

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K20569

研究課題名（和文）脳・全身連関とグリア細胞の脂質代謝系に着目した肥満時のアルツハイマー病の病態解明

研究課題名（英文）Elucidation of Alzheimer disease pathology in obesity focus on association between brain and other organs and lipid metabolism in glial cells

研究代表者

川出 野絵（Kawade, Noe）

名古屋大学・環境医学研究所・特任助教

研究者番号：20910574

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000 円

研究成果の概要（和文）：アルツハイマー病（AD）マウスの脳では脂質プロファイルが変化しており、ミエリンを産生するオリゴデンドロサイトで脂質代謝系の遺伝子発現が変動していたことから、ADの脳ではオリゴデンドロサイトの脂質代謝が変動していると推察された。一方で、脳の脂質代謝とオリゴデンドロサイト異常との関連や、高脂肪食摂取によるAD病態への影響は確認できなかった。また、ADマウスでは肝臓のコレステロール量や血中因子プロファイルの変化が起こっており、脳以外の組織での変化がAD病態に関与す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

脂質代謝に関わる遺伝子や代謝性疾患がアルツハイマー病（AD）のリスク因子として知られていることから、ADの脳では脂質代謝が変動していると推察されたが、その詳細な機構は不明な部分が多い。本研究では、その細胞組成の大半が脂質で占められるオリゴデンドロサイトに着目し、リビドーム解析も交えて、ADと脳の脂質代謝に関する新たな知見を得た。また、近年、AD発症・増悪には脳以外の組織が関与することが指摘されており、本研究では脳と代謝組織の連関を明らかにする手がかりを得た。

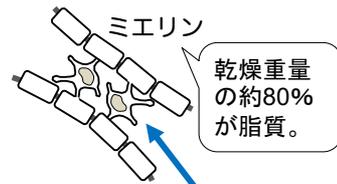
研究成果の概要（英文）：In this study, we showed alterations of brain lipid profile and gene expressions in oligodendrocyte (produces myelin) related to lipid metabolism in AD mice. These results suggested that lipid metabolism in oligodendrocyte is changed in brain with AD pathology. On the other hands, relationship between brain lipid metabolism and oligodendrocyte abnormality were not confirmed. Moreover, effects of high fat diet intake on AD pathologies were not detected in this study. Alteration of hepatic cholesterol level and blood profile were observed in AD mice, which suggested that abnormalities in organs except brain affect AD pathologies.

研究分野：病態神経科学

キーワード：アルツハイマー病 グリア細胞 肥満 脂質代謝 脳・全身連関

1. 研究開始当初の背景

(1) 肥満の頻度が高い2型糖尿病の患者では認知症発症リスクが高い。動物実験においても、通常マウスに脂肪の多い食餌を摂取させると認知機能が低下することが報告されている。また、肥満のヒトでは脳の白質容量が減少することを示す報告があり、肥満により白質が萎縮する可能性が指摘されている (Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 108:646 (2020))。脳の白質はミエリンが多くを占め、その組成の約80%が脂質である。ミエリンはグリア細胞の一つであるオリゴデンドロサイトにより産生される(図1)。オリゴデンドロサイト機能に異常が起きると脱ミエリン化や脳の萎縮に繋がることが示唆されている。



オリゴデンドロサイト

ミエリンに含まれる脂質

- コレステロール
- エタノールアミンプラズマローゲン
- ガラクトシルセラミド・スルファチド

図1 ミエリンは白質に多く、脂質を多く含んでいる

(2) 当研究室では認知症を来す代表的な疾患であるアルツハイマー病 (AD) の解析を行ってきた。当研究室での健常人と AD 患者の死後脳試料を用いた遺伝子解析の結果、オリゴデンドロサイトで主に発現している遺伝子 (*MBP*, *CNP*, *MOG* 他) の発現が AD 患者では低いことが判明していた (*Acta Neuropathologica Communications*, 9:1 (2021))。AD では脳のオリゴデンドロサイト機能が低下している可能性がある。また、AD 患者の死後脳では、脂肪酸やトリグリセリド、コレステロール、グリセロリン脂質、スフィンゴ脂質の代謝や、脂質取り込み、輸送に関与する遺伝子など、様々な脂質代謝系遺伝子の発現が変動していた。AD の脳では脂質代謝系が変動していると推察される。

これらのことから、AD ではオリゴデンドロサイトの脂質代謝系に異常が生じていると推察し、また、肥満時にはこれが増悪されるのではないかと推察した。

(3) 近年、AD の病態悪化には脳以外の組織由来の因子が関与しているのではないかと指摘されている。肥満時には肝臓や脂肪組織などで脂質代謝系が変化しており、血中の炎症関連因子や脂質などの組成が変動していると考えられる。肥満が認知症発症リスクを上昇させる機構として、これらの血中プロファイルの変化が脳に影響する可能性を考えた。

