

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390187

研究課題名(和文) 糖尿病とアルツハイマー病の相互病態修飾におけるインスリン・シグナリングの役割

研究課題名(英文) The roles of insulin signaling between diabetes and Alzheimer's disease

研究代表者

里 直行 (Sato, Naoyuki)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70372612

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円、(間接経費) 4,410,000円

研究成果の概要(和文)：我々はこれまで糖尿病合併アルツハイマー病モデルマウスを作製し糖尿病とアルツハイマー病の相互的病態修飾作用を報告してきた。アルツハイマー病モデルマウスとされるAPPトランスジェニックマウスでは神経原線維変化の本態とされるタウのリン酸化は促進されないが糖尿病が加わることによりタウが強くリン酸化されることを見出した。この結果をもとに我々は「生体はアミロイドの蓄積に対して恒常性維持機構あるいは生体防御反応を有しているが、加齢と糖尿病が加わることによりその破綻が始まる」という仮説を提唱した。

研究成果の概要(英文)：Epidemiological studies suggest that diabetes mellitus increases the risk of onset of Alzheimer disease (AD). However, the underlying mechanisms have not been fully understood. Six months on a high fat diet increased Aβ40 in B6C mice brain. To investigate the effects of diabetes on AD, we further analyzed the phenotypes of APP+ob/ob mice, which showed the increased cerebral amyloid angiopathy and impaired insulin signaling, especially focusing on tau phosphorylation. 18 month old APP+ob/ob mice showed highly increased level of tau phosphorylation in the brain. Tau phosphorylation is increased by diabetes in APP mice, suggesting that Aβ is prerequisite, but insufficient to cause tau phosphorylation in vivo. Aβ accumulation, insulin signaling and tau phosphorylation might play essential roles in the pathological interaction between AD and diabetes. These results suggest that diabetes disrupts homeostasis against AD.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科学一般(含心身医学)

キーワード：糖尿病 アルツハイマー病 神経科学 分子生物学 病理学

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 高齢化社会を迎えている現在社会において認知症は切実な問題である。その約半数を占めるアルツハイマー病 (AD) の治療法は十分でない。近年、AD の後天的危険因子として糖尿病が注目されている。

(2) その機序を明らかにするため、我々は糖尿病合併 AD モデルマウスを作成した。その結果、糖尿病は AD の病態を悪化させることが判明した。さらに、脳内のインスリン・シグナルが低下していることが判明した。脳内インスリン・シグナルはシナプス機能など重要な役割をしていると考えられるが、そのノックアウトマウスでは AD の原因と目されているベータ・アミロイドが低下する一方で、AD 病理において重要なタウのリン酸化が促進するなど、AD 病理に逆方向の作用を持つ。

## 2. 研究の目的

今回、我々は AD 治療法の開発を目標として糖尿病合併 AD モデルマウスにおけるインスリン・シグナルの役割を明らかにすることを本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 糖尿病合併 AD における脳内インスリン・シグナルの低下についてまず、インスリン・シグナルのコンポーネントについて詳細の検討を行った。インスリン・シグナルは中枢においてシナプス機能分子の翻訳の調節をしている。

(2) インスリン・シグナルはタウのリン酸化を抑制しており、その低下はタウのリン酸化を亢進する方向に働くので、これを調べる。高脂肪食による糖尿病モデルおよび遺伝的なモデルを用いて、網羅的な脳内の遺伝子変化の検索を行った。

## 4. 研究成果

(1) 糖尿病が AD をいかに促進するか、という問いに対しては、Kalaria による総説 (Nat Rev Neurol 5:305, 2009) に見るように、糖尿病の存在は AD 病理、すなわち老人斑や神経原線維変化を増加させない。それを支持するように、我々の糖尿病合併 AD モデルにおいても糖尿病は AD 病理を増悪させなかった。しかし、その一方で、脳内のインスリン・シグナリングが低下していることが判明した。我々は 18 ヶ月齢の高齢糖尿病合併 AD モデルにおいてタウのリン酸化亢進を見出した。興味深いことに AD マウス、糖尿病マウスではタウのリン酸化はコントロール・マ

ウスと同程度であるのに対し、糖尿病合併 AD マウスのみにおいてタウのリン酸化亢進が認められた。In vitro ではベータ・アミロイドだけでタウのリン酸化を誘導することから、in vivo では生体の防御反応が働き、タウのリン酸化が抑えられるが、糖尿病が加わることにより、ホメオスターシスが破綻するのではないかと仮説を立てている。この仮説は画期的である。

(2) 高脂肪食による糖尿病を合併した APP マウスの認知機能障害を検討したところ、野生型マウス、野生型マウス+高脂肪食、アルツハイマー病マウスに比し低下していた。この結果により、糖尿病合併 AD の認知機能増悪のメカニズムを違った角度から光を当てることが可能となった。

