

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：22604

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K21593

研究課題名(和文) 加齢に伴う記憶力の低下における脳神経細胞での糖代謝の役割

研究課題名(英文) Age-related memory impairment and glucose metabolism in the brain

## 研究代表者

飯島 香奈絵(安藤香奈絵)(Ando, Kanae)

東京都立大学・理学研究科・准教授

研究者番号：40632500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：脳の高次機能は加齢により低下するが、そのメカニズムはよくわかっていない。加齢に伴い栄養代謝は変化する。本課題では、脳神経細胞での代謝変化の老化との関連を、ショウジョウバエを用いて調べた。すると、加齢に伴い脳神経細胞で細胞内エネルギーATPが減少することがわかった。神経細胞への糖取り込みを遺伝学的に増加させるとATP減少は抑制でき、これらの個体では脳機能が維持され、寿命が延伸していた。神経細胞での糖取り込み促進とカロリー制限を組み合わせると、さらなる寿命の延伸が起きた。これらより、脳での糖代謝促進によって、健康寿命が延伸できる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

本研究から、老化した神経細胞でATPが低下することが加齢に伴う身体機能低下に関わることが示唆された。神経細胞のみでグルコース取り込みを促進すると、神経細胞内ATPを維持し、身体機能低下を抑制することができた。また食餌制限との組み合わせにより、さらに寿命を延伸したことから、神経細胞の糖代謝促進は、摂取カロリーなどライフスタイルの改善と相乗的に抗老化効果を発揮する可能性がある。今後ヒトへの応用を考えたとき、神経細胞特異的にグルコース取り込みを促進する戦略の開発が課題となる。神経細胞に特異的なグルコーストランスポーターの制御機構を標的とするなど、その戦略を検討することで、抗脳老化創薬に結びつけたい。

研究成果の概要(英文)：Brain neurons play a central role in organismal aging, but there is conflicting evidence about the roles of neuronal glucose availability, glucose uptake and metabolism in aging and extended lifespan. We analyzed metabolic changes in the brain neurons of *Drosophila* during aging. Using a genetically-encoded fluorescent ATP biosensor, we found decreased ATP concentration in the neuronal somata of aged flies. The age-associated reduction in ATP concentration did not occur in brain neurons with suppressed glycolysis or enhanced glucose uptake, suggesting these pathways contribute to reductions in ATP. Increasing glucose uptake maintained ATP levels, suppressed age-dependent locomotor deficits and extended the life span. Increasing neuronal glucose uptake during dietary restriction resulted in the longest lifespans, suggesting an additive effect of enhancing glucose availability during a bioenergetic challenge on aging.

研究分野：神経科学

キーワード：老化 糖代謝 脳 グルコーストランスポーター ショウジョウバエ カロリー制限 神経変性疾患

## 1. 研究開始当初の背景

加齢に伴って脳機能は低下し、認知症などの原因となる神経変性疾患のリスクも増加する。幸せな高齢化社会の実現のため、また医療や介護等社会保障の上でも、高齢者の脳高次機能の維持は我が国の喫緊の課題である。学習など脳高次機能の分子メカニズムや、加齢に伴って見られる脳の変化は明らかになりつつある。しかし、加齢に伴う変化のうち、何が脳機能低下の引き金となるのかは不明である。脳老化に関わる経路が同定できれば、それに基づいた脳老化の遅延戦略の開発が可能になる。

近年の研究から、エネルギー代謝と ATP 産生の変化が老化に大きく関わるということが指摘されている。食餌制限により、体内を循環する糖、インスリンや成長因子の量が減少すると、寿命が延びるだけでなく、活動量など身体機能の加齢による低下も緩やかになる (Gillespie et al., 2016)。一方脳では、加齢により糖代謝が減少し (Goyal et al., 2017)、またインスリン経路の阻害は学習・記憶を阻害する (Naganos et al., 2012)。神経細胞はその活動に多くの ATP を必要とし、さらに細胞体、軸索、シナプス、樹状突起などのそれぞれの細胞内区域で、ATP の需要に見合う供給が必要となる。安藤らは、加齢による ATP 量の変化を、神経細胞内区域レベルで解析してきた。その結果、ATP 量が加齢に伴って細胞体で減少することを見出した (Oka et al., 2001)。この変化を抑制することで、加齢に伴う脳機能低下を予防または遅延できると考えられる。

