

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01721

研究課題名(和文) 肥満を伴う認知症予防における、脾臓IL-10合成能及び門脈血GLP-1の重要性

研究課題名(英文) The role of spleen-derived IL-10 and portal GLP-1 levels in the prevention of obesity-induced dementia

研究代表者

後藤 孔郎 (Gotoh, Koro)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：10457624

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肥満および2型糖尿病患者では、下部小腸からのGLP-1分泌能もしくは血中GLP-1濃度が低下していることが報告されているものの、そのメカニズムに関しては不明な部分が多い。本研究から、肥満糖尿病は小腸での炎症性変化の亢進によるGLP-1分泌低下をおこし、さらにGLP-1分泌低下による脳内BDNF発現の低下が認知症の発症と関連している可能性が推測された。本研究の成果は、糖尿病治療薬として有用であるDPP-4阻害薬もしくはGLP-1製剤が、脳内BDNF発現を活性化させることによって認知症の進行もしくは発症予防に威力を発揮し、今後の認知症の治療戦略に重要かつとても意義のあるものとする。

研究成果の概要(英文)：Obesity induces systemic low-grade chronic inflammation. Dementia is deeply related with amyloid deposition although the mechanism is uncertain. BDNF is an important factor to prevent neuronal death which occurs in Alzheimer's disease. The aim of this study is to clarify that the elevation of GLP-1 secretion improves obesity-induced decrease of BDNF expression in the brain. Splenectomy (SPX) promotes obesity-induced decrease of GLP-1 expression and increase of DPP-4 activity in small intestine. Chronic IL-10 treatment attenuated these SPX-induced alterations. Moreover, SPX also worsened obesity-induced reduction of BDNF expression in the brain, and IL-10 treatment recovered this expression. There was no difference among all groups in amyloid deposits in the brain. In addition, we clarified that the administration of a DPP-4 inhibitor elevated BDNF expression in the brain. Thus, the GLP-1 might induce BDNF expression in the brain and be effective to prevent the development of dementia.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：肥満 GLP-1 BDNF アルツハイマー型認知症

### 1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、脾臓摘出によって脳内ミクログリア細胞が活性化し、脳内 IL-10/TNF- $\alpha$  比の低下、すなわち脳内炎症病態の促進を認めた。このような現象のメカニズムとして、脾臓由来の抗炎症性サイトカインである IL-10 合成能の低下が考えられている。事実、高脂肪食によって脾臓で IL-10 合成に大きく関与している B 細胞が減少し、それによる IL-10 合成能の低下が肝臓、膵臓、内臓脂肪および腎臓といった多臓器の炎症性病変をもたらすことが明らかになった。従って、肥満に伴う全身性炎症性病変の発症には、脾臓由来 IL-10 合成能の低下が関連していると考えられる。

近年、アルツハイマー型認知症 (AD) の罹患率は、脳血管性認知症を上回るようになり、AD の予防・治療法の確立が急がれている。AD の病因として最も注目されているのが A $\beta$  の沈着であるが、メカニズムの詳細は不明である。最近になって、「AD 患者では、脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor; BDNF) が減少し、神経細胞が機能維持できなくなり、認知症がおこるのではないか」という考え方が有力視されている。このことは BDNF もしくはその産生を脳で促進する化合物がアルツハイマー病の治療薬に結びつくかもしれないという期待を高めるものである。脳内 BDNF 発現を増加させる手段として、長期の自発的な運動トレーニングと食事制限が有効であると報告されている。しかし、現代社会において肥満人口が増加する一方であることを考慮すると、運動や食事制限の実効性については疑問である。

一方で我々は、糖代謝改善作用をもつ GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) の門脈血濃度が上昇すると、肝臓内門脈領域に存在する GLP-1 受容体を介して、肝臓由来の求心性迷走神経が活性化し、その刺激が脳内 BDNF 発現を増加させることを報告している。また脳内 BDNF 活性によって、遠心性神経の終末末端から BDNF が分泌され、膵臓内 BDNF が増加し、 $\alpha$ 細胞上に存在する BDNF 受容体である Trk-B を介してグルカゴン分泌が低下することも明らかにしている。

