

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：83903

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26282026

研究課題名(和文) 慢性の高脂肪食摂取による学習記憶障害誘導経路の同定と解析

研究課題名(英文) Identification and analyses on inductive pathway in impairment of memory and learning caused by chronic intake of high fat diet

研究代表者

田口 明子 (TAGUCHI, Akiko)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・統合加齢神経科学研究部・部長

研究者番号：80517186

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：これまでの我々の研究結果から、記憶学習調節に脳インスリンシグナルが関与することが示唆されていた。本研究において、糖尿病を伴う前認知症モデルとして利用を確立したD10マウスの記憶学習能の衰退に脳インスリンシグナルの変化が関与することを見出した。さらに、交換輸血およびパラバイオーシス実験から、D10マウスの記憶学習能の障害は血中因子が関与することが明らかとなり、我々はタンパク質多項目解析から、候補因子群を同定した。その1つは、脳インスリンシグナルに作用し、さらに同定因子関連薬剤もD10マウスの記憶学習能に影響を与えることを突止めた。

研究成果の概要(英文)：Our previous study suggested that brain insulin signaling is involved in the regulation of memory and learning. In the present study, we show that D10 mice, a potential model animals of pre-dementia with diabetes, in which impairment of memory and learning was accompanied by altered brain insulin signaling. Here, using exchange blood transfusion and heterochronic parabiosis between D10 mice and WT mice, we found that decline in memory and learning in D10 mice may be associated with diabetes-induced blood-borne factors, and then identified several blood factors through protein array system. Moreover, our data also indicate that one of those interacts with brain insulin signaling, and its related drugs affect memory and learning in D10 mice.

研究分野：複合領域

キーワード：糖尿病 記憶学習能 インスリンシグナル 老化 血中因子 体系的記憶学習調節機構 交換輸血 パラバイオーシス

1. 研究開始当初の背景

慢性的な高脂肪食摂取は、メタボリックシンドロームや生活習慣病を促進することは周知されているが、同時に、記憶学習能を障害することが判ってきたが、その障害誘導機構は不明であった。近年、代表的な生活習慣病である糖尿病が認知症の重要なリスク要因であることが明らかにされ、糖尿病による認知機能障害から認知症へ至る誘導機構の解明が認知機能障害の根本的な発症機序の理解へと繋がることが期待されているが、糖尿病を伴う前認知症モデルは確立されていなかった。我々は、糖尿病を伴う前認知症モデルとして、慢性的高脂肪食摂取生理的糖尿病発症モデル (Diet Induced Obesity :DIO) マウスの利用を確立した。また、我々を含む近年の研究から、糖代謝調節経路であるインスリンシグナルの脳での低下・欠損は個体の寿命を延長し (Science 2007; 2008)、アルツハイマーモデルの病態を改善すること (FASEB 2009; BBRC 2010) が明らかとなり、脳インスリンシグナルが記憶学習能の調節に関与することが示唆されていた。

2. 研究の目的

我々は、記憶学習能の衰退を示す老齢マウスの脳インスリンシグナルが変化することを見出していることから、同じく、記憶学習障害を呈する糖尿病付随前認知症モデル、DIO マウスの脳インスリンシグナルの変化について検討し、脳インスリンシグナルと記憶学習調節の関係を明らかにすることを目的の1つとした。さらに、我々は、DIO マウスにおける記憶学習能の障害が、糖尿病により誘導される特異的な血中因子を介したものであるかどうかについて検討するため、マウスを用いた解析スクリーニング系を構築した。この実験系を用いて、高脂肪食の慢性的摂取に起因する糖尿病によって血中に誘導され、記憶学習能に影響を与える液性因子の存在の有無を明らかにし、存在が確認された場合は、原因分子を同定することを次の目的とした。さらに、候補分子の同定後は、分子の作用機序を明らかにする目的のため、以下の方法で計画を実施した。

3. 研究の方法

記憶学習障害を呈するDIOマウスの脳インスリンシグナルの変化について検討するため、海馬タンパク質を用いた生化学的手法を用いて解析した。次に、海馬特異的記憶学習能と正の相関が知られる海馬の神経細胞新生について、免疫組織学的手法を用いて解析を行った。さらに、DIOマウスの記憶学習能の低下が、糖尿病誘導性血中因子を介したものであるかどうかについて検討するため、DIOマウスおよび同齢野生型 (Wild Type:WT) マウスそれぞれの血中から分離した血清あるいは血漿を用いて、DIOマウスとWTマウス間の交換輸血およびパラバイオーシス実験