(3) 高脂肪食による糖尿病を合併した APP マウスのマイクロアレイ解析とリアルタイム PCR によるその Validation を行った。その結果、興味深いことに複数個の脳の遺伝子発現が変化していることが判明した。

(4) さらに野生型マウスに高脂肪食を負荷するとある分子種の  $\beta$  アミロイドが増加した。この結果は久山町の疫学研究とも呼応する。

(5)  $\beta$  アミロイドの増加のメカニズムとして  $\beta$  アミロイドを分解する酵素の低下が糖尿病により惹起されることを見出した。

今回の研究により得られた知見をもとに基盤研究 (B) 「アルツハイマー病に対する生体恒常性維持機構の解明と糖尿病によるその破綻」(H26-29 年: 代表 里 直行) においてより研究を進展させていく。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

Mitsuru Shinohara, **Naoyuki Sato\***, Munehisa Shimamura, Hitomi Kurinami, Toshimitsu Hamasaki, Amarnath Chatterjee, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. Possible Modification of Alzheimer Disease by Statins in Midlife: Interactions with Genetic and Non-Genetic Risk Factors. *Front. Aging Neurosci.* In press.

**Sato N\*** and Morishita R. Roles of Vascular and Metabolic Components in Cognitive Dysfunction of Alzheimer disease: Short- and Long-term Modification by Non-genetic Risk Factors. *Front. Aging Neurosci.* 5:64. doi: 10.3389/fnagi.2013.00064, 2013.

Shuko Takeda, **Naoyuki Sato**, Kazuko Ikimura, Hirohito Nishino, Hiromi Rakugi and Ryuichi Morishita. Increased Blood-Brain Barrier Vulnerability to Systemic Inflammation in Alzheimer Disease Mouse Model. *Neurobiology of Aging*, 2013, in press  
DOI 10.1016/j.neurobiolaging

**Naoyuki Sato**, Ryuichi Morishita. Plasma Abeta: A Possible Missing Link Between Alzheimer Disease and Diabetes. *DIABETES*, 62, 1005-1006, 2013  
10.2337/db12-1549

**Naoyuki Sato**, Masayasu Okochi, Mitsuru Shinohara, Gopal Thinakaran, Shuko Takeda, Akio Fukumori, Motoko Shinohara-Noma, Mari Mori-Ueda, Hizuki Hamada, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. Differential Regulation of Amyloid Precursor Protein /Presenilin 1 Interaction during A $\beta$ 40/42 Production Detected Using Fusion Constructs.

**PLoS ONE** 7(11): e48551.  
doi:10.1371/journal.pone.0048551

Shuko Takeda, **Naoyuki Sato**, Kozue Uchio-Yamada, Hisahiro Yu, Atsushi Moriguchi, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. Oral Glucose Loading Modulates Plasma  $\beta$ -Amyloid Level in Alzheimer's Disease Patients: Potential Diagnostic Method for Alzheimer's Disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 2012;34(1):25-30.  
10.1159/000338704

Shimamura M, **Sato N**, Nakagami H, Taniyama Y, Morishita R. Development of nucleic Acid drugs for neurological disorders. *Curr Top Med Chem.* 2012 Aug 1;12(15):1621-9.

Hayashi H, Nakagami H, Takeichi M, Shimamura M, Koibuchi N, Oiki E, **Sato N**, Koriyama H, Mori M, Gerardo Araujo R, Maeda A, Morishita R, Tamai K, Kaneda Y. HIG1, a novel regulator of mitochondrial  $\gamma$ -secretase, maintains normal mitochondrial function. *FASEB J.* 2012 Jun;26(6):2306-17.  
10.1096/fj.11-196063

Shimamura M, Taniyama Y, Katsuragi N, Koibuchi N, Kyutoku M, **Sato N**, Allahtavakoli M, Wakayama K, Nakagami H, Morishita R. Role of Central Nervous System Periostin in Cerebral Ischemia. *Stroke.* 2012 Apr;43(4):1108-14.  
10.1161/STROKEAHA.111.636662

**Naoyuki Sato**, Mitsuru Shinohara, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. Dual effects of statins on Abeta metabolism: Up-regulation of degradation of APP-CTF and Abeta clearance. *Neurodegenerative diseases*, 2012;10 (1-4):

305-8.