2. 研究の目的

AD マウスでは脳のオリゴデンドロサイトで脂質代謝異常が起こっており、高脂肪食を摂取させて肥満状態とした際に増悪することを検証する。また、AD マウスの代謝組織や血中因子を解析し、AD 病態と脳以外の組織との連関を解明するための手がかりを得る。

3. 研究の方法

本研究では、遺伝性 AD 患者由来の APP (アミロイド前駆体蛋白) 遺伝子変異をノックイン法により3箇所導入することで、AD におけるアミロイド病変を忠実に模倣した最新の AD モデルマウス (App-KI: App^{NL-G-F}) を用いた。

ヒトでの AD では発症の 10~20 年前からアミロイド β が脳に沈着し始めるため、発症以前からの肥満状態が AD の発症に寄与すると考えられる。本研究で用いる AD モデルマウスでは2ヶ月齢より $A\beta$ の蓄積が起こるため、2ヶ月齢より HFD (高脂肪食) を摂取させて飼育した。同時に NCD (通常食) を摂取させる対照群も設け、AD 発症時期である8ヶ月齢において比較解析を行った。また、野生型 (C57BL/6) マウスも同様の2群を設けて飼育した (図2)。

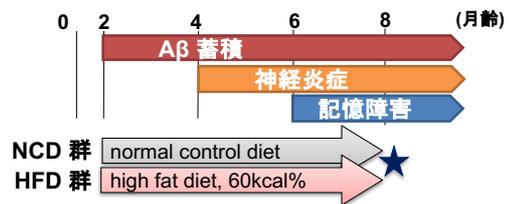


図2 AD マウスにおける病態の進行と、本研究での飼育スケジュール

4. 研究成果

(1) AD マウスの脳における脂質代謝系の変動

① AD マウスの大脳皮質を用いた次世代シーケンズ

NCDあるいはHFDを摂取させたADマウスの大脳皮質を用いて次世代シーケンズを行った。脳にはグリセロリン脂質、スフィンゴ脂質、コレステロールが多いことから、これらの代謝系を中

心に解析を行った。NCD 摂取 AD マウスにおいて、これらの脂質代謝系の遺伝子発現が変動しており、AD マウスでも AD 患者と同様に、脳の脂質代謝系に変化が生じていると推察された。一方で、HFD 摂取 AD マウスの大脳皮質でもこれらの脂質代謝系遺伝子の発現が変動しており、変動した遺伝子や変動の方向性は NCD 摂取時と類似していた。

② AD マウスのオリゴデンドロサイトを用いた次世代シーケンス

ミエリンを産生するオリゴデンドロサイトを磁気細胞分離法により脳から単離し、次世代シーケンスを行った。ミエリンに含まれる主要な脂質はコレステロール、エタノールアミンプラズマローゲン、ガラクトシルセラミドとその代謝物であるスルファチドであり (図 1)、これらの代謝系を中心に解析を行った。NCD 摂取 AD マウスにおいて、コレステロールとガラクトシルセラミド・スルファチドの脂質代謝系の遺伝子発現が変動しており、AD によりオリゴデンドロサイトの脂質代謝系が変化していることが推察された。一方で、HFD 摂取 AD マウスのオリゴデンドロサイトでも同様にこれらの脂質代謝系遺伝子の発現が変動しており、変動した遺伝子や変動の方向性は NCD 摂取時と類似していた。エタノールアミンプラズマローゲン代謝系遺伝子は NCD、HFD のどちらを摂取した AD マウスにおいても変動していなかった。

③ AD マウスの脳のリピドーム解析

NCD もしくは HFD 摂取 AD マウスの脳を用いてリピドーム解析を行った。脳より検出した脂質は約 800 種類で、グリセロリン脂質とスフィンゴ脂質が多くを占めていた。AD により変動した脂質はグリセロリン脂質とスフィンゴ脂質が多く、NCD 摂取時は AD により減少する脂質、HFD 摂取時には増加する脂質が多かった。ステロール系で AD により変動した脂質は少なかった。また、ミエリンに含まれる主要な脂質のうち、スルファチドは NCD 摂取 AD マウスでのみ低下する脂質が多く、HFD 摂取 AD マウスで低下するスルファチドはなかった。

①～③の結果から、NCD 摂取 AD マウスにおいて、脳の脂質代謝系が変動していることが推察され、特にミエリンあるいはオリゴデンドロサイトのガラクトシルセラミド・スルファチド代謝系が変動していることが推察された (図 3)。

また、HFD 摂取 AD マウスでは NCD 摂取と異なる脳の脂質プロファイルを示したが、一方で、HFD 摂取 AD マウスの大脳皮質やオリゴデンドロサイトでの遺伝子発現変動は NCD 摂取時と類似していた。HFD 摂取は脳の脂質代謝系に影響すると考えられるが、その詳細な機構は各代謝系の遺伝子発現調節の他に、タンパク質や酵素活性レベルでの変化や脳への脂質輸送機能などが関与している可能性が考えられる。

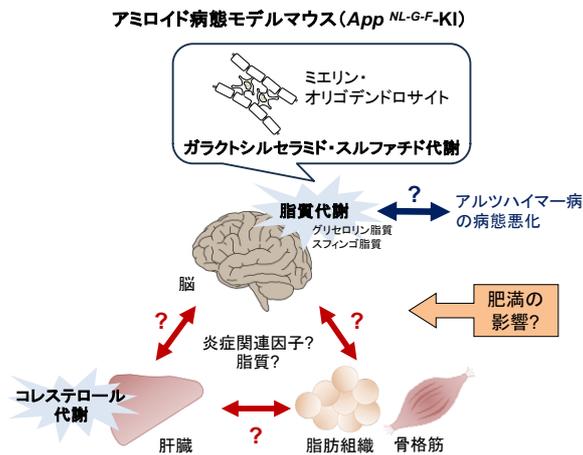


図 3 本研究から推定された AD マウスの脳での脂質代謝系の変動と代謝組織での変化

(2) HFD 摂取 AD マウスにおける脳のオリゴデンドロサイトの異常と AD 病態の評価

① AD マウスの大脳皮質におけるオリゴデンドロサイトマーカー発現の解析

AD マウスの大脳皮質におけるオリゴデンドロサイトマーカーの発現を Real time PCR 法により解析した。オリゴデンドロサイトはその分化過程によりマーカーが異なっており、本研究では *Sox10* (前駆細胞～成熟オリゴデンドロサイト)、*Pdgfra* (前駆細胞～未成熟オリゴデンドロサイト)、*Mbp* (成熟オリゴデンドロサイト) の解析を行った。その結果、NCD 摂取 AD マウスにおいて *Sox10* のみ発現が低下していたが、その変動はわずか (約 0.9 倍) であり、*Pdgfra* と *Mbp* の発現は変動していなかった。脳の単離オリゴデンドロサイトでは AD により脂質代謝系が変動していることが示唆されたが、オリゴデンドロサイトの機能低下との関連性は本研究から見られなかった。また、HFD 摂取はマーカー発現の変動に影響しておらず、肥満とオリゴデンドロサイトの異常との関連性は確認できなかった。

② HFD 摂取による認知機能低下と神経炎症の評価

HFD を摂取したマウスでは認知機能が低下し、神経炎症が起こることが知られている (Front. Neurosci., 14:604150 (2020))。そのため、HFD 摂取 AD マウスではこれらが増悪すると予想し、解析を行った。バーンズ迷路試験により空間記憶を評価したところ、AD マウスで低下することは確認できたが、HFD 摂取により増悪しなかった。また、大脳皮質において、神経炎症に関わるグリア細胞であるミクログリア (*Iba1*) とアストロサイト (*Gfap*) のマーカー発現を Real time PCR 法により解析した。AD により神経炎症が起こることは知られており、本研究でも AD マウスでこれらの発現が上昇していることが確認できた。一方で、HFD 摂取による更なる上昇は見られなかった。本研究では HFD 摂取による認知機能の低下と神経炎症は起こっておらず、脳の脂質代

謝系の変動との関連性は確認できなかった。

(3) AD マウスにおける肝臓の脂質代謝系と血中因子プロファイルの変動

① AD マウスの肝臓における脂質代謝系の解析

NCD 摂取および HFD 摂取 AD マウスの肝臓を用いて、総脂質含量、トリグリセリド量、総コレステロール量を測定した。総脂質含量、トリグリセリド量は NCD 摂取、HFD 摂取のいずれにおいても AD マウスで変動しなかったが、総コレステロール量は HFD 摂取でのみ AD マウスで上昇していた。AD マウスでは肝臓のコレステロール代謝系が変化しており、特に HFD 摂取により顕著に変化が表れることが推察された。一方で、肝臓のコレステロール代謝系遺伝子 (*Srebf2*, *Ldlr*, *Hmgcr*, *Cyp7a1*, *Pcsk9*) の発現は AD マウスで変動しておらず、その詳細な機構はタンパク質や酵素活性レベルでの変動、他の臓器への脂質輸送、胆汁酸合成などが関与している可能性が考えられる。

② NCD 摂取 AD マウスの血中因子の解析

血清中の 24 種類のサイトカイン・ケモカイン濃度を Cytometric Bead Array を用いて測定したところ、AD マウスでは血中の炎症関連因子プロファイルが変動していた。また、血漿を用いた網羅的リピドーム解析を行ったところ、AD マウスでは血中脂質プロファイルが変動していた。

①～②の結果から、AD マウスでは脳以外の組織において脂質代謝系や炎症系が変動していることが推察され、AD 病態と脳以外の組織は互いに影響し合う可能性があると考えられる (図 3)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kawade N., Yamanaka K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Novel insights into brain lipid metabolism in Alzheimer's disease: oligodendrocytes and white matter abnormalities.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio.	6. 最初と最後の頁 194-216
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/2211-5463.13661	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 Komine O., Ohnuma S., Hinohara K., Hara Y., Shimada M., Akashi T., Watanabe S., Sobue A., Kawade N., Ogi T., Yamanaka K..	4. 巻 27
2. 論文標題 Genetic background variation impacts microglial heterogeneity and disease progression in amyotrophic lateral sclerosis model mice.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 108872
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2024.108872	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 Goto S., Kojima N., Komori M., Kawade N., Oshima K., Nadano D., Sasaki N., Horio F., Matsuda T., Miyata S.	4. 巻 128
2. 論文標題 Vitamin C deficiency alters the transcriptome of the rat brain in a glucocorticoid-dependent manner, leading to microglial activation and reduced neurogenesis.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 J. Nutr. Biochem.	6. 最初と最後の頁 109608
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jnutbio.2024.109608	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 Kawade N., Suzuki W., Kobayashi M., Ohno T., Murai A., Horio F.	4. 巻 68
2. 論文標題 Low ascorbic acid intake induces inflammatory changes in intestine and liver of ODS rats.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J.Nutr.Sci.Vitaminol.	6. 最初と最後の頁 481-487
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.68.481	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 Watanabe S, Horiuchi M, Murata Y, Komine O, Kawade N, Sobue A, *Yamanaka K.	4. 巻 179
2. 論文標題 Sigma-1 receptor maintains ATAD3A as a monomer to inhibit mitochondrial fragmentation at the mitochondria-associated membrane in amyotrophic lateral sclerosis.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neurobiol. Dis.	6. 最初と最後の頁 106031
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbd.2023.106031	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7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 川出野絵、小峯起、祖父江顕、齊藤貴志、西道隆臣、山中宏二
2. 発表標題 肥満時のアルツハイマー病モデルマウスにおける脳と末梢代謝組織での脂質代謝関連因子の解析
3. 学会等名 第77回 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川出野絵、小峯起、祖父江顕、齊藤貴志、西道隆臣、山中宏二
2. 発表標題 Alteration of brain lipid metabolism in obese Alzheimer's disease model mice. (肥満時のアルツハイマー病モデルマウスにおける脳の脂質代謝関連因子の変動)
3. 学会等名 第46回 日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川出野絵、小峯起、祖父江顕、齊藤貴志、西道隆臣、山中宏二
2. 発表標題 肥満のアルツハイマー病マウスの脳におけるリポミクスの変化と脂質代謝系遺伝子の発現変動
3. 学会等名 第82回 日本栄養・食糧学会中部支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川出野絵、小峯起、祖父江顕、齊藤貴志、西道隆臣、山中宏二
2. 発表標題 肥満時のアルツハイマー病における脂質代謝系の解析
3. 学会等名 第42回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川出野絵、小峯起、祖父江顕、齊藤貴志、西道隆臣、山中宏二
2. 発表標題 アルツハイマー病の患者死後脳とモデルマウス脳における脂質代謝関連因子の解析
3. 学会等名 第76回 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川出野絵、小峯起、祖父江顕、齊藤貴志、西道隆臣、山中宏二
2. 発表標題 Putative role of altered brain lipid metabolism in Alzheimer's disease pathology using postmortem human brain and mice.
3. 学会等名 NEURO2022 (第45回日本神経科学大会、第65回日本神経化学会大会、第32回日本神経回路学会大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川出野絵、小峯起、祖父江顕、齊藤貴志、西道隆臣、村山繁雄、山中宏二
2. 発表標題 アルツハイマー病脳における脂質代謝関連因子の遺伝子発現解析
3. 学会等名 第41回日本認知症学会学術集会 第37回日本老年精神医学会 合同開催
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 川出野絵, 山中宏二	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 6
3. 書名 実験医学 増刊 シン・マクロファージ	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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