### 2. 研究の目的

肥満でもたらされるメタボリックシンドローム (Mets) は、全身性の軽度慢性炎症が基盤病態である。最近、肥満が AD の危険因子であるといわれており、これには、神経細胞外のアミロイド  $\beta$  (A $\beta$ ) の沈着のみならず、慢性炎症が大きく関与しているとされている。また、BDNF は神経細胞の発生や成長、維持、修復など重要な働きをするタンパク質であるが、近年、この BDNF の発現量が AD 患者の脳で減少していることが確認されている。今回、肥満による脾臓由来 IL-10 や小腸由来 GLP-1 分泌の低下が脳内 BDNF 発現を高め、A $\beta$  の脳内沈着を抑制させるか検討する。さらには、Mets における「脾臓—小腸—

脳」といった臓器間ネットワークについても解明していきたい。

### 3. 研究の方法

#### [A] 肥満および脾臓摘出 (SPX) に関する評価:

雄ラットに通常食 (餌中の 20% が脂肪成分) または高脂肪食 (餌中の 60% が脂肪成分) を 2 ヶ月摂取させ、通常食群と高脂肪食群に分けた。ただし、最初の 1 ヶ月間は浸透圧ミニポンプを用いて、各群に A $\beta$  (0.001mg/日) の持続中枢投与を行った。さらに高脂肪食群を SPX 群、SPX + IL-10 補充群と Sham 群に分けます。従って、通常食 Sham (St+ sham) 群、高脂肪食 Sham (HF + sham) 群、高脂肪食 SPX (HF + SPX) 群、高脂肪食 SPX + IL-10 (HF + SPX+IL-10) 補充群の 4 群 (各群 n=6) を作成し、さらに 1 ヶ月飼育した。

a) 下部小腸での GLP-1、GLP-1 を不活化させる酵素である dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) の発現や炎症性変化 (炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ 、抗炎症性サイトカインである IL-10 含有量)、門脈血 GLP-1 濃度を検討した。  
b) 脳内の BDNF および A $\beta$  含有量を測定した。  
c) 脳内 MG 活性の指標である Iba-1 の脳内発現を検討した。

#### [B] DPP-4 阻害薬の効果に関する評価:

雄ラットに対して SPX を施行後、DPP-4 阻害薬群 (高脂肪食に DPP-4 阻害薬を添加) とコントロール群 (高脂肪食のみ) に分け、2 ヶ月摂取させた。ただし、最初の 1 ヶ月間は各群に A $\beta$  の持続中枢投与を行った。従って、SPX + DPP-4 阻害薬群、SPX + コントロール群の 2 群 (各群 n=6) を作成しました。その後、上記 [A] の b) と同様な検討を行った。

#### [C] DPP-4 阻害薬の脳に対する評価:

雄 Zucker-lean ラット + 通常餌投与群 (Lean)、Zucker-fatty ラット + 通常餌投与群 (Fatty)、Zucker-fatty ラット + テネグリプチン (DPP-4 阻害薬) 含有通常餌投与群で、各々 6 週間飼育する。

1) 空腹時血糖値、インスリン、グルカゴンおよび GLP-1 濃度を測定する。  
2) 膵臓内インスリンおよびグルカゴン含有量を測定する。  
3) 脳内 BDNF (脳由来神経栄養因子) 発現、アミロイド  $\beta$  (A $\beta$ ) 沈着を評価する。

