

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：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12703

研究課題名(和文)体系的認知機能調節機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of systemic regulatory mechanisms of cognitive function

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) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病を伴う認知機能の低下に関与する血中因子を同定するため、D10マウスの血液を用いたタンパク質多項目解析およびELISA解析から、変化する候補因子群を同定した。一方、半年齢以降の次世代型アルツハイマー病モデル(APPK1)マウスが呈する認知機能障害にもD10マウス同様の脳インスリンシグナルの変化が付随することが判った。さらに、興味深いことに、認知機能障害発症前の若齢APPK1マウスの血中で、同定した血中因子の1つがD10マウスの血中同様に変化していることが判明した。これらの結果から、同定血中因子は、糖尿病の有無に関わらず、認知機能障害を予見するバイオマーカーとなる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：To identify blood-borne factors that are involved in cognitive impairment with diabetes, protein array and ELISA analyses using blood samples from D10 mice were performed, and then several factors altered were isolated. On the other hand, we show that brain insulin signaling in amyloid-precursor protein knock-in (APPK1) mice that develop cognitive impairment after 6 months of age is also altered as well as D10 mice. Moreover, interestingly, we found that young APPK1 mice that do not develop cognitive decline yet exhibit alteration in one of blood factors isolated in D10 mice. These data suggest that its-isolated factor may be a potential bio-marker which might predict the development of cognitive impairment, regardless of diabetes.

研究分野：複合領域

キーワード：糖尿病 認知機能障害 インスリンシグナル 体系的認知機能調節機構 血中因子 老化 次世代型認知症モデル APPK1マウス

1. 研究開始当初の背景

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、個体の寿命を延長させ (*Science* 2007; 2008)、神経変性疾患の病態を改善することが明らかとなり (*FASEB* 2009; *BBRC* 2010; *JCI* 2011)、脳インスリンシグナルが認知機能調節に関与することが示唆されていた。最近我々は、この可能性を支持する結果として、認知機能の衰退を示す老齢マウスの脳で観察されるインスリンシグナルの変化が、糖尿病に伴う認知機能低下にも同様に付随することを見出していた。さらに、近年、老齢マウスの認知機能低下には老化誘導性の血中因子が関与することが報告されていたが、最近我々は、DIO マウスと同齢野生型 (WT) マウス間の交換輸血およびパラバイオームが、それぞれのマウスの認知機能へ与える影響について、海馬特異的空間記憶能テストである Water T-maze (WTM) テストを用いