

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月30日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2011～2012

課題番号：23689047

研究課題名（和文） 糖尿病の脳における脂質代謝異常のメカニズム解明とその是正

研究課題名（英文） Mechanisms of lipid metabolism disorder in diabetic brain

研究代表者

鈴木 亮（SUZUKI RYO）

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：20396732

研究成果の概要（和文）：重症糖尿病モデルマウスの脳において、ステロールセンサー分子 SCAP が減少していることを発見した。脳で SCAP を完全に欠損したマウスは脳が小さく、出生直後に呼吸できず死亡した。脳で SCAP を半分欠損したマウスは死亡せず成長し、脳のコレステロール合成が糖尿病マウスと同程度に低下していた。脳の海馬を電氣的に刺激した際の電位変化（長期増強）が糖尿病動物で減弱することが知られている。この半分欠損マウスも糖尿病の場合と同じように減弱し、認識・記憶能の障害を認めた。以上の結果から、糖尿病に伴う認知機能低下の新規メカニズムとして脳における SCAP の減少が関わる可能性を報告した。

研究成果の概要（英文）：Decrease of SCAP, a sterol sensor molecule, was observed in the brain of STZ-induced severe diabetes mouse model. Homozygous disruption of the *Scap* gene in the brains of mice caused perinatal lethality associated with microcephaly. Mice with haploinsufficiency of *Scap* in the brain showed reduction in brain cholesterol synthesis, similar to what was observed in diabetic mice. This resulted in impaired synaptic transmission, as measured by decreased long-term potentiation, and was associated with behavioral and cognitive changes. Thus, reduction of SCAP and the consequent suppression of cholesterol synthesis in the brain may play an important role in the increased rates of cognitive decline observed in diabetic states.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成23年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
平成24年度	9,500,000	2,850,000	12,350,000
総計	19,500,000	5,850,000	25,350,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：糖尿病、認知機能、コレステロール合成、脳、SCAP、SREBP-2、ノックアウトマウス

1. 研究開始当初の背景

20世紀から21世紀にかけての糖尿病患者数の急激な増加は世界各国で共通して見られる現象であり、本邦においても平成19年の国民健康・栄養調査の結果、約2210万人がこの疾患に罹患していると推計されている。いまや糖尿病は誰もが罹患しうる国民病で

ある。さらに本邦人口動態の特徴かつ社会問題となっているのが先進国中でも突出した高齢化の進行である。単なる長寿ではなく、介護が不要な「健康長寿」を実現することは、医学系研究室の使命である。近年、糖尿病患者がアルツハイマー型認知症を発症するリスクは健常者のおよそ2倍

であることが複数の疫学研究から明らかになっている (Kahn and Suzuki, 2010)。また明確な認知症の状態に至らずとも、糖尿病患者が認知機能の低下を様々なレベルで呈することについて多数の報告が集積されている。さらに、糖尿病患者ではうつ病の合併が多いことは従来より臨床的に観察されている事実である。しかしながら、糖尿病合併症研究の現状は網膜症・末梢神経障害・腎症の三大合併症ならびに動脈硬化に集中しており、これらの領域の進展と比較すると、糖尿病が中枢神経に与える影響は、潜在的患者数の多さと病態の深刻さにも関わらず、未だ解明されていない点が多い。糖尿病はインスリン作用の低下を介して全身での糖・脂質代謝の異常を引き起こす疾患である。脳はさきわめて脂質に富む臓器であり、成人では全身に存在するコレステロールの約 25%が脳に局在する。この脳に存在するコレステロールの 95%以上は脳自身により合成される。アルツハイマー病の遺伝的リスク因子は ApoE-ε4 アリルを代表としてその多くがコレステロール代謝と関わっている。さらに神経培養細胞を用いた実験系では細胞膜に存在するコレステロールがシナプス形成とシナプス小胞の exocytosis に必須であることが証明されている。応募者は糖尿病マウス視床下部のマイクロアレイ解析を通じて、複数の糖尿病モデルマウスの脳においてコレステロール合成経路に関与する多数の遺伝子発現が一様に抑制されていることを発見した (Suzuki et al. Cell Metabolism, 2010)。この抑制は、コレステロール合成の主要制御転写因子 SREBP-2 の減少を伴っていた。糖尿病マウスへのインスリン脳室内投与実験やインスリン受容体を脳特異的に欠損した遺伝子操作マウス (NIRKO マウス)、さらに初代培養ニューロンおよびグリア細胞を用いた検討の結果から、脳ではインスリンが直接 SREBP-2 とその下流であるコレステロール合成遺伝子群の発現を誘導することが判明した。糖尿病マウスの脳では様々なコレステロール前駆体の含量が大幅に減少しており、大脳皮質から単離したシナプトソーム膜内のコレステロール含量も低下していた。shRNA レンチウイルスベクターを用いて SREBP-2 の発現を抑制した初代培養海馬ニューロンではシナプスマーカー分子の減少を認め、この SREBP-2 ノックダウンウイルスベクターをマウス視床下部に投与したところ摂食量と体重が増加した (Suzuki et al. Cell Metabolism, 2010)。これらの結果は、糖尿病