10.1159/000334534

[学会発表] (計 27 件)

**Naoyuki Sato.** "Diabetes Disrupts Homeostasis against Alzheimer's Disease". Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group (APDO) symposium 2013, 12th, Oct, 2013, Tokyo

**Naoyuki Sato.** "Abeta is prerequisite, but insufficient to cause tau phosphorylation in vivo: tau phosphorylation in APP mice by diabetes" (POSTER PRIZE - 2nd Prize). 3rd International Conference on Molecular Neurodegeneration - Basic biology and disease pathways, 10-12 September 2013, Cannes, France

**Naoyuki Sato,** Mari Mori-Ueda, Toshihisa Tanaka, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Mitsuru Shinohara, Shigeo Murayama, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "Possible involvements of Abeta, insulin signaling and tau phosphorylation in the pathological interaction between Alzheimer disease and diabetes". AAIC 2013 The Alzheimer's Association International Conference 2013, 14th, July, 2013, Boston

Chairs: **Naoyuki Sato,** Makoto Higuchi.  
"Molecular Mechanisms Linking Alzheimer's Disease And Its Non-Genetic Risk Factors - Towards Novel Therapeutic Strategies" (SS24 517-B). 1. Pathological interaction between Alzheimer's disease and diabetes mellitus

**Naoyuki Sato.** The 20th IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics, June 24, Seoul, Korea

**Naoyuki Sato,** Ryuichi Morishita  
Symposia S16: Strategies on biomarkers to diagnose Alzheimer's disease. Chair: Laura

Morelli. "Role of adult common disease in the development of Alzheimer disease: Application to diagnostic and therapeutic indication". 24th Biennial Joint Meeting, International society for Neurochemistry, American Society for Neurochemistry, 22th, April, 2013, Cancun, Mexico

**N Sato,** M Mori-Ueda, T Tanaka, S Takeda, K Uchio-Yamada, H Ueda, M Shinohara, S Murayama, M Takeda, H Rakugi, R Morishita. "Diabetes increases tau phosphorylation in APP mice: evidence that Abeta is prerequisite, but insufficient to cause tau phosphorylation". The 11th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases AD/PD 2013, March 10, 2013, Italy

**N Sato,** M Okochi, M Shinohara, G Thinakaran, S Takeda, A Fukumori, M Shinohara-Noma, M Mori-Ueda, H Hamada, M Takeda, H Rakugi, R Morishita. "Amyloid precursor protein/presenilin 1 interaction is differentially regulated during Abeta40/42 production: detection using fusion constructs". The 11th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases AD/PD 2013, March 9, 2013, Italy

**Naoyuki Sato.** Symposium 7: Pathophysiology and therapeutics for dysfunction of higher brain function in metabolic disease. "How does diabetes mellitus increase the incidence of Alzheimer's disease?" The 86th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society, Mar, 21th, 2013, Fukuoka

**N Sato,** M Mori-Ueda, T Tanaka, S Takeda, K Uchio-Yamada, H Ueda, M Shinohara, S Murayama, M Takeda, H Rakugi, R Morishita. "Diabetes increases tau phosphorylation in APP

mice: evidence that Abeta is prerequisite, but insufficient to cause tau phosphorylation". The 11th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases AD/PD 2013, March 10, 2013, Italy

**N Sato**, M Okochi, M Shinohara, G Thinakaran, S Takeda, A Fukumori, M Shinohara-Noma, M Mori-Ueda, H Hamada, M Takeda, H Rakugi, R Morishita. "Amyloid precursor protein/presenilin 1 interaction is differentially regulated during Abeta40/42 production: detection using fusion constructs". The 11th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases AD/PD 2013, March 9, 2013, Italy

**Naoyuki Sato**, Mari Mori-Ueda, Toshihisa Tanaka, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Mitsuru Shinohara, Shigeo Murayama, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "The mechanisms by which diabetes mellitus increases the risk of Alzheimer's disease". Keystone Symposia, Aging and Diseases of Aging, October 25, 2012, Tokyo

**Naoyuki Sato**, et al. "Old APP $xob/ob$  mice showed highly increased level of tau phosphorylation in brain". Neuroscience 2012, October 15, 2012, New Orleans

**Naoyuki Sato**, Mari Mori-Ueda, Toshihisa Tanaka, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Mitsuru Shinohara, Shigeo Murayama, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "Roles of beta-amyloid and insulin resistance in the interaction between diabetes mellitus and Alzheimer's disease". Gordon Research Conferences, Neurobiology of Brain Disorders. Chair: Jie Shen, Vice Chair: Joachim J. Herz. Stonehill College, August 5-10,

2012

**Naoyuki Sato**, Mari Mori-Ueda, Toshihisa Tanaka, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Mitsuru Shinohara, Shigeo Murayama, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "Tau phosphorylation is increased by diabetes mellitus in APP transgenic mice". The 17th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience, 2012.12.7, Osaka

