

令和 6 年 9 月 9 日現在

機関番号：83903

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02844

研究課題名(和文) 糖尿病や加齢が認知症の後天的危険因子である分子メカニズムの多角的解明

研究課題名(英文) Multifaceted analysis of molecular mechanisms by which diabetes and aging are non-genetic risk factors for dementia

研究代表者

里 直行 (Sato, Naoyuki)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・研究所 認知症先進医療開発センター・副センター長

研究者番号：70372612

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病や加齢は認知症の後天的危険因子である。本研究では、糖尿病および加齢による認知症促進メカニズムを明らかにすることを目的とした。米国データ・ベースの解析から、認知症における肥満パラドックスを見出し、それはAPOE遺伝子型で異なることを見出した。さらにその機序として老人斑の低下が示唆された。さらに肥満・糖尿病合併アルツハイマー病(AD)マウスの単一細胞解析を行い、そのメカニズムを明らかにしつつある。また一過性にアミロイド(A β)を発現するマウスを用いて若年期と高齢期ではA β の認知機能に与える効果が異なることを見出した。このことは加齢がADの最大の危険因子であるメカニズムである可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗A β 抗体療法が臨床使用に可能になり、認知症医療は大きく変わろうとしている。2022年時点では全人口の3.5%の方が認知症であり、2060年には全人口の6.7%の方が認知症となると予想されていることから、社会的な負担が今後さらに増すと考えられる。本研究においては、認知症における肥満パラドックスを見出し、それはAPOE遺伝子型で異なること、さらにその機序として老人斑の低下が示唆された。この肥満によるA β の低下のメカニズムを明らかにすることによる新たなA β 低下の戦略を立てることが可能となる。さらに加齢による認知症促進のメカニズム解明はさらに新たな認知症治療薬の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Diabetes and aging have been noted as non-genetic risk factors for dementia. This study aimed to identify how diabetes and aging promote dementia. Based on an analysis of the U.S. database, we found an obesity paradox in dementia, which differed according to the APOE genotype. Furthermore, a reduction in senile plaques by obesity was suggested as a possible mechanism for this paradox. We also elucidate the mechanism by single-cell analysis using an Alzheimer's disease (AD) model with obesity/diabetes. On the other hand, using mice inducibly expressing β -amyloid (A β), we found that the effect of A β on cognitive function differs between young and old ages. This difference may be a mechanism by which aging is the most significant risk factor for AD.

研究分野：Geriatrics

キーワード：Alzheimer's disease diabetes obesity

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会において認知症は根本的治療薬がないことから、解決が迫られている重要な課題である。中でもアルツハイマー病(AD)は認知症のおおよそ半分以上を占めることから、特に重要である。ADに対する根本的治療薬は老人斑の主要構成成分であるアミロイドを標的とした治療薬の開発が進んでいるが難渋しており、またもう一つの主要病理である神経原線維変化の本態であるタウに対する治療法の開発もまだその途上である。一方、ADの危険因子として先天的なAPOE遺伝子や後天的な糖尿病や加齢が注目されているがその機序は十分に明らかとは言えない。APOE遺伝子は老人斑を増やすなど様々な研究がなされているが、アミロイドやタウ以外の分子を標的とした次世代型認知症治療薬の開発が必要である。世界においてもADの生物学的な観点からの治療薬の開発がNature誌などでも特集され(Nature. 2018 Apr;556(7702):426-428)、望まれている。そこで我々はADの危険因子として後天的な糖尿病や加齢に特に着目し、糖尿病および加齢による認知症促進メカニズムを明らかにし、それに基づく画期的な認知症の創薬を行う。

2. 研究の目的

我々は糖尿病とADの合併モデルの研究に関して、国内外において非常に早期(十数年前)から開始・継続している。本研究は従来のAD治療薬開発のターゲットであるアミロイドやタウを踏まえながら、疾患の後天的危険因子である糖尿病と加齢に着目し、次世代認知症薬開発の為の新規標的分子の同定や新規動物モデルの開発が目的である。さらに臨床データの解析を加えることで「認知症の創薬」という最終目標を見据えながら研究を行う。