を行い、海馬特異的記憶能テストであるWater T-maze (WTM)テストにより記憶学習能を評価した。

血中タンパク質の同定は、DIOマウスおよび同齢WTマウスそれぞれの血中から分離した血清あるいは血漿を用いたマルチプレックスアレイ、ELISA解析によって行った。同定された液性因子の選定は、若齢WTマウスへの投与後、WTMテストにより精査し、その後、海馬インスリンシグナル、海馬神経新生について解析を行い、効果について検討した。

4. 研究成果

本研究から、DIOマウスの海馬インスリンシグナルは、老齢マウスと同様に変化し、認知機能の衰退に付随することが示唆された。また、記憶学習能の衰退を呈するDIOマウス海馬の神経細胞神経についての解析から、神経幹細胞/前駆体細胞の増殖能および神経細胞系譜分化能の有意な低下と糖尿病に伴う神経炎症の亢進が観察された。さらに、DIOマウスおよび同齢WTマウスそれぞれの血清あるいは血漿を用いた交換輸血およびパラバイオーシス実験から、WTマウスの記憶学習能は有意に低下し、海馬インスリンシグナルの変化および神経細胞新生の低下も観察されたことから、DIOマウスの記憶学習障害にも血中因子が関与する可能性が示された。次に、DIOマウスおよび同齢WTマウスそれぞれの血清あるいは血漿を用いたマルチプレックスアレイ、ELISA解析による既存タンパク質のスクリーニングから、DIOマウス血中で有意に変化する血中因子を複数同定した。その中の1つの因子は、脳インスリンシグナルと相互作用する可能性が示され、さらに、同定因子関連薬剤もDIOマウスの認知機能に影響を与えることを突き止めた。これらの研究成果について、現在、特許申請準備中および論文投稿準備中である。

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 20 件)

1. Ishii N, Mochizuki H, Taniguchi A, Shiomi K, Nakazato M. Severe Orthostatic Hypotension due to Unilateral Carotid Artery Dissection. *Neurol Int.* 6(2):5352. 2014 [査読有]
2. Ueno H, Mizuta M, Shiiya T, Tsuchimochi W, Noma K, Nakashima N, Fujihara M, Nakazato M. Exploratory trial of intranasal administration of glucagon-like peptide-1 in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 37(7):2024-7 2014. [査読有]
3. 田口明子. :インスリン様シグナルとアルツ

