes is a risk factor for AD. We performed the analysis of post translational protein modifications in the hippocampus and frontal cortex of AD and type 1diabetes model mice, and also examined their correlation with cognitive function.

Phosphorylation of AKT, GSK3 were similarly affected in AD and insulin-deficient STZ mice, despite significantly different blood glucose and plasma insulin levels. Then, we observed common signaling changes prior to the onset of cognitive decline. Furthermore, abnormally phosphorylated tau was observed in the brains of STZ mouse. Although type 1diabetes and AD have different primary etiologies, both diseases share some abnormalities in the brain. Our data point to deficits in common signaling pathway in both neurodegenerative diseases and support the idea that hyperglycemia may cause brain disorders, associated to AD.

研究分野：神経科学

キーワード：アルツハイマー病 糖尿病 インスリンシグナル

1. 研究開始当初の背景

認知症の主要疾患であるアルツハイマー病 (AD) は、神経変性や脳萎縮を伴う不可逆的な疾患であり、病態進行後に認知機能を回復させることは非常に困難である。AD の病理学的知見から、アミロイド (A β) および Tau 蛋白質の動態変化・異常蓄積がその特徴的な病変の構成要因であることが突き止められ、これまでに A β 凝集阻害活性を持つ特異的 A β 抗体を用いた治験などが進められてきたが、認知機能の改善を伴う臨床結果を得るに至っていない。

AD の発症機序が未だ不明である要因として、基礎研究を推進する上で必須となる疾患モデルが不十分であったことが挙げられる。従来 AD モデルはヒト変異型 A β や Tau の過剰発現トランスジェニックマウスに限られており最終的な病変こそ再現出来るものの、その発症過程は反映し難い疾患モデルであった。近年の発生工学技術の進展により、これらの問題点を解消したヒト APP 点変異 knock-in マウスが西道博士 (理研) および斉藤博士 (名市大) により作成され、現在は内在性 APP の発現様式に従って A β の蓄積を生じる次世代型 AD モデルとして広く利用されている。

神経変性や脳萎縮が進行する AD において、回復の見込まれる早期を対象とした病態発症過程での作用機序の解明が求められる。AD 発症に関する知見が乏しい中、近年の疫学調査からインスリン抵抗性および高血糖症を主徴とする 2 型糖尿病が AD のリスク要因となることが明らかとなっている。実際にヒト AD 患者の死後脳解析からも糖代謝調節を担うインスリンシグナルの破綻が観察されており、加えて、げっ歯類モデルの研究から、糖尿病が慢性炎症、酸化ストレスなどの末梢組織の機能障害だけでなく、認知機能障害を呈することが報告されている。

これは認知機能が脳内環境変化だけでなく、糖尿病に代表される代謝障害の蓄積を受けて体系的に制御されることを示唆する。

2. 研究の目的

糖代謝異常がどのように認知機能障害の誘導に関わっているのか詳細なメカニズムは不明である。本研究では、糖尿病を付加した増悪化 AD モデルマウスの解析を通じて、A β 、Tau 以外の発症早期で生じる脳内環境変化を精査し、認知機能障害に繋がるその分子基盤の解明、早期診断を可能とする新たな指標の確立を目指す。

糖尿病による認知機能障害の誘導機序には AD 発症に繋がる分子基盤の一端が内包されている可能性が予想されるため、ストレプトゾトシン (STZ) 投与による 1 型糖尿病モデルマウスを用いて、糖尿病および AD の両疾患で生じる海馬や前頭葉部位での機能的タンパク質のシグナル修飾変化と認知機能との相関性を検討する。また西道、斉藤両博士より供与を受けた次世代型 AD モデルマウスを用いて、AD 発症を誘導する環境要因の探索を行う。特に認知機能に関与することが知られるインスリンシグナルの変化と、脳内環境および認知機能へ与える影響を精査することで、AD 発症のメカニズムの理解に繋げる。

3. 研究の方法

2 型糖尿病だけでなく、1 型糖尿病でも認知機能障害を示すことが報告されているが、血中および脳内インスリン量と AD との関係性は不明な点が多い。本研究では 1 型糖尿病および AD モデルマウスを用いた解析から、脳インスリンシグナル変化と認知機能障害との関係性に着目して解析を行う。

インスリン産生 β 細胞への強い毒性を示す STZ の腹腔内投与 (150mg/kg) によりインスリン欠乏性 1 型糖尿病マウス (STZ マウス) を作製する。また糖尿病マウスで、AD 脳と共通するシグナル異常が観察されることから、AD の発症誘導過程を評価する上で糖尿病付加による AD 病態促進モデルを作成して、以下の手法により検証する。