### 4. 研究成果

高脂肪食投与によって小腸内の GLP-1 発現が低下し、SPX によって GLP-1 発現がさらに低下していましたが、その低下は IL-10 慢性投与によって改善された (図 1)。門脈血 GLP-1 濃度についても、同様の結果であった。一方、小腸内の DPP-4 活性については、高脂肪食によって小腸内の DPP-4 発現が増加し、SPX によって DPP-4 発現がさらに増加した。その増加は IL-10 の慢性投与によって軽減された (図 2)。また、高脂肪食による腸内 TNF- $\alpha$  および IL-10 発現の増加が、SPX によりさら

に促進された。さらに TNF- $\alpha$ /IL-10 も増加していた。このような変化は、IL-10 慢性投与によって有意に抑制された。MG 活性の指標である Iba-1 の脳内発現についても同様の変化であった。一方、脳内 BDNF 発現に関しては、高脂肪食により低下し、SPX によりさらに低下した。IL-10 慢性投与は、その低下を有意に改善させた(図3)ところが、脳内 A $\beta$  沈着については、高脂肪食投与や SPX による変化はみられなかった。

### Intestinal GLP-1 expression

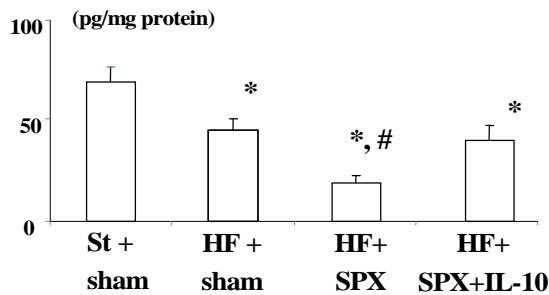


図 1. \* p < 0.05 vs. St + sham  
# p < 0.05 vs. HF + sham

### Intestinal DPP-4 activity

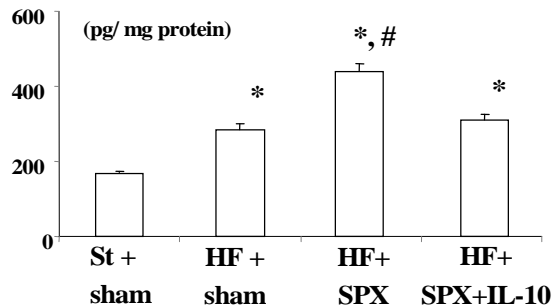


図 2. \* p < 0.05 vs. St + sham  
# p < 0.05 vs. HF + sham

### BDNF expression in hypothalamus

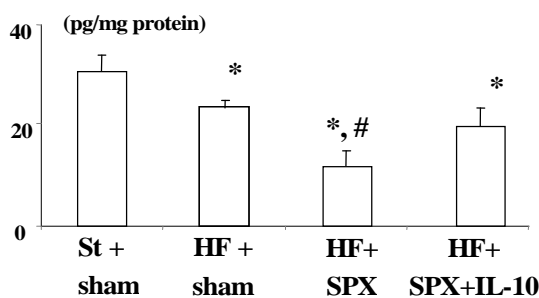


図 3. \* p < 0.05 vs. St + sham  
# p < 0.05 vs. HF + sham

次いで、DPP-4 阻害薬が脳内 BDNF 発現および脳内 A $\beta$  沈着に影響を及ぼすか検討を行った。DPP-4 阻害薬の投与は、脳内 BDNF 発現を有意に増加、MG 活性を有意に低下させたが、脳内 A $\beta$  沈着には影響しなかった(図4)

### BDNF expression in hypothalamus

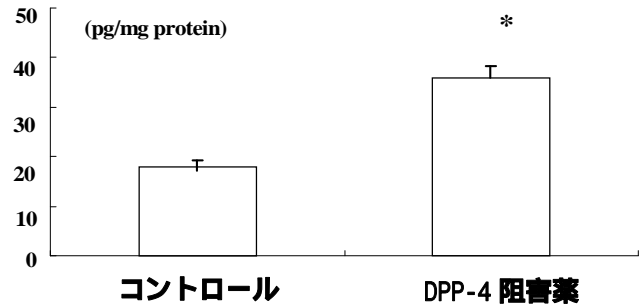


図 4. \* p < 0.05 vs. St + コントロール

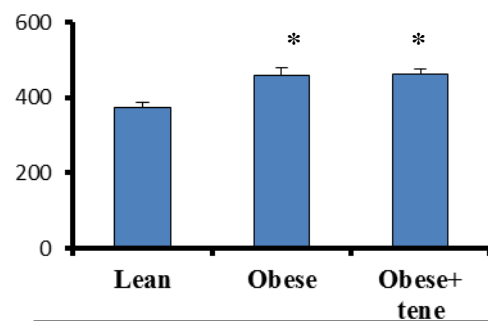
Lean と比較して、Fatty でのグルカゴン濃度の上昇および GLP-1 濃度の低下が、テネグリプチンの投与によりいずれも改善した。一方、テネグリプチンは Fatty での空腹時血糖やインスリン濃度の高値には影響を及ぼさなかった(表1)

表 1.

	Fasting glucose levels (mg/dl)	Portal insulin levels (ng/ml)	Portal glucagon levels (pg/ml)
Lean	156.9 $\pm$ 7.7	2.49 $\pm$ 0.34	261.4 $\pm$ 14.7
Obese	281.1 $\pm$ 7.2*	4.89 $\pm$ 0.49*	338.9 $\pm$ 14.4*
Obese + tene	262.1 $\pm$ 10.2*	4.28 $\pm$ 0.31*	256.2 $\pm$ 9.3

テネグリプチンの投与は、Fatty での膵臓内グルカゴン含有量の増加を抑制させたが、インスリン含有量には影響を与えなかった(図4)

### Pancreatic insulin (ng/g tissue)



### Pancreatic glucagon (pg/g tissue)

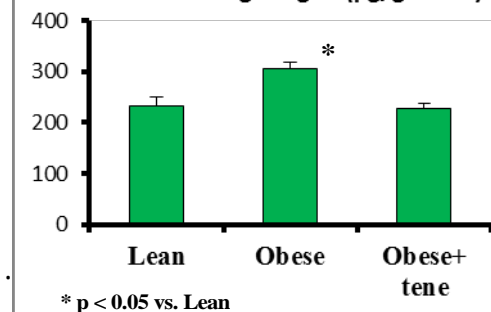


図 4. \* p < 0.05 vs. Lean

Fatty では Lean と比べて脳内 BDNF 発現が低下したが、テネグリプチンの投与によりその発現が促進された(図 5)。一方、3 群間で Aβ の沈着には変化がなかった(図 6A, B)。

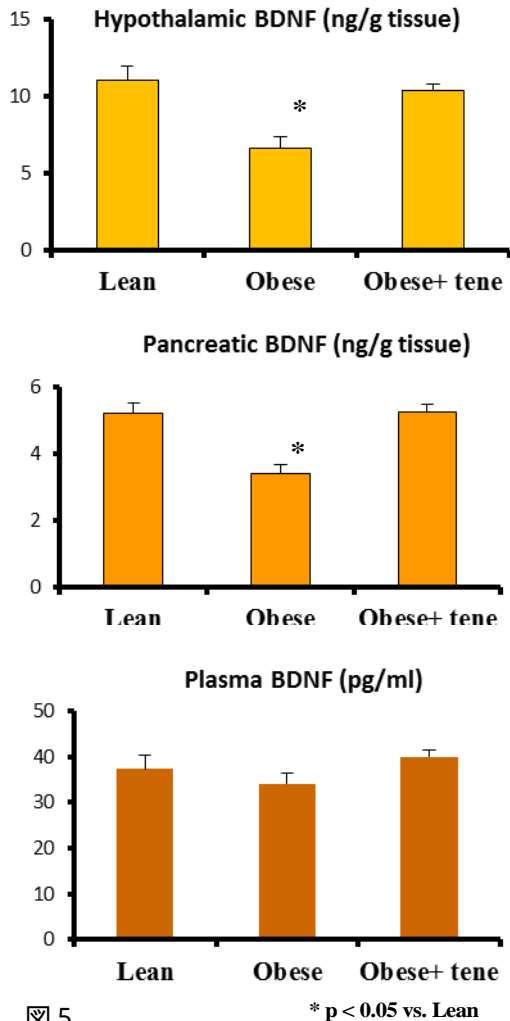


図 5 .