- ハイマー病 – 認知機能調節におけるインスリン様シグナルの役割 – *医学のあゆみ* 249(6): 535-538, 2014[査読無]
4. 田口明子.: 脳の老化とインスリン様シグナル *脳* 21, 17(2): 110-115, 2014[査読無]
5. Tsuchimochi W, Ueno H, Yamashita E, Tsubouchi C, Sakoda H, Nakamura S, Nakazato M. Teneligliptin improves glycemic control with the reduction of postprandial insulin requirement in Japanese diabetic patients. *Endocr J.* 62(1):13-20 2015. [査読有]
6. Kawakami E, Tokunaga A, Ozawa M, Sakamoto R, Yoshida N. The histone demethylase Fbxll1 plays an essential role in embryonic development by repressing cell-cycle regulators. *Mechanisms of Development* 135, 31-42 2015. [査読有]
7. Tada H, Koide M, Ara W, Shibata Y, Funabashi T, Suyama K, Goto T, Takahashi T. Estrous Cycle-Dependent Phasic Changes in the Stoichiometry of Hippocampal Synaptic AMPA Receptors in Rats. *PLoS one.* 10(6):e0131359, 2015. [査読有]
8. Matsumoto T, Fujimori K, Andoh-Noda T, Ando T, Kuzumaki N, Toyoshima M, Tada H, Imaizumi K, Ishikawa M, Yamaguchi R, Isoda M, Zhou Z, Sato S, Kobayashi T, Ohtaka M, Nishimura K, Kurosawa H, Yoshikawa T, Takahashi T, Nakanishi M, Ohyama M, Hattori N, Akamatsu W, Okano H. Functional Neurons Generated from T Cell-Derived Induced Pluripotent Stem Cells for Neurological Disease Modeling. *Stem Cell Reports*, 6(3) 422-435, 2016. [査読有]
9. Tokunaga A, Anai H, Hanada K. Mechanisms of gene targeting in higher eukaryotes. *Cell Mol Life Sci.* 73(3):523-33, 2016. [査読有]
10. Hijiya N, Tsukamoto Y, Nakada C, Tung NL, Kai T, Matsuura K, Shibata K, Inomata M, Uchida T, Tokunaga A, Amada K, Shirao K, Yamada Y, Mori H, Takeuchi I, Seto M, Aoki M, Takekawa M, Moriyama M. Genomic loss of DUSP4 contributes to the progression of intraepithelial neoplasm of pancreas to invasive carcinoma. *Cancer Res.* 76: 2612-2625, 2016. [査読有]
11. Kai T, Tsukamoto Y, Hijiya N, Tokunaga A, Nakada C, Uchida T, Daa T, Iha H, Takahashi M, Nomura T, Sato F, Mimata H, Ikawa M, Seto M, Matsuura K, Moriyama M. Kidney-specific knockout of Sav1 in the mouse promotes hyper-proliferation of renal tubular epithelium through suppression of the Hippo pathway. *J Pathol.* 239(1):97-108, 2016. [査読有]
12. Matsumoto T, Fujimori K, Andoh-Noda T, Ando T, Kuzumaki N, Toyoshima M, Tada H, Imaizumi K, Ishikawa M, Yamaguchi R, Isoda M, Zhou Z, Sato S, Kobayashi T, Ohtaka M, Nishimura K, Kurosawa H, Yoshikawa T, Takahashi T, Nakanishi M, Ohyama M, Hattori N, Akamatsu W, Okano H. Functional Neurons Generated from T Cell-Derived Induced Pluripotent Stem Cells for Neurological Disease Modeling. *Stem Cell Reports.* 8:6(3):422-35, 2016. [査読有]
13. Jitsuki S, Nakajima W, Takemoto K, Sano A, Tada H, Takahashi-Jitsuki A, Takahashi T. Nogo Receptor Signaling Restricts Adult Neural Plasticity by Limiting Synaptic AMPA Receptor *Delivery. Cerebral cortex.* 26(1):427-39, 2016. [査読有]
14. Takahashi M, Tsukamoto Y, Kai T, Tokunaga A, Nakada C, Hijiya N, Uchida T, Daa T, Nomura T, Sato F, Mimata H, Matsuura K, Moriyama M. Downregulation of WDR20 due to loss of 14q is involved in the malignant transformation of clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Sci.* 107(4):417-23, 2016. [査読有]
15. Tada H, Tokunaga A, Tanokashira D, Kurata E, Taguchi A. : Role of metabolic signaling in the regulation of cognitive functions. *Biomedical Gerontology*, 40(2) 9-14, 2016. [査読有]
16. 多田敬典、高橋琢哉: ストレスと認知機能. *生体の科学*, 67(1) 47-50, 2016. [査読無]
17. Fujimori K, Tezuka T, Ishiura H, Mitsui J, Doi K, Yoshimura J, Tada H, Matsumoto T, Isoda M, Hashimoto R, Hattori N, Takahashi T, Morishita S, Tsuji S, Akamatsu W, Okano H. Modeling neurological diseases with induced pluripotent cells reprogrammed from immortalized lymphoblastoid cell lines. *Mol Brain*, 9(1):88. 2016. [査読有]
18. Tada H, Miyazaki T, Takemoto K, Takase K, Jitsuki S, Nakajima W, Koide M, Yamamoto N, Komiya K, Suyama K, Sano A, Taguchi A, Takahashi T. : Neonatal isolation augments social dominance by altering actin dynamics in the medial prefrontal cortex. *PNAS*, 113(45): E7097-E7105, 2016. [査読有]
19. Takemoto K, Iwanari H, Tada H, Suyama K, Sano A, Nagai T, Hamakubo T, Takahashi T. : Optical inactivation of synaptic AMPA receptors for artificial memory erasure. *Nat Biotechnol*, 35(1):38-47 2017. [査読有]
20. Tanokashira D, Mamada N, Yamamoto F, Taniguchi K, Tamaoka A, Lakshmana MK, Araki W. : The neurotoxicity of amyloid β -protein oligomers is reversible in a primary neuron model. *Mol Brain*. ; 10(1):4. 2017. [査読有]

