

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：16301
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2013～2015
 課題番号：25462220
 研究課題名(和文) 血液脳関門の破綻により誘導される糖尿病性認知症への分子病態の解明と治療戦略

 研究課題名(英文) Elucidation of a preventive strategy against diabetic dementia induced by blood-brain barrier disruption

 研究代表者
 茂木 正樹(MOGI, MASAKI)

 愛媛大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

 研究者番号：20363236

 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：(1) KKAYの週齢毎の脳血管の光顕的な検討から、糖尿病においては、血液脳関門のような末梢細動脈での病変がまず起こり、次第に血管障害が細小動脈レベルの血管に広がっていくと考えられた。(2) レニン・アンジオテンシン系(RAS)の過剰発現系マウスを用いた検討から、RASが血液脳関門(BBB)の障害に一部影響を与えている可能性が示唆された。(3) AT2受容体の直接刺激薬(C21)の投与実験から、AT2受容体刺激はKKAY並びに血管性認知症モデルにおいて、認知機能の低下抑制効果が認められたことから、認知症予防の新たな治療薬になる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Type 2 diabetes mellitus has been highlighted as a major risk factor for cognitive decline associated with not only vascular dementia but also Alzheimer disease. We previously reported that BBB disruption was involved in T2DM-induced cognitive impairment. Here, we further investigated the relation between BBB disruption and diabetes. Results are shown below.
 (1) In diabetic mice, KKAY, BBB disruption is occurred at first. Then, vascular dysfunction may be spread out to small vessel disease via time-course observation of KKAY brain (unpublished data). (2) Renin-angiotensin system may be involving BBB disruption via evaluation of BBB in human-renin and human-angiotensinogen overexpressed mice. (3) Angiotensin II type 2 receptor stimulation has a preventive effect on diabetic dementia and vascular dementia models using direct AT2 receptor stimulation with C21. Therefore, AT2 receptor stimulation may have a potential as new therapeutical approach for diabetic dementia.

研究分野：老年病学

キーワード：糖尿病 認知機能 血液脳関門 レニン・アンジオテンシン系 AT2受容体

1. 研究開始当初の背景

(1) 認知症患者の増大は患者本人だけでなく、家族の介護負担を増大し、社会的にも経済的にも損失が大きい。発症の予防及び進展の抑制が急がれるが、現在の治療法は発症後の対症療法のため、根本的な治療には繋がっていない。最近、血管性認知症だけでなくアルツハイマー病においても生活習慣病が深く関与していることが報告され、特に糖尿病において、将来的に認知症になる危険性が非糖尿病患者に比べ高くなることが報告されている。しかし、糖尿病に起因する認知機能障害がどのように発症し進展するのかについて、詳しいメカニズムは未だよくわかっていない。

(2) 我々は脳における細小血管障害である血液脳関門 (BBB) の機能不全の有無に着目し、糖尿病マウス (KKAy) を用いて検討を行ってきた。KKAy マウスでは細小血管周囲で基底膜の脱落とアストロサイト終足の浮腫様拡大 (astrocytic end-feet) が生じており、BBB が破綻していることが示唆されたが、その詳しい分子メカニズムに関しては不明であった。最近我々は、RAS の臓器保護シグナルの一つであるアンジオテンシン II 2 型 (AT₂) 受容体刺激により、糖代謝にも密接に関係する因子として知られる peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) を活性化し臓器保護効果の一部を担う可能性を、血管障害モデルで見出した。そこで、レニン・アンジオテンシン系 (RAS) と PPAR を介した系に注目して検討を行うことを目的とした。

2. 研究の目的

我々が見出した糖尿病に起因する BBB 破綻についてのさらに詳しい分子メカニズムの解明と、RAS や PPAR- の関与について、さらに深く検討し、糖尿病性認知機能障害の予防と進展の阻止に繋がる治療法を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 糖尿病マウス (KKAy) の微小血管障害や BBB の破綻の起こるタイムコースを様々な週令の KKAy の脳切片を観察することで検討する。

(2) *in vitro* の実験系を構築し、高血糖・高インスリン・糖化最終生成物等の添加による TJP や MMP の変化や細胞増殖・細胞死を検討する。また脳切片において KKAy において血管の老化が進んでいるのかも併せて検討する。

(3) 脳血管周皮細胞 (ペリサイト) 機能に着目し、KKAy マウスにおけるペリサイトの増減を野生型マウスと比較する。

(4) 血管保護作用を持つ PPAR- に注目し、AT₂ 受容体シグナル PPAR- 活性が脳保護にどう働くかをマウスモデルにて検討する。

4. 研究成果

(1) KKAy の週令により血管障害が起こる度合いについて検討したところ、KKAy では 12 週令の段階では、まだ顕微鏡レベルでは細小血管周囲のアストロサイトと思われる膨化は認められなかった。16 週令においては、電顕レベルでの変化は認められるものの、顕微鏡レベルでは細小血管周囲の変化は認めなかった。しかし、20 週令になると顕微鏡レベルにおいても基底核や海馬周辺など広い場所において細小血管周囲での膨化様の変化が見出され、24 週令でも脳内に幅広く同様の所見が認められた (図 1: unpublished data)。このことから、糖尿病においては、血液脳関門のような末梢細動脈での病変がまず起こり、次第に血管障害が細小動脈レベルの血管に広がっていくと考えられた。