**Naoyuki Sato**, Masayasu Okochi, Mitsuru Shinohara, Gopal Thinakaran, Shuko Takeda, Akio Fukumori, Motoko Shinohara-Noma, Mari Mori-Ueda, Hizuki Hamada, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "Amyloid Precursor Protein/Presenilin 1 Interaction is Differentially Regulated during A $\beta$ 40/42 Production : Detection Using Fusion Constructs". The 17th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience, 2012.12.7, Osaka

**里 直行** シンポジウム 3 「生活習慣病と認知症」 "糖尿病とアルツハイマー病の発症機構" 第 3 回日本認知症予防学会、2013 年 9 月 29 日、新潟

**里 直行** 最優秀演題賞 "糖尿病はアルツハイマー病において恒常性維持機構を破壊させる" 第 13 回日本抗加齢医学会総会、2013 年 6 月 29 日、横浜

**里 直行** シンポジウム 5 「体内老化因子」 "アルツハイマー病と糖尿病の相互作用における体内老化因子" 第 13 回日本抗加齢医学会総会、2013 年 6 月 28 日、横

**里 直行** ランチョン・セミナー "後天的危険因子からみたアルツハイマー病の解析" 第

28 回日本老年学会総会・第 55 回日本老年医学会学術集会、2013 年 6 月 4 日、大阪

**里 直行**、田中稔久、村山繁雄、武田雅俊、樂木宏実、森下竜一 “糖尿病はアルツハイマー病モデルマウス脳においてタウのリン酸化を促進する” 第 28 回日本老年学会総会・第 55 回日本老年医学会学術集会、2013 年 6 月 5 日、大阪

**里 直行**、武田雅俊、樂木宏実、森下竜一 “ $\beta$  アミロイド産生機構：アミロイド前駆体蛋白とプレセニリンの融合蛋白を用いた解析” 第 28 回日本老年学会総会・第 55 回日本老年医学会学術集会、2013 年 6 月 5 日、大阪

**里 直行**、樂木宏実、森下竜一 “長期的な高脂肪食負荷はアルツハイマー病モデルマウスにおいて血中  $\beta$  アミロイドを増加させる” 第 28 回日本老年学会総会・第 55 回日本老年医学会学術集会、2013 年 6 月 6 日、大阪

**里 直行** シンポジウム 「脂質異常症の抗加齢医療」脂質異常症、スタチンとアルツハイマー病“n 脳心血管抗加齢研究会 2012、2012 年 11 月 18 日、大阪

**里 直行** シンポジウム 「Common disease の体質と環境」"認知症の体質と環境" 第 62 回日本体質医学会総会、2012 年 11 月 4 日、大阪

**Naoyuki Sato**, Mari Mori-Ueda, Toshihisa Tanaka, Shuko Takeda, Kozue Uchio-Yamada, Hironori Ueda, Mitsuru Shinohara, Shigeo Murayama, Masatoshi Takeda, Hiromi Rakugi, Ryuichi Morishita. "The mechanism by which diabetes mellitus increase the risk of Alzheimer disease". Neuroscience2012, Sep 18, 2012, Nagoya

**里 直行** シンポジウム 3 「生活習慣病と認知症」"生活習慣病がアルツハイマー病病理および血管病変に与える影響" VAS-COG JAPAN 2012、2012 年 9 月 8 日、東

**里 直行** "認知症の危険因子と予防療法" 第 53 回日本神経学会学術大会、シンポジウム「認知症疫学研究が提供するエビデンス」、2012 年 5 月 23 日、東京

〔図書〕(計 1 件)

**Naoyuki Sato** and Ryuichi Morishita. A $\beta$  Deposition, Insulin Signaling, and Tau Phosphorylation in Animal Models of Alzheimer Disease and Diabetes. Metabolic Syndrome and Neurological Disorders. Eds: Akhlaq A. Farooqui, Tahira Farooqui. John Wiley & Sons, Inc.383-394. 2013.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cgt.med.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

里 直行 (SATO, Naoyuki)

大阪大学・医学研究科・寄付講座准教授  
研究者番号：70372612

(2) 研究分担者

内尾こずえ (UCHIO, Kozue)

医薬基盤研究所・難病・疾患資源研究部・主任研究員

研究者番号：70373397

(3) 研究分担者

上田裕紀 (UEDA, Hironori)

大阪大学・医学研究科・特任准教授  
研究者番号：90543463

(3) 研究分担者

村山繁雄 (MURAYAMA, Shigeo)

東京都健康長寿医療センター・研究部長  
研究者番号：50183653

(3) 連携研究者研究分担者

林真一郎 (HAYASHI, Shinichiro)

国立循環器病センター・病院・医師  
研究者番号：20396740