< 解析手法 >

- (1) 体重、血糖値、インスリン応答性等の代謝変化について解析する。
- (2) 疾患モデルマウスの脳内で生じる遺伝子発現およびタンパク質の活性状態の変化を生化学的解析により精査する。
- (3) ニューロン、アストロサイト、ミクログリア、免疫細胞、血管などの各種細胞マーカーを用いて、神経変性、炎症について免疫組織学的に解析する。
- (4) 記憶・学習機能に直接的に関与する海馬でのニューロン新生および細胞分化の状態を増殖マーカー等を用いて免疫組織学的に解析する。
- (5) 情動および認知機能について、バッテリー行動試験 (Open field、T 字水迷路、Y 字迷路、高架式十字迷路等) により評価する。

4. 研究成果

(1) 1型糖尿病マウスでの認知機能解析

STZを用いた膵細胞の化学的傷害により1型糖尿病を誘発した。8週齢マウスにSTZを腹腔投与すると1週間後には400mg/dl以上の高血糖値を示し、その後も高血糖症が維持される。野生型マウスの体重が週齢と共に増加するのに対し、STZマウスの体重増加は抑えられる。また本条件では体重減少までは認めなかった。

オープンフィールド試験では、野生型マウスとSTZマウスとの間で、総移動距離、移動速度、平均不動期間および平均時間に有意差は認められず、STZマウスは基本的な運動活性を保持していた。

次に1型糖尿病での不安行動を評価するため高架式十字迷路を行なった。STZマウスは、対照マウスよりも低い移動距離を示し、オープンアームへの侵入時間の割合ならびに侵入回数が有意に低減していた。これらの結果から、STZ誘発1型糖尿病マウスが不安行動を増進させていることを示した。

STZマウスの認知機能を評価するために、海馬依存性学習能を評価するT字水迷路試験を実施した。その結果、STZマウスは、正答率および到達時間で低いスコアを示し、STZ誘発1型糖尿病が海馬依存性認知機能障害を示すことを明らかとした。

(2) 1型糖尿病脳とAD脳で共通するシグナル変化の解析

STZマウス脳とアルツハイマーモデルマウス脳で共通する分子シグナル変化として、AKT、GSK3のリン酸化亢進が観察された。STZマウスは、膵細胞が障害されることによる1型糖尿病モデルであるが、興味深いことにリガンドであるインスリン欠乏下においてインスリン受容体の活性を介さず、AKT等の下流因子のリン酸化のみが亢進していることが明らかとなった。またSTZマウスでは糖尿病誘発後、1ヶ月程の短期間で顕著なシグナル亢進が海馬および前頭葉部位で観察される。認知機能の低下が認められる時期よりも早期段階で、脳内シグナル異常として検出されることから、脳内変容の誘導過程での関与が示唆される。また一方で、脳以外の末梢組織ではAKTのリン酸化亢進は認められず、脳特異的な反応であった。

更にAD病変の構成要因であるTau蛋白質の動態変化に関して解析した結果、STZマウス脳ではGSK3のリン酸化亢進に伴うTauの異常リン酸化も認められた。

AMPA受容体は、記憶・学習機能に関わるイオンチャンネル型グルタミン酸受容体の一つであるが、STZマウスにおいてGluA1のリン酸化亢進が確認され、ニューロン新生の低下、ミクログリアの活性化なども連動して確認された。

ADマウスとの相違点として、ADマウスではA β 凝集像や炎症に関わるシグナル上昇が確認されるが、STZマウスでは炎症シグナル経路に有意な変化を認めず、また糖尿病を付加したSTZ-ADマウスでのA β 凝集像、炎症シグナルに関する相乗的な影響は確認できなかった。しかし、行動学的試験では、糖尿病を付加したSTZ-ADマウスで認知機能障害の増悪化が見られており、STZマウスではA β 凝集と異なる経路によって脳機能障害が誘導されることが考えられた。

インスリン欠乏下において、高インスリン血症を呈する2型糖尿病モデルマウスと同じく、AKT、GSK3などのインスリン下流シグナルの亢進が観察されたことから、血中インスリン量に依存しないシグナル誘導経路の存在が示唆された。またSTZマウス脳でのAKT、GSK3のリン酸化亢進が、インスリン投与による高血糖症の緩和によって一過性に低減されたことから、高血糖症が脳内のシグナル異常を引き起こす一因となることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 徳永暁憲、多田敬典、西道隆臣、斉藤貴志
2. 発表標題 糖尿病に伴う脳インスリンシグナルの変容と認知機能障害との相関
3. 学会等名 第67回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tada H, Yasuda K, Nakashima A, Suzuki K, Tokunaga A, Akagi K.
2. 発表標題 Paramylon, a -1,3-Glucan from Euglena gracilis, extends lifespan and diminishes age-related neuromuscular decline.
3. 学会等名 第43回日本基礎老化学会
4. 発表年 2020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	多田 敬典 (TADA Hirofumi) (20464993)	至学館大学・健康科学部・教授 (33909)	

	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	田口 明子 (TAGUCHI Akiko)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・統合神経科学 研究部・部長 (83903)	

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
---------	---------