[学会発表] (計 23 件)

1. 田口明子: 代謝障害に伴う体系的脳老化
節機構—インスリン様シグナルを介した
記憶学習機能の調節— 国立長寿医療研究セ
ンター 第1回もの忘れセンター/NCG
セミナー: 2014年4月10日:愛知県大府市、
日本
2. 田口明子: 認知機能調節における脳 IRS2 の
機能. 第29回糖尿病合併症学会
2014年10月3-4: 東京、日本
3. Akiko Taguchi, Manabu Makinodan,
Toshifumi Kishimoto, Gabriel Corfas, and
Morris White.: Neural IRS2 deficiency
prevents age-related cognitive decline.
The 37th Annual Meeting of the Japan
Neuroscience Society: September 11-13,
2014, Yokohama, Japan
4. 田口明子: 脳インスリン様シグナルと
認知機能障害. 第88回日本内分泌学会学術
総会, 2015年4月24日, 東京
5. 田口明子: 糖尿病と認知症、特にインスリン
の功罪について. 第3回郡山糖尿病と血管
障害研究会, 2015年6月17日, 郡山市
6. 田口明子: インスリンシグナルをイン
ターフェイスにした糖尿病、老化、認知症の
新たな相関. 日本老年医学会, 第9回老年医学
サマーセミナー, 2015年7月30日, 軽井沢、
日本
7. 田口明子, 牧ノ段学, Gabriel Corfas,
Morris White.: 代謝調節シグナルを介した成
体脳海馬神経細胞新生・認知機能調節機構
第11回成体脳のニューロン新生懇談会,
2015年11月14日, 名古屋
8. 徳永暁憲, 川上絵理、濱田文彦、田口明
子, 吉田進昭. ヒストン脱メチル化酵素
Fbx111による神経分化制御機構の解析
第11回成体脳のニューロン新生懇談会,
2015年11月14日, 名古屋
9. 山本耕裕、福岡屋航、川邊健士朗、倉田
栄子、田口明子. 糖尿病は海馬インスリンシ
グナルを介して成体海馬の神経細胞新生・認
知機能を低下させる. 第11回成体脳のニュー
ロン新生懇談会, 2015年11月14日, 名古屋
10. 徳永暁憲, 福岡屋航、川邊健士朗、倉田
栄子、山本耕裕、田口明子. 糖尿病における
認知機能障害と海馬インスリンシグナルの
関連
第30回日本糖尿病合併症学会, 2015年11月
28日, 名古屋
11. Akiko Taguchi: Inductive mechanism of
cognitive impairment through neural
insulin-like Signaling – How does glucose
metabolism disorders affect cognitive
function? The 11th International
Symposium on Geriatrics and Gerontology,
Feb 6 2016, Obu, Japan
12. Hirobumi Tada, Akinori Tokunaga,
Wataru Fukuokaya, Eiko Kurata,
Akiko Taguchi: Hippocampal

