

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04839

研究課題名(和文) アルツハイマー病脳で生じるインスリン抵抗性に関する実証的研究

研究課題名(英文) Validation study on insulin resistance occurring in brain of Alzheimer disease

研究代表者

池内 健 (Ikeuchi, Takeshi)

新潟大学・脳研究所・教授

研究者番号：20372469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病がアルツハイマー病の発症に関与することが多くの疫学研究で示されている。しかし、その詳細な分子機序は不明である。研究代表者らは、培養細胞アッセイ系を用いた解析により、中枢神経におけるインスリン抵抗性がアルツハイマー病の病態に関与することを示唆する知見を蓄積してきた。本研究課題では、ヒト剖検脳を用いた網羅的な遺伝子発現解析を行い、生体内で生じるインスリンシグナル伝達ネットワークの破綻を実証することを試みた。アルツハイマー病脳では、インスリンシグナル関連分子群の遺伝子発現が有意に変動しており、中枢神経におけるインスリン抵抗性の関与について実証することができた。

研究成果の概要(英文)：Numerous epidemiological studies have suggested that type 2 diabetes is a risk factor of Alzheimer's disease. However, the detailed underlying mechanism has been largely unclear. We previously showed that insulin resistance in central nervous system plays an important role of the pathogenesis of Alzheimer's disease. In this study, we attempted to validate impaired insulin signal network occurring in brain of Alzheimer's disease by analyzing autopsied samples. By this analysis, we demonstrated that expressions of molecules associated with insulin signal were significantly altered, supporting the notion that insulin resistance is present in human brain of Alzheimer's disease.

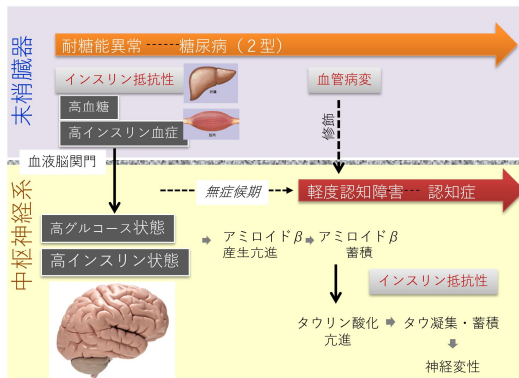
研究分野：神経内科学

キーワード：遺伝子発現 認知症

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病を始めとする代謝恒常性の破綻がアルツハイマー病の発症に関与することが注目されている。疫学研究である久山町研究では、中年期の 75g OGTT の 2 時間値とインスリン抵抗性指標 (HOMA-R) がアルツハイマー病の有意なリスクになることが報告されている。糖尿病とアルツハイマー病の関連に関する疫学的な知見は数多く存在するが、その分子実態は不明である。糖尿病患者の末梢で生じる高血糖・高インスリン血症が長い期間を経て、アルツハイマー病脳で生じるアミロイドβ蓄積、異常リン酸化タウの蓄積を誘発するメカニズムが想定されている(図1)。

図1



我々は、アミロイドβ産生により神経細胞にインスリン抵抗性が生じ、インスリン抵抗性がリン酸化タウを惹起することを初代神経培養細胞を用いた先行研究により明らかにした。

### 2. 研究の目的

本研究は糖尿病がアルツハイマー病を引き起こす分子病態を実証すべく、多層的、網羅的に解析することにより、中枢神経におけるインスリン抵抗性が関与するアルツハイマー病の病態機序を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

アルツハイマー病患者由来剖検脳 (n=29) と対照脳 (n=24) から全 RNA を抽出した。Braak 神経原線維変化ステージ分類では、0期 10例、I-II 期 9例、III-IV 期 7例、V-VI 期 24例である。RNA 品質の指標となる RNA integrity number (RIN) を Bioanalyzer による測定し、RIN 値 6.8-7.8 を示した。500ng の全 RNA を用いてライブラリーを作成し、次世代シーケンサーで網羅的な RNA ペアエンドリードを取得した。多重検定 FDR<0.05 の基準を超える変動を示した遺伝子を抽出した。変動した遺伝子をクラスターとして再構成し、分子機能による遺伝子発現変動を解析した。またクラスター分類に加え、タンパク-タンパク相互作用に関するデータベース BioGRID を用い、特定の分子の変動が、どのようなモジュール

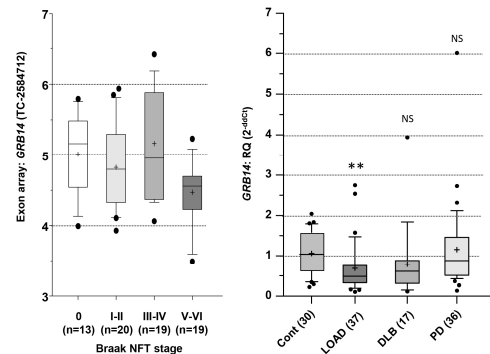
を形成するかを検討した。さらに、DAVID (Database for annotation, visualization and integrated discovery) による変動分子をパスウェイとしてとらえる試みを行った。