とアルツハイマー病をつなぐミッシングリンクのひとつとして脳内ステロール代謝異常を初めて指摘したのみならず、糖尿病状態での広汎なシナプス機能低下に至る新たなメカニズムを示唆しており、糖尿病による他の神経変性疾患やうつ病のリスク増大、概日リズムの破綻とメタボリックシンドロームの関連、高脂血症治療薬による睡眠障害や健忘などの副作用メカニズムなど多くの関連研究領域に波及しうる新規概念を提起している。

2. 研究の目的

本研究計画は (1) 糖尿病状態の脳でコレステロール合成が低下するメカニズムの解明、(2) 脳におけるステロール合成系の抑制が個体レベルで神経機能に与える影響の解析、(3) 糖尿病の脳で低下したコレステロール合成の回復により改善しうる神経機能の同定、(4) 糖尿病による脳内ステロールの局在変化の評価、(5) リピドミクスによる糖尿病の脳脂質変化の網羅的解析を目的とする。

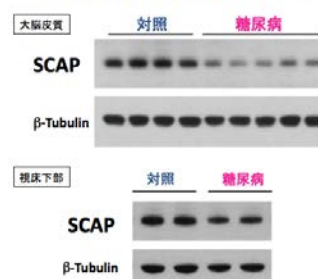
3. 研究の方法

- (1) 糖尿病マウスの脳および培養細胞系でステロールセンサー分子 SCAP が変動する要因を探索する。
- (2) 脳特異的・ニューロン特異的・アストロサイト特異的 SREBP-2 欠損マウスおよび SCAP 欠損マウスを作出する。
- (3) ウイルスベクターを用いて糖尿病マウスの脳で SREBP-2 の転写活性を促進する。浸透圧ポンプを用いてステロール類を糖尿病マウスの脳室内に持続投与する。
- (4) 質量顕微鏡で糖尿病マウスの脳における各種ステロールが増減している領域を同定する。
- (5) リピドミクス解析により糖尿病状態の脳における脂質プロファイルを網羅的に評価する。

4. 研究成果

- (1) STZ 重症糖尿病マウスの脳組織を用いて、SREBP-2 前駆体と複合体を形成するステロールセンサー分子 SCAP を定量したところ、大脳皮質および視床下部において SCAP タンパク質が減少していることを発見した (図 1)。

図1. SCAPタンパク量がSTZ糖尿病マウスの脳で減少している



(2) Nestin-Cre Tg マウスと SCAP flox マウスを交配し作製した。脳特異的 SCAP ホモ欠損マウスは小頭症を呈し (図 2)、自発呼吸開始を認めず全て出生直後に死亡した。ホモ欠損マウスの脳では顕著なグリオーシスを認めた (図 3)。

図2. 脳特異的SCAPホモ欠損マウスは小頭症を呈し出生直後に死亡する

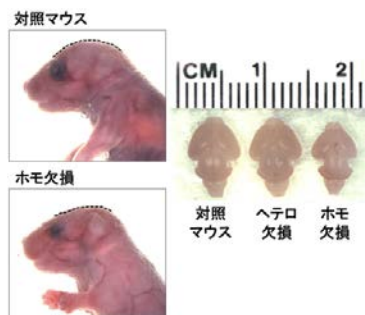
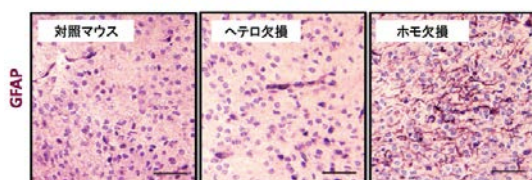


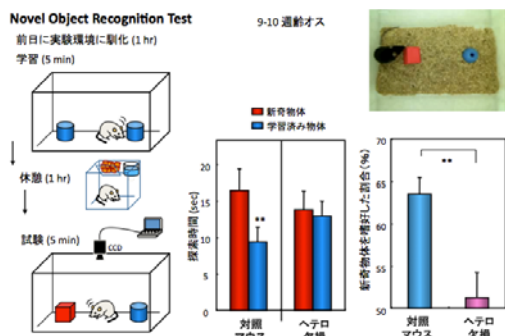
図3. 脳特異的SCAPホモ欠損新生仔の脳はグリオーシスを呈する



(3) 脳特異的 SCAP ヘテロ欠損マウスは出生後も生存し、STZ 糖尿病マウスと同様に、大脳皮質および視床下部において SREBP-2 経路の遺伝子発現が約 20%減少しており、脳におけるコレステロール合成も 29%低下していた。