- insulin-like-signaling induces
impairment of cognitive function and adult
neurogenesis in diabetic model mice.
第8回 NAGOYA グローバルリトリート, 2016
年2月12日, 大府市
13. 田口明子: 認知機能調節における脳イ
ンスリン様シグナルの役割. 第14回関西・
中部認知症研究会, 2016年3月5日, 名古屋
14. 徳永暁憲, 福岡屋航、川邊健士朗、倉田
栄子、山本耕裕、田口明子. 海馬インスリン
様シグナルを介した糖尿病随伴認知機能障
害の発症機序の解明. 第30回日本糖尿病・
肥満動物学会, 2016年3月11日, 大宮
15. Akiko Taguchi: Link between Diabetes
mellitus and Alzheimer's
disease-Inductive mechanism of
Alzheimer's disease through interactions
between neural insulin-like signaling and
systemic metabolic change.
Eli Lilly 2nd Innovation Day in Japan, Sep 9,
2016, Tokyo, Japan
16. 田之頭大輔, 福岡屋航、川邊健士朗、徳永
暁憲, 多田敬典, 柏田舞波、佐治多
美子、倉田栄子、田口明子. アルツハイマー病
発症における海馬インスリン様シグナルの関
与. 第31回日本糖尿病合併症学会 2016年10
月7-8, 仙台、日本
17. 田之頭大輔, 田口明子. 糖尿病に伴う認知機
能低下と海馬 IRS2 シグナルとの関連.
第35回認知症学会学術集会, 2016年12月1-3、
東京、日本
18. Akiko Taguchi: Altered hippocampal
insulin-like signaling correlates with
diabetes-related cognitive decline.
Memory Mechanisms in Health and Disease,
Zing Conferences, Dec 5-8, 2016, Tampa,
Florida, USA.
19. 田之頭大輔, 徳永暁憲, 多田敬典, 柏田舞
波、佐治多美子、田口明子. アルツハイマー病
発症における海馬 IRS2 シグナルの関与.
第31回日本糖尿病・肥満動物学会 2017年2
月10-11日、横浜市、日本
20. 多田敬典, 徳永暁憲, 田之頭大輔, 佐治多
美子、柏田舞波、田口明子. 糖尿病に伴う認知
機能障害における前頭葉・海馬神経ネットワ
ク制御機構の解析. 第31回日本糖尿病・肥満動
物学会 2017年2月10-11日、横浜市、日本
21. 徳永暁憲, 多田敬典, 田之頭大輔, 佐治多
美子、柏田舞波、田口明子. 糖尿病随伴認知機
能障害の発症過程における海馬インスリン様
シグナルの変容. 第31回日本糖尿病・肥満動
物学会 2017年2月10-11日、横浜市、日本
22. 田口明子: 認知機能障害に伴う中枢神経
系特異的インスリンシグナルの変容. 第51回
糖尿病学の進歩 2017年2月17-18日、京都
市、日本
23. Hirobumi Tada, Akinori Tokunaga,
Daisuke Tanokashira, Mana Kashiwada, Tamiko
Saji, Akiko Taguchi: Mechanisms of
cognitive impairment induced by altering

the insulin-like signaling in the prefrontal cortex of diabetic model mice. 第94回日本生理学会大会 2017年3月28-30日、浜松市、日本

〔図書〕(計 1 件)

田口明子.: 脳インスリン様シグナル.

脳内環境事典 メディカルドゥ社 P 74-75,

2016

〔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

統合加齢神経科学研究部ホームページ
<http://www.ncgg.go.jp/research/organization/togokarei.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田口 明子 (TAGUCHI, Akiko)
宮崎大学・医学部・准教授
(~2014年12月)
国立長寿医療研究センター・統合加齢神経科学研究部・部長 (2015年1月~)
研究者番号: 80517186

(2) 研究分担者

上野 浩晶 (UENO, Hiroaki)
宮崎大学・医学部・助教
研究者番号: 00381062

望月 仁志 (MOCHIZUKI, Hitoshi)
宮崎大学・医学部・講師
研究者番号: 50501699

塩見 一剛 (SHIOMI, Kazutaka)
宮崎大学・医学部・准教授
研究者番号: 40305082

徳永 暁憲 (TOKUNAGA, Akinori)
国立長寿医療研究センター・統合加齢神経科学研究部・室長
研究者番号: 70549451

多田 敬典 (TADA, Hirobumi)
国立長寿医療研究センター・統合加齢神経科学研究部・室長
研究者番号: 20464993

田之頭 大輔 (TANOKASHIRA, Daisuke)
国立長寿医療研究センター・統合加齢神経科学研究部・研究員
研究者番号: 80724575

(3) 連携研究者
なし

(4) 研究協力者

山本 耕裕 (YAMAMOTO, Yasuhiro)
福岡屋 航 (FUKUOKAYA, Wataru)
川邊 健士朗 (KAWABE, Kenshiro)
倉田 栄子 (KURATA, Eiko)
柏田 舞波 (KASHIWADA, Mana)
佐治 多美子 (SAJI, Tamiko)