### 4. 研究成果

多重検定 FDR<0.05 基準を超える変動を示した 771 個の遺伝子を同定した (有意に発現上昇 663 遺伝子, 有意に発現減少 138 遺伝子)。これら変動した遺伝子をクラスターに分割すると 6 群に分類された。クラスター 1: ニューロン・シナプス, 2: アストロサイト, 3: ミトコンドリア, 4: オリゴデンドロサイト・ミエリン, 5: 血管, 6: ミクログリア。クラスター 1 (ニューロン・シナプス) は Braak ステージ V-VI で低下を示した。クラスター 4 (オリゴデンドロサイト・ミエリン) は Braak ステージ III-IV から低下を始めた。クラスター 2 (アストロサイト) とクラスター 6 (ミクログリア) は Braak V-VI から低下を示した。

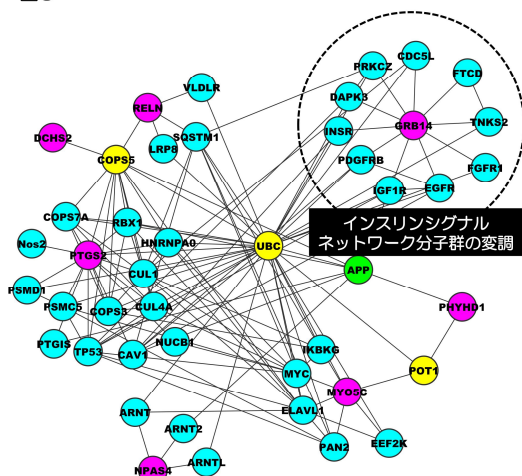
GRB1 の遺伝子発現が Braak ステージ V-VI において有意な低下を示すとともに、アルツハイマー病脳に特徴的に発現変動を示した (図 2)。

図2



GRB1 の発現低下はインスリン受容体、インスリン成長因子受容体の発現変動を連動しており、インスリンシグナルパスウェイの破綻がアルツハイマー病脳で生じていることが示唆された (図 3)。GRB1 は、インスリン刺激によりインスリン受容体と結合し、インスリンシグナルを抑制することが明らかにされている。これらの知見は、アルツハイマー病脳における神経原線維変化の進展とインスリンシグナルネットワークの破綻を関連付けるデータと考えられた。

図3



## 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)

- 1) Kidana K, Tatebe T, Ito K, Hara N, Kakita A, Saito T, Ouchi Y, Makino M, Ikeuchi T, Saido TC, Akishita M, Iwatsubo T, Hori Y, Tomita T. Astrocyte-derived kallikrein-related peptidase 7 attenuates amyloid- $\beta$  deposition in a mouse model of Alzheimer disease. *EMBO Molecular Medicine* (印刷中)
- 2) Mano T, Ohtomo R, Nagata K, Takahashi-Fujigasaki J, Murayama S, Saido TC, Yamashita S, Ushijima T, Hashimoto T, Tamaoka A, Ikeuchi T, Iwatsubo T, Tsuji S, Iwata A. Neuron-specific methylome analysis reveals epigenetic regulation of BRCA1 and its tau-related dysfunction in Alzheimer's disease. *PNAS USA* (印刷中)
- 3) Morihara R, Yamashita T, Deguchi K, Kurata T, Nomura E, Sato K, Nakano Y, Ohta Y, Hishikawa N, Ikeuchi T, Kitaguchi M, Abe K. Familial and sporadic chronic progressive degenerative parietal ataxia. *Journal of Neurological Science* 387:70-74, 2018
- 4) Hasegawa I, Takeda A, Hatsuta H, Kubo Y, Osawa M, Nakano Y, Ikeuchi T, Hasegawa M, Murayama S, Itoh Y. An autopsy case of globular glial tauopathy presenting with clinical features of motor neuron disease with dementia. *Neuropathology* (in press)
- 5) Takahashi Y, Ohta Y, Sasaki R, Tadokoro K, Sato K, Shang J, Takemoto M, Hishikawa N, Yamashita T, Haraguchi T, Ikeuchi T, Abe K. A novel presenilin 1 mutation (Leu418Trp) associated with spasticity, parkinsonism, and white matter lesion in a dominant Alzheimer's family. *Journal of Neurological Science* 387:166-169, 2018
- 6) Nakamura S, Hara T, Joh T, Kobayashi A, Yamazaki A, Kasuga K, Ikeuchi T, Ohtsubo

K. Effects of super-hard rice bread blended with black rice bran on amyloid  $\beta$  peptide production and abrupt increase in postprandial blood glucose levels in mice. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry* 81: 323-334, 2017