## 2. 研究の目的

個体の老化と脳の糖代謝変化の因果関係を明らかにすることを目的とした。さらに、脳内 ATP 量を維持する方法を同定し、それにより脳老化が抑制できるかを調べた。

## 3. 研究の方法

加齢と記憶の研究に多く用いられてきたショウジョウバエを用いた。通常の個体と、申請者が見出した加齢による ATP 減少を起さない個体 (グルコーストランスポーター過剰発現) について、老化と代謝変化を比較した。またアンチエイジングとして注目されるカロリー制限についても、脳神経細胞の糖代謝との関連と、認知機能への影響を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 加齢に伴い脳神経細胞の ATP が減少した。

加齢に伴い、脳神経細胞内の ATP 産生機構はどのように変化するかを調べた。脳神経細胞の ATP は主にグルコースから作られる。そこで、脳のグルコース量、グルコーストランスポーターの発現量、解糖系酵素の発現量を調べた。

まず、グルコースの量を測定したところ、頭部破碎液中のグルコース濃度は加齢によって低下していた。また、脳神経細胞にグルコースを取り込むグルコーストランスポーター *dGlut1* の発現量も低下していた。これらより、脳神経細胞が利用可能なグルコースが減少していることが示唆された。次に解糖系の律速となる酵素、解糖系の律速酵素である *glucose-6-phosphate isomerase (Pgi)*, *phosphofructokinase (Pfk)*, and *pyruvate kinase (Pyk)* の頭部での発現量を定量的 PCR により調べると、これらも加齢により減少していた。

さらに神経細胞内のミトコンドリアを電子顕微鏡により解析した。細胞体におけるミトコンドリアの数は、加齢によって減少しなかったが、クリステ構造が異常なミトコンドリアの割合は加齢によって増加していた。

### (2) 神経細胞のグルコース取り込みを促進すると、老齢個体でも脳神経細胞の ATP 量が維持された。

次に、これらの変化のどれが ATP 量の減少に決定的な役割を果たすのかを調べた。解糖系の律速酵素のひとつ *Pfk* を神経細胞でノックダウンした個体の脳神経細胞では、若年時から ATP 量は少なくなるが、加齢によってそれ以上減少することはなかった。これより、解糖系の低下が、加齢による ATP の低下に関わっていることが示唆された。

また、老齢個体で神経細胞へのグルコースの取り込みの低下が示唆されたことから、グルコーストランスポーターの過剰発現によりグルコース取り込みを増加させ、その ATP 量に与える効果を調べた。グルコーストランスポーターを神経細胞に過剰発現したショウジョウバエの脳神

経細胞では、加齢しても ATP が減少しなかった。また、加齢による ATP 量の減少が抑えられただけでなく、解糖系酵素の発現の減少も抑制されていた。

先の段落で述べたように、加齢した神経細胞では、機能不全とみられる形態が異常なミトコンドリアの割合が若齢時より増加していた。しかし、グルコーストランスポーターを過剰発現させた脳神経細胞では、ATP 量の減少が抑制されるにも関わらず、異常なミトコンドリアの割合は変化しなかった。この結果から、老齢の脳神経細胞では、これらのミトコンドリアのダメージがあっても、グルコースの取り込みを増加させれば、ATP 量を維持できることがわかった。

(3) 神経細胞でグルコース取り込みを促進すると、老化による機能低下が抑制され、寿命が延伸した。

脳神経細胞での ATP の減少を抑制することで、個体の老化に伴う変化を緩和できるかを調べた。加齢に伴って、運動能力は低下する。しかし神経細胞に Glut を発現させたショウジョウバエでは、加齢による運動能力の低下が抑制されていた。また、個体の寿命も伸びていることがわかった。

これらより、加齢によって神経細胞で ATP が減少することが、個体の機能低下の原因となることが示唆された。さらに、神経細胞の糖取り込みを増加させることで、個体の老化を緩和することができることが示された。

(4) 神経細胞でのグルコース取り込み促進に、カロリー制限を組み合わせると、さらに寿命が延伸した。

食餌中のカロリーを減少させると、寿命が伸びることが知られている (Redman et al., 2018)。そこで、神経細胞でのグルコース取り込み促進とカロリー制限の組み合わせで、さらに寿命が伸びるかを調べた。すると、グルコーストランスポーターを神経細胞に発現させた個体群と対照群の寿命の差は、カロリー制限下ではさらに大きくなることがわかった (図 1)。

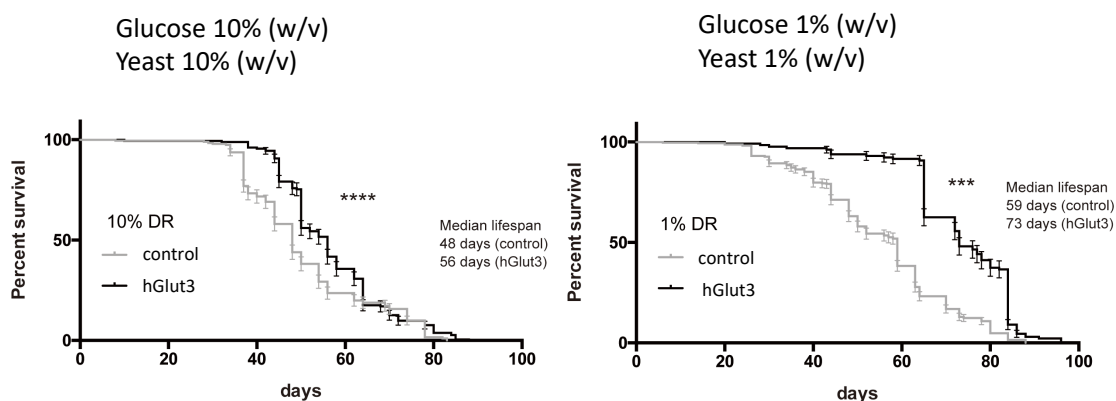


図 1. 食餌制限と神経細胞特異的なグルコース取り込みの促進を組み合わせることで効果的に寿命が延びる。グルコーストランスポーター発現個体 (黒) とコントロール個体 (灰色) の生存曲線。(左) グルコースと酵母がそれぞれ 10% の餌 (右) グルコースと酵母がそれぞれ 1% の餌。

(5) パブプロフ型条件付けによる記憶・学習解析

本研究では、神経細胞でのグルコース取り込み促進が、加齢による記憶低下に与える影響を調べる予定であった。パブプロフ型条件付けによる記憶・学習解析では、加齢に伴い特定の種類の記憶 (中期記憶) の形成能が低下することが報告されており (Tamura et al., 2003)。神経細胞での糖取り込みがこれを改善するかを調べることを計画していた。しかし、ショウジョウバエのパブプロフ型条件付けが技術的に難しく、安定して加齢に伴う記憶低下を検出することができなかつたため、断念した。

(6) アルツハイマー病モデル (タウ毒性) ショウジョウバエの神経変性に対するグルコース取り込み促進の効果

加齢に伴い、神経変性疾患のリスクは増加する。疾患への神経細胞の脆弱性に神経細胞糖取り込み促進が影響するかを探るため、アルツハイマー病で蓄積するタウを発現させたショウジョウバエの神経変性に対する効果を調べた。グルコーストランスポーターの共発現により、タウによる神経細胞死は緩和された。興味深いことに、グルコーストランスポーター発現の効果は、神経

細胞での発現よりむしろグリアでの発現で大きかった（論文投稿準備中）。今後、グリアの代謝変化の脳老化における役割についても調べていきたい。

References:

Gillespie, Z.E., Pickering, J., and Eskiw, C.H. (2016). Better Living through Chemistry: Caloric Restriction (CR) and CR Mimetics Alter Genome Function to Promote Increased Health and Lifespan. *Front Genet* 7, 142.

Goyal, M.S., Vlassenko, A.G., Blazey, T.M., Su, Y., Couture, L.E., Durbin, T.J., Bateman, R.J., Benzinger, T.L., Morris, J.C., and Raichle, M.E. (2017). Loss of Brain Aerobic Glycolysis in Normal Human Aging. *Cell Metab* 26, 353-360 e353.

Naganos, S., Horiuchi, J., and Saitoe, M. (2012). Mutations in the *Drosophila* insulin receptor substrate, CHICO, impair olfactory associative learning. *Neurosci Res* 73, 49-55.

Redman, L.M., Smith, S.R., Burton, J.H., Martin, C.K., Il'yasova, D., and Ravussin, E. (2018). Metabolic Slowing and Reduced Oxidative Damage with Sustained Caloric Restriction Support the Rate of Living and Oxidative Damage Theories of Aging. *Cell Metab* 27, 805-815 e804.

Tamura, T., Chiang, A.S., Ito, N., Liu, H.P., Horiuchi, J., Tully, T., and Saitoe, M. (2003). Aging specifically impairs amnesiac-dependent memory in *Drosophila*. *Neuron* 40, 1003-1011.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Oka Mikiko, Suzuki Emiko, Asada Akiko, Saito Taro, Iijima Koichi M., Ando Kanae	4. 巻 24
2. 論文標題 Increasing neuronal glucose uptake attenuates brain aging and promotes life span under dietary restriction in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101979 ~ 101979
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101979	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 -

1. 著者名 Oba Toshiya, Saito Taro, Asada Akiko, Shimizu Sawako, Iijima Koichi M., Ando Kanae	4. 巻 295
2. 論文標題 Microtubule affinity?regulating kinase 4 with an Alzheimer's disease-related mutation promotes tau accumulation and exacerbates neurodegeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 17138 ~ 17147
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1074/jbc.RA120.014420	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 Samimi Nastaran, Asada Akiko, Ando Kanae	4. 巻 9
2. 論文標題 Tau Abnormalities and Autophagic Defects in Neurodegenerative Disorders; A Feed-forward Cycle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Galen Medical Journal	6. 最初と最後の頁 1681 ~ 1681
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.31661/gmj.v9i0.1681	査読の有無 無
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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mikiko Oka, Emiko Suzuki, Koichi M. Iijima, Kanae Ando.
2. 発表標題 "Enhancement of neuronal glucose uptake attenuates brain aging and promotes lifespan under dietary restriction."
3. 学会等名 The 39th Annual Meeting of the Japan Society for Dementia Research, Online, Nov 27, 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真野 叶子、鈴木 えみ子、飯島 浩一、 安藤 香奈絵
2. 発表標題 脳神経細胞の軸索ミトコンドリアの減少はタンパク質分解機能の低下とユビキチン化タンパク質の蓄積を引き起こす
3. 学会等名 第63回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mikiko Oka, Koichi M. Iijima, Kanae Ando.
2. 発表標題 Enhancement of neuronal glucose uptake protects against tau-induced neurodegeneration in a Drosophila model of Alzheimer 's disease
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Online, Dec 4, 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kanae Ando
2. 発表標題 脳老化とアルツハイマー病の予防・緩和を目指して：加齢による神経細胞のエネルギー欠乏の分子メカニズム（英）Fighting against brain aging and Alzheimer disease: Understanding and counteracting bioenergetic challenges in neurons」
3. 学会等名 日本分子生物学会年会（MBSJ2020 Online）3PW-02ワークショップ「Facilitating the use of Drosophila in clinical and translational biomedical research（招待講演）」
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mikiko Oka, Emiko Suzuki, Koichi M. Iijima, Kanae Ando.
2. 発表標題 ' Enhancement of glucose uptake to maintain ATP levels in the brain neurons and reducing circulating glucose levels synergistically antagonize the aging in Drosophila.' NEURO2019:
3. 学会等名 the 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society and the 62nd Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry, Niigata, Japan, July 26, 2019 (Oral presentation)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mikiko Oka, Emiko Suzuki, Koichi M. Iijima, Kanae Ando.
2. 発表標題 ' Enhancement of glucose uptake and calorie restriction antagonize age-dependent reductions in brain ATP levels and synergistically extend lifespan in Drosophila '
3. 学会等名 Society for Neuroscience the 49th annual meeting, Chicago, USA, October 19, 2019 (Poster presentation) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Better diet and glucose uptake in the brain  <a href="https://www.eurekalert.org/pub_releases/2021-01/tmu-bda010821.php">https://www.eurekalert.org/pub_releases/2021-01/tmu-bda010821.php</a>          脳の老化と寿命に関するメカニズムを発見 脳内の糖がびんびんころりの鍵  <a href="https://www.tmu.ac.jp/news/topics/30590.html">https://www.tmu.ac.jp/news/topics/30590.html</a>          Cause of Alzheimer's disease traced to mutation  <a href="https://www.eurekalert.org/pub_releases/2020-10/tmu-coa102120.php">https://www.eurekalert.org/pub_releases/2020-10/tmu-coa102120.php</a>          アルツハイマー病の発症に関わる神経細胞死のメカニズムを解明：治療薬の開発にもヒント  <a href="https://www.tmu.ac.jp/news/topics/30417.html">https://www.tmu.ac.jp/news/topics/30417.html</a></p>
--

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

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