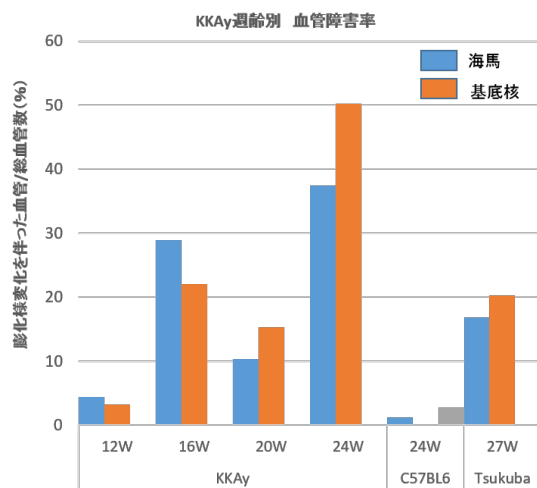


図 1. KKAy における週令別の血管障害の顕微鏡による検討結果 (unpublished data)

(2) *in vitro* の実験系による検討に関しては、ペリサイトの培養については何度か計画して試行したが、安定した培養条件が得られず、また、脳切片による老化の検討も進めたが、老化を明確に示す染色結果が得られなかった。

(3) レニン・アンジオテンシン系 (RAS) が血液脳関門 (blood brain barrier: BBB) にどのような影響を与えるかについて、RAS を過剰に発現するヒトレニン・ヒトアンジオテンシノーゼントランスジェニックマウス (hRA-TG) を用いて脳血管の変化について KKAy と同様に BBB の顕微鏡・電顕での検討を行った (図 1)。27 週令 (半年齢) の hRA-TG マウスでは膨化を伴った血管障害が観察されたものの、KKAy と比較するとその数は少なく、RAS の影響も一部あるものの、糖代謝異常が血管障害を誘導している可能性が示唆された。

(4) 我々がこれまでに脳保護効果を報告している AT₂ 受容体刺激に着目して、AT₂ 受容体の直接刺激薬 (C21) を投与した実験を行った。KKAy 並びに血管性認知症モデルに投与し、糖尿病や血管障害マウスにおける認知機能

への影響を検討したところ、糖尿病マウスではC21の投与で認知機能が軽度改善する効果が認められたが、NMDA受容体の遮断薬であるメマンチンと併用することで認知機能の低下を防ぐことが見出された(雑誌論文)。さらに、血管障害に着目して総頸動脈狭窄によって誘導される血管性認知症マウスモデルにC21を投与したところ、血流改善効果から認知機能の低下を抑制した(雑誌論文)。また、C21は脳梗塞発症後の投与でも脳梗塞巣の大きさを軽減する効果があることが見出され(雑誌論文)、血管保護によるneurovascular unitの保護作用を介して神経保護に働く可能性が示唆された。現在この脳保護作用にAT₂/PPAR系がどう影響しているかについて検討を進めている。

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 3件)

Iwanami J, Mogi M, Tsukuda K, Wang XL, Nakaoka H, Kan-no H, Chisaka T, Bai HY, Shan BS, Kukida M, Horiuchi M. Direct angiotensin II type 2 receptor stimulation by compound 21 prevents vascular dementia. J Am Soc Hypertens. 査読有、9巻、4号、pp 250-256、2015年。

Min LJ, Mogi M, Tsukuda K, Jing F, Ohshima K, Nakaoka H, Kan-No H, Wang XL, Chisaka T, Bai HY, Iwanami J, Horiuchi M. Direct stimulation of angiotensin II type 2 receptor initiated after stroke ameliorates ischemic brain damage. Am J Hypertens. 査読有、27巻、8号、pp1036-1044、2014年

Iwanami J, Mogi M, Tsukuda K, Jing F, Ohshima K, Wang XL, Nakaoka H, Kan-no H, Chisaka T, Bai HY, Min LJ, Horiuchi M. (2014) Possible synergistic effect of direct angiotensin II type 2 receptor stimulation by compound 21 with memantine on prevention of cognitive decline in type 2 diabetic mice. Eur J Pharmacol. 査読有、724巻、pp9-15、2014年。

〔学会発表〕(計 4件)

茂木正樹、Neuroinflammation and Hypertension. 第38回日本高血圧学会総会、シンポジウム、2015年10月9日、ひめぎんホール、愛媛県松山市

茂木正樹、認知症と高血圧、第34回日本認知症学会学術集会、シンポジウム、2015年10月2日、リンクステーションホール青森、青森県青森市

茂木正樹、脳のアンチエイジング-Next Decade-、第15回日本抗加齢医学会総会、若手研究者プログラムセッション、2015年5月29日、福岡国際会議場、福岡県福岡市

茂木正樹、実老化を予測することはできるのか、第14回日本抗加齢医学会総会、プレシンポジウム、2014年6月6日、大阪国際会議場、大阪府大阪市

〔図書〕(計 1件)

Mogi M, Horiuchi M. (2015) Animal Models with a Genetic Alteration of AT2 Expression, The Protective Arm of the Renin Angiotensin System (RAS), Functional Aspects and Therapeutic Implications (Unger T, Steckelings UM and dos Santos RA) pp 17-22, Academic Press, Boston.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.m.ehime-u.ac.jp/school/biochem1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

茂木 正樹 (MOGI, Masaki)

愛媛大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：20363236

(2) 研究分担者

堀内 正嗣 (HORIUCHI, Masatsugu)

愛媛大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：40150338

岩波 純 (IWANAMI, Jun)

愛媛大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：90624792

(3)連携研究者

大島弘世 (OHSHIMA, Kousei)

愛媛大学・大学院医学系研究科・医員

研究者番号：10598626

佃 架奈 (TSUKUDA, Kana)

愛媛大学・大学院医学系研究科・研究員

研究者番号：90647653