3. 研究の方法

(1)糖尿病・肥満の合併による変化の検討

我々は従来のAPP(amyloid precursor protein)トランスジェニックマウスに平行し、APPノックイン(KI)マウスの検討も行っている。糖尿病合併ADモデルであるAPPKI;ob/obマウスは野生型、APPKI単独、ob/ob単独に比し、最も寿命が短いことを見出した(Shinohara, FASEB J, 2020)。そのメカニズムとして脳内のミクログリアおよびアストロサイトの破綻を見出した。さらにAPPKI;ob/obマウスの作製を行っている。

APPKI;ob/obにおけるグリア系細胞の役割の検討

APPKI;ob/obマウスの6か月および18か月齢の脳からミクログリアおよびアストロサイトを単離し、単一細胞での遺伝子発現およびエピジェネティクスの解析を行う。

APOEと肥満の認知機能に関するinteraction

米国データベースを用いてAPOEと糖尿病の寿命に関するinteractionのデータを得た(Shinohara, JAD, 2021)。さらに同データベースを用いてAPOEと肥満の認知機能に関するinteractionの検討を行う。

肥満・糖尿病とADの合併で初めて発現増加する遺伝子欠損マウスの作製

肥満・糖尿病とADの合併で初めて発現増加する遺伝子37個(Shinohara, FASEB BioAdvances, 2021)のうち、ヒトADにても発現増加し、かつValidationにより確認された遺伝子Btg2(B cell translocation gene 2), Cyr61(cysteine-rich angiogenic inducer 61), LSS(Lanosterol Synthase), DUSP1(Dual specificity phosphatase 1)につき遺伝子欠損マウスを作製しているので、これを用いて解析を行う。Btg2およびDUSP1に関してはKOマウスを、Cyr61およびLSSに関しては既にコンディショナルKOマウスを作製し、現在、アストロサイト特異的Creマウスとの掛け合わせやAD病理への影響など解析を進めている。Btg2に関しては脳低還流時の行動異常および白質のグリア系細胞増殖の異常に関するデータを得た(Suzuki, J Neuroinflamm, 2021)。またCyr61は細胞老化において重要な役割を果たしている(Jun Ji et

al. Nat Cell Biol. 2010, 12, 676-685)ため、後で述べるように AD における細胞老化の役割を探求する。またこれらの遺伝子群の転写を制御するマスター・レギュレーターとして serum response factor (SRF)を同定した。

(2)タウ病理進展モデルにおける脳低還流の影響の検討

これまで AD における神経原線維変化はマウスでは再現できていなかったが、研究分担者の東京都医学総合研究所の長谷川成人博士がヒト AD 剖検脳からの神経原線維変化を野生型マウス脳に注入すると神経原線維変化が進展することを見出した。この現象を利用して神経原線維変化の進展が脳血管障害によって増悪する、という作業仮説を検証する。

(3)時間・空間的に アミロイドを発現するマウスを用いた加齢依存的な アミロイドに対する生体反応の変化の検討

我々は数年をかけて研究分担者の大阪大学宮崎早月博士との共同研究にて Tet-Off システムと Cre-loxP システムを用いて、時間・空間的に アミロイドを発現できるマウスの系を樹立した。アミロイドを若年期と老年期に発現させて、脳における生体反応を比較し、「アミロイドに対する生体反応が加齢によって低下する」という仮説を検証する。具体的には RNAseq、生化学的解析、および免疫組織学的解析などを行う。「生体反応」とは免疫・炎症反応を含む。