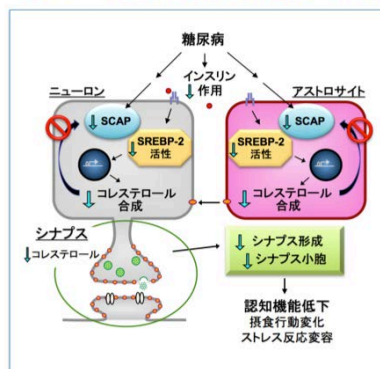
(4) 脳特異的 SCAP ヘテロ欠損マウスは海馬スライス電気生理で刺激後 LTP が STZ 糖尿病と同様著明に減弱していた。新奇物体認識試験の結果、対照マウスは新奇物体を好んで探索するのに対し、脳特異的 SCAP ヘテロ欠損マウスは学習済み物体と新奇物体を探索する時間に差を認めなかった (図 4)。

図4. 脳特異的SCAPヘテロ欠損マウスは認知・記憶能に障害がある



(5) 糖尿病に伴う認知機能低下の新規メカニズムとして脳における SCAP タンパク質の減少を提唱する上記の結果を、論文として報告した (図 5、Suzuki et al. PLoS Biology, 2013)。

図5. 糖尿病状態の脳におけるステロール合成と認知機能の低下



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 5 件)

- ① Suzuki R*, Ferris HA*, Chee MJ, Maratos-Flier E, Kahn CR. Reduction of the cholesterol sensor SCAP in the brains of mice causes impaired synaptic transmission and altered cognitive function. *PLoS Biol* 11:e1001532, 2013. [*equally contributed] doi: 10.1371/journal.pbio.1001532. 査読有
- ② Townsend K*, Suzuki R*, Huang TL, Jing E, Schulz T, Lee K, Taniguchi C, Espinoza DO, McDougall L, Kokkoto E, Tseng YH. Bone morphogenetic protein 7 (BMP7) reverses obesity and regulates appetite through a central mTOR pathway. *FASEB J* 26:2187-96, 2012. [*equally contributed] doi: 10.1096/fj.11-199067. 査読有
- ③ Yamada T, Hara K, Umematsu H, Suzuki R, Kadowaki T. Erectile dysfunction and cardiovascular events in diabetic men: a meta-analysis of observational studies. *PLoS One* 7:e43673, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0043673. 査読有
- ④ Bezy O, Tran TT, Pihlajamäki J, Suzuki R, Emanuelli B, Winnay J, Mori MA, Haas J, Biddinger SB, Leitges M, Goldfine AB, Patti ME, King GL, Kahn CR. PKC δ regulates hepatic insulin sensitivity and hepatosteatosis in mice and humans. *J Clin Invest* 121:2504-17, 2011. doi: 10.1172/JCI46045. 査読有
- ⑤ Mita T, Azuma K, Goto H, Jin WL, Arakawa M, Nomiyama T, Suzuki R, Kubota N, Tobe

K, Kadowaki T, Fujitani Y, Hirose T, Kawamori R, Watada H. IRS-2 deficiency in macrophages promotes their accumulation in the vascular wall. **Biochem Biophys Res Commun** 415:545-550, 2011. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.10.086. 査読有

[学会発表] (計9件)

- ① Ryo Suzuki et al. The Cholesterol sensor SCAP is reduced in brains of diabetic mice and alters cognitive function. 9th IDF-WPR Congress & 4th AASD Scientific Meeting、2012年11月26日(京都)
- ② 鈴木亮、他、ステロールセンサー分子SCAPは糖尿病の脳で減少し認知機能と摂食行動に影響する、第33回日本肥満学会、2012年10月12日(京都)
- ③ 鈴木亮、他、BMP7はmTOR経路を介して摂食を抑制する、第45回日本糖尿病学会年次学術集会、2012年5月19日(横浜)
- ④ 鈴木亮、他、ステロールセンサー分子SCAPは糖尿病の脳で減少し認知機能に影響する、第85回日本内分泌学会学術集会、2012年4月21日(名古屋)
- ⑤ 鈴木亮、他、ステロールセンサー分子SCAPは糖尿病の脳で減少し認知機能に影響する、第26回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会、2012年2月17日(名古屋)
- ⑥ 鈴木亮、他、BMP7はmTOR経路を介して摂食を抑制する、第32回日本肥満学会、2011年9月24日(淡路)
- ⑦ Ryo Suzuki. Diabetes affects brain cholesterol metabolism. The 54th Annual Meeting of Japanese Society for Neurochemistry (日本神経化学会)、2011年9月27日(石川)
- ⑧ Ryo Suzuki et al. Diabetes reduces the sterol sensor SCAP in the brain altering brain cholesterol metabolism and brain function. American Diabetes Association 71st Scientific Sessions、2011年6月25日(San Diego, USA)
- ⑨ 鈴木亮、他、糖尿病は脳においてステロールセンサー分子SCAPを減少させ内分泌異常・行動異常を惹起する、第54回日本糖尿病学会年次学術集会、2011年5月19日(札幌)

[図書] (計1件)

- ① 鈴木亮、インスリンによる脳コレステロール代謝調節、診断と治療社、糖尿病学2012(門脇孝 編)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 亮 (SUZUKI RYO)

東京大学・医学部附属病院・特任講師