- 7) Tagami S, Yanagida K, Kodama TS, Takami M, Mizuta N, Oyama H, Nishitomi K, Chui YW, Okamoto T, Ikeuchi T, Sakaguchi G, Kudo T, Matuura Y, Fukumori A, Takeda M, Ihara Y, Okochi M. Semagacestat is a pseudo-inhibitor of  $\gamma$ -secretase. *Cell Reports* 21: 259-273, 2017
- 8) Watanabe Y, Kitamura K, Nakamura K, Sanpei K, Wakasugi M, Yokoseki A, Kabasawa K, Onodera O, Ikeuchi T, Kuwano R, Momotsu T, Narita I, Endo N. The association of dialysis treatment and cognitive decline: a study from the Project in Sado for Total Health (PROST), Japan. *Geriatrics Gerontology International* 17:1584-1587, 2017
- 9) Hosaka T, Ishii K, Miura T, Mezaki N, Kasuga K, Ikeuchi T, Tamaoka A. A novel frameshift GRN mutation results in frontotemporal lobar degeneration presenting a distinct clinical phenotype in a family: a literature review. *BMC Neurology* 17: 182, 2017
- 10) Hara N, Kikuchi M, Miyashita A, Hatsuta H, Saito Y, Kasuga K, Murayama S, Ikeuchi T, Kuwano R. Serum microRNA miR-501-3p as a potential biomarker related to the progression of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications* 5:10, 2017

[学会発表](計10件)

- 1) 池内 健. アルツハイマー病の遺伝因子と臨床的意義. シンポジウム「ゲノム医療の活用」第59回日本老年医学会学術集会. 2017.6.14. 名古屋国際会議場(名古屋市)
- 2) 池内 健. シンポジウム「アルツハイマー病のリスク遺伝子とその分子病態」アルツハイマー病の遺伝的因子と新規リスク遺伝子の探索. 第36回日本認知症学会. 2017.11.24. 金沢県立音楽堂(金沢市)
- 3) 池内 健. シンポジウム「認知症を呈する白質脳症」分子遺伝学を基盤とした成人発症大脳白質脳症の理解. 第36回日本認知症学会. 2017.11.26. 金沢県立音楽堂(金沢市)
- 4) Ishiguro T, Kasuga K, Saito K, Mezaki N, Miura T, Onodera O, Ikeuchi T. The effect of neuronal activity on  $\beta$ -amyloid precursor protein (APP) processing in cultured cells. 23rd World Congress of Neurology. 2017.9.16. Kyoto, Japan
- 5) Kasuga K, Tokutake T, Miura T, Mezaki N, Ishiguro T, Onodera O, Ikeuchi T.

- Alzheimer's disease related cerebrospinal fluid biomarkers in patients with neurological disorders. 23rd World Congress of Neurology. 2017.9.16, Kyoto, Japan
- 6) Tokutake T, Kasuga K, Ishiguro T, Miura T, Mezaki N, Hirai K, Onodera O, Ikeuchi T. Characteristic clinical presentations and CSF biomarker features in patients with semantic dementia. 23rd World Congress of Neurology. 2017.9.16, Kyoto, Japan
  - 7) Miura T, Mezaki N, Sanpei K, Aoki K, Takeuchi R, Tanaka H, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Onodera O, Ikeuchi T. Globular glial tauopathy (GGT): clinical-pathological study of two autopsied cases and review of literature. 69th Annual Meeting of American Academy of Neurology. 2017.4.24, Boston, USA
  - 8) Mezaki N, Miura T, Ogaki K, Eriguchi M, Yamazaki H, Komatsu K, Ono N, Kawajiri S, Nozaki H, Kasuga K, Okuma Y, Hara H, Onodera O, Ikeuchi T. LMNB1-related autosomal dominant leukodystrophy: genetic and clinical studies of three Japanese families. 69th Annual Meeting of American Academy of Neurology. 2017.4. 23, Boston, USA
  - 9) Lee JJ, Kang S, Lee W, Gunasekaran TI, Park JE, Seo H, Park M, Rhee S, Kim H, Kim BC, Choo IH, Ikeuchi T, Choi KY, Lee KH. Age-weighted polygenic risk model effectively predicts the onset of Alzheimer disease. AAIC 2017.7.16, London, UK
  - 10) Kikuchi M, Hara N, Hasegawa M, Miyashita A, Kuwano R, Ikeuchi T, Nakaya A. The prediction method of deleterious variants for Alzheimer's disease using chromatin higher-order structure. AAIC 2017.7.16, London, UK

〔図書〕(計0件)

〔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

6. 研究組織
- (1)研究代表者  
池内 健 (IKEUCHI, Takeshi)  
新潟大学・脳研究所・教授  
研究者番号：20372469
  - (2)研究分担者  
豊島 靖子 (TOYOSHIMA, Yasuko)  
新潟大学・脳研究所・准教授  
研究者番号：20334675  
春日健作 (KASUGA, Kensaku)  
研究者番号：70547546  
新潟大学・脳研究所・特任助教  
徳武孝允 (TOKUTAKE, Takayoshi)  
新潟大学・医歯学総合病院・助教  
研究者番号：00707838

(3)連携研究者  
里 直行 (SATO, Naoyuki)  
大阪大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：70372612

(4)研究協力者  
手塚敏行 (TEZUKA, Toshiyuki)  
斎藤健智 (SAITO, Kento)  
宮下哲典 (MIYASHITA, Akinori)  
原 範和 (HARA, Norikazu)  
月江珠緒 (TSUKIE, Tamao)