4. 研究成果

(1) 糖尿病・肥満の合併による変化の検討

家族性変異 APP をホモで発現する肥満糖尿病合併アルツハイマー病モデルを作製、18か月齢にて行動実験後、組織回収した(18か月齢、6群、合計約 160 匹)。全匹について ELISA やリアルタイム PCR、免疫染色で解析を行うとともに、一部のマウスについて(n=3 x 4 群)一細胞解析を導入し、脳内の変化を検討した。それらの結果、肥満糖尿病合併アルツハイマー病モデルでは通常の(肥満していない)アルツハイマー病モデルに比べて、脳内の アミロイド蓄積が減少することが明らかになった。この減少については後述でも説明するが、我々が最近論文化した肥満の認知症保護作用(Shinohara et al., JNNP, 2023)についても大きな役割を担っているとみられ、その作用機序を明らかにすることは有用と考えられた。そこで作用機序を検討したところ、アミロイドの前駆体蛋白である APP や分解酵素であるネプリライシンについての発現変化は認めることができず、直接の作用機序は不明であった。一方で今回の解析にて、オリゴデンドロサイトとミクログリア(特に疾患関連ミクログリア)が肥満糖尿病モデルで特異的に低下していることも分かったため、これまでの関連報告なども踏まえつつ、それらの変化がアミロイド蓄積の減少に関係しているのではと仮説を立てるに至った。現在、薬剤などを用いてその仮説の検証を進めている。

米国メイヨークリニックとの共同研究により、米国の National Alzheimer's Coordinating Center (NACC)の臨床病理データベースを解析し、肥満の認知機能や認知症に対する影響(肥満パラドックス)が APOE 多型によって修飾されるという興味深い知見を得た。その結果を、Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry に 2023 年 7 月に発表した。同誌 9 月号の Editorial commentary でも取り上げられるとともに、Editor's choice にも唯一選ばれた。

Btg2 ノックアウトマウスと家族性変異 APP と PSEN1 を発現する 5XFAD を交配し、同マウスにて アミロイドが蓄積し認知障害もみられることが報告されている 9 か月齢まで加齢させ、行動実験を行

い、脳組織などを回収した(4群、合計62匹)。水迷路試験にて、5XFAD 自体に学習障害の傾向は認められたが、Btg2 ありなしでの変化は確認できなかった。また アミロイド蓄積や脳内炎症に対しても Btg2 ありなしでの変化は確認できなかった。この結果から Btg2 は少なくとも アミロイド蓄積にはあまり影響しない可能性が考えられた。そこでタウの蓄積に影響する可能性も踏まえ、引き続き動物モデルを作製し、現在検討している。

Dusp1 ノックアウトマウスと家族性変異 APP と PSEN1 を発現する 5XFAD を交配し、9か月齢まで加齢させ、行動実験を行い、脳組織などを回収した(4群、合計79匹)。水迷路試験にて、5XFAD 自体に学習障害の傾向は認められたが、Dusp1 ありなしでの変化は確認できなかった。脳内炎症に変化は見られなかったものの、アミロイド蓄積は Dusp1 なしで 20%ほど統計的有意に増加することが判明し、Dusp1 は アミロイド蓄積を抑制する因子である可能性が考えられた。現在、そのメカニズムを検討するとともに、併せてタウの蓄積へ影響する可能性を動物モデルを用いて検討している。

Cyr61, LSS コンディショナルノックアウト(flox)マウスと、Aldh111-Cre/ERT2(タモキシフェン投与により、アストロサイトに多く発現する Aldh111 プロモーターで Cre recombinase を発現する)マウス、および家族性変異 APP ノックインマウスとの交配をすすめた。その過程で、LSS flox × Aldh111-Cre/ERT2 のマウスにタモキシフェン投与をすると数日で死ぬことが分かった。その死因について調査中であるが、Aldh111 は肝臓や腎臓などの末梢組織にも発現しているため、末梢組織の機能不全もあるとみて、検討を続けた。いずれにしても LSS の病態での役割を解析するために Aldh111-Cre/ERT2 は不相当と考えられたため GFAP-Cre/ERT2 を再度購入し、現在交配を進めている。一方で Cyr61 flox × Aldh111-Cre/ERT2 のマウスは死ぬことなく、家族性変異 APP と交配し加齢化を進めている。

(2)タウ病理進展モデルにおける脳低還流の影響の検討

マウス脳虚血モデルにおいて凝集タウを脳に播種することによってタウの伝搬がどう影響するか評価したところ、脳虚血によってタウの蓄積が低下することが分かった。2023 年の認知症学会や 2023 年の国際老年病学会で報告した。現在論文を投稿している。

5XFAD マウスに凝集タウを播種するとともに、脳虚血を起こすことで、タウの蓄積や神経変性への影響を評価したところ、興味深い結果を得ることができた。現在、再現性などを確認するため追加コホート解析の準備をしている。

(3)時間・空間的に アミロイドを発現するマウスを用いた加齢依存的な アミロイドに対する生体反応の変化の検討

ROSA-APP マウスと CamkII-Cre の交配をすすめ、若齢時と高齢時における APP 発現によって、脳内 A 病理や、炎症などの病理への応答性の違いを検討している。中齢時(12か月齢)から12カ月間 APP を発現すると、行動変容が起きることが観察できた。回収し、組織の解析を進めたところ、少なくとも12か月 APP 発現したマウスでも脳内での A 蓄積はほとんどないことが観察された。したがって、蓄積量そのものではなく、何か別の因子が行動変容を引き起こしている可能性が示唆された。また本研究で使用した CamkII-Cre と ROSA-APP の交配では、A 蓄積が起きにくいと考えられたため、A 蓄積が起きやすくするためのモデル作成を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 1.Mitsuru Shinohara, Ghupurjan Gheni, Junichi Hitomi, Guojun Bu, Naoyuki Sato	4. 巻 94
2. 論文標題 APOE genotypes modify the obesity paradox in dementia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry	6. 最初と最後の頁 670
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/jnnp-2022-331034.	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 該当する
1. 著者名 Nishita Yukiko, Sala Giovanni, Shinohara Mitsuru, Tange Chikako, Ando Fujiko, Shimokata Hiroshi, Sato Naoyuki, Otsuka Rei	4. 巻 171
2. 論文標題 Effects of APOE 4 genotype on age-associated change in cognitive functions among Japanese middle-aged and older adults: A 20-year follow-up study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Experimental Gerontology	6. 最初と最後の頁 112036 ~ 112036
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.exger.2022.112036	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 Kasuga Kensaku, Kikuchi Masataka, Tsukie Tamao, Suzuki Kazushi, Ihara Ryoko, Iwata Atsushi, Hara Norikazu, Miyashita Akinori, Kuwano Ryoza, Iwatsubo Takeshi, Ikeuchi Takeshi	4. 巻 4
2. 論文標題 Different AT(N) profiles and clinical progression classified by two different N markers using total tau and neurofilament light chain in cerebrospinal fluid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMJ Neurology Open	6. 最初と最後の頁 e000321 ~ e000321
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bmjno-2022-000321	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 Saji Naoki, Murotani Kenta, Sato Naoyuki, Tsuduki Tsuyoshi, Hisada Takayoshi, Shinohara Mitsuru, Sugimoto Taiki, Niida Shumpei, Toba Kenji, Sakurai Takashi	4. 巻 86
2. 論文標題 Relationship Between Plasma Neurofilament Light Chain, Gut Microbiota, and Dementia: A Cross-Sectional Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 1323 ~ 1335
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3233/JAD-215141	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 Shinohara M, Hirokawa J, Shimodaira A, Tashiro Y, Suzuki K, Gheni G, Fukumori A, Matsubara T, Morishima M, Saito Y, Murayama S, Sato N	4. 巻 80
2. 論文標題 ELISA Evaluation of Tau Accumulation in the Brains of Patients with Alzheimer Disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 652-662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Shinohara Mitsuru, Suzuki Kaoru, Bu Guojun, Sato Naoyuki	4. 巻 82
2. 論文標題 Interaction Between APOE Genotype and Diabetes in Longevity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 719 ~ 726
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-210125	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 該当する

1. 著者名 Suzuki K, Shinohara M, Uno Y, Tashiro Y, Gheni G, Yamamoto M, Fukumori A, Shindo A, Mashimo T, Tomimoto H, Sato N	4. 巻 18
2. 論文標題 Deletion of B-cell translocation gene 2 (BTG2) alters the responses of glial cells in white matter to chronic cerebral hypoperfusion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 篠原 充, Ioana Olan, 武倉アブドグプル, 斉藤貴志, 西道隆臣, 成田匡志, 里 直行
2. 発表標題 ごく微量のA 42の増加でも、肥満糖尿病と加齢下では脳の遺伝子発現に大きく影響する
3. 学会等名 第64回 日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 篠原 充、武倉アブドグブル、人見 淳一、Guojun Bu、里 直行
2. 発表標題 APOE多型と肥満の認知機能への交互作用の検討
3. 学会等名 第41回 日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 篠原 充、Ioana Olan、武倉アブドグブル、斉藤 貴志、西道 隆臣、成田 匡志、里 直行
2. 発表標題 ごく微量のA 42の増加でも、肥満糖尿病と加齢下では脳の遺伝子発現に大きく影響する
3. 学会等名 第41回 日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武倉 アブドグブル、鈴掛 雅美、篠原 充、渡邊 淳、新堂 晃大、富本 秀和、長谷川 成人、里 直行
2. 発表標題 DSタウを用いたタウ伝播における慢性脳低灌流の影響の解明
3. 学会等名 第41回 日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 里 直行
2. 発表標題 認知症における肥満パラドックスとそのメカニズムの解明
3. 学会等名 第41回 日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoyuki Sato
2. 発表標題 INTERACTION BETWEEN APOE GENOTYPE AND DIABETES IN LONGEVITY AND DEMENTIA
3. 学会等名 AD/PD 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 里 直行
2. 発表標題 糖尿病による認知機能障害の機序_臨床データベースとモデル動物の解析から
3. 学会等名 第63回日本老年医学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 篠原 充, 鈴木 香, Bu Guojun, 里 直行
2. 発表標題 APOE多型と糖尿病の寿命への交互作用の検討
3. 学会等名 第63回日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 香, 篠原 充, 刈野 善弘, 田代 善崇, 吾甫江 艾尼, 山本 美帆, 福森 亮雄, 新堂 晃大, 真下 知士, 富本 秀和, 里 直行
2. 発表標題 B-cell translocation gene 2 (BTG2)欠損による慢性脳低灌流およびin vitroでのグリア細胞動態変化
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 篠原 充, 福森 亮雄, 里 直行
2. 発表標題 家族性変異PSENにも効果のある セクレターゼモジュレーターの探索
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 里 直行
2. 発表標題 タンパク質蓄積病態に影響するファクターとは
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部 ホームページ https://www.ncgg.go.jp/ri/lab/camd/department/AgingNeurobiology/ 国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部 ホームページ https://www.ncgg.go.jp/ri/lab/camd/department/AgingNeurobiology/index.html
--

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	長谷川 成人 (Hasegawa Masato) (10251232)	公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・分野長 (82609)	

6. 研究組織（つづき）

	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	村山 繁雄 (Murayama Shigeo) (50183653)	大阪大学・大学院連合小児発達学研究所・特任教授（常勤） (14401)	
研究分担者	齊藤 祐子 (Saito Yuko) (60344066)	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長 (82674)	
研究分担者	宮崎 早月 (Miyazaki Satsuki) (60452439)	大阪大学・大学院医学系研究科・助教 (14401)	
研究分担者	奥崎 大介 (Okuzaki Daisuke) (00346131)	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任准教授（常勤） (14401)	

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