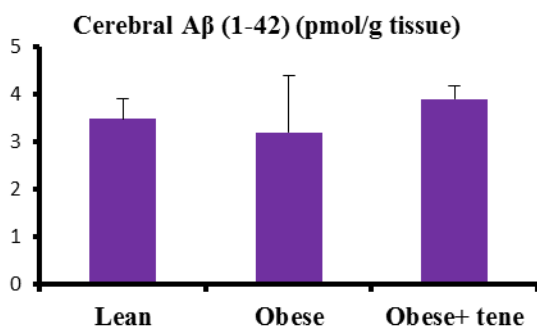
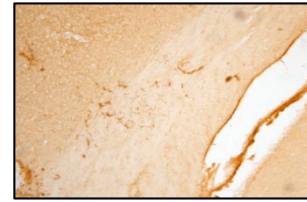


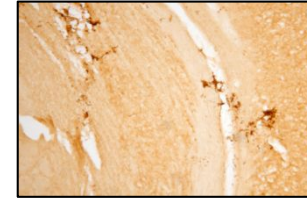
図 6 A.

### Cerebral Aβ (1-42)

Lean



Obese



Obese + tene



図 6 B.

肥満および2型糖尿病患者では、下部小腸からのGLP-1分泌能もしくは血中GLP-1濃度が低下していることが報告されているものの、そのメカニズムに関しては不明な部分が多い。このような症例に対して、GLP-1の不活化を抑制するDPP-4の阻害薬が血中GLP-1濃度を増加させ、糖尿病治療に有効であるとされている。本研究から、肥満糖尿病は、小腸での炎症性変化の亢進によるGLP-1分泌低下をおこし、さらにGLP-1分泌低下による脳内BDNF発現の低下が認知症の発症と関連している可能性が推測される。臨床的に、DPP-4阻害薬による門脈内GLP-1濃度の上昇が、脳内BDNF発現を高めることは十分予想される。本研究の成果は、糖尿病治療薬として有用であるDPP-4阻害薬もしくはGLP-1製剤が、脳内BDNF発現を活性化させることによって認知症の進行もしくは発症予防に威力を発揮し、今後の認知症の治療戦略に重要かつとても意義のあるものと考えられる。

### 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 1件)

Ando H, Gotoh K, Fujiwara K, Anai M, Chiba S, Masaki T, Kakuma T, Shibata H. Glucagon-like peptide-1 reduces pancreatic β-cell mass through hypothalamic neural pathways in high-fat diet-induced obese rats. Sci Rep. 査読有 2017, 7:5578. doi: 10.1038/s41598-017-05371-4.

〔学会発表〕(計 2件)

後藤孔郎 肥満による代償性膵島過形成に対するGLP-1の中樞神経を介した改善作用 日本肥満学会 2017

後藤孔郎 肥満モデル動物に対するテネリ

グリプチンの脳保護効果 日本糖尿病学会  
2017

〔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

後藤 孔郎 (Gotoh Koro)  
大分大学・医学部・助教  
研究者番号：10457624

### (2) 研究分担者

正木 孝幸 (Masaki Takayuki)  
大分大学・医学部・講師  
研究者番号：00423715

柴田 洋孝 (Shibata Hirotaka)  
大分大学・医学部・教授  
研究者番号：20245484

加隈 哲也 (Kakuma Tetsuya)  
大分大学・保健管理センター・准教授  
研究者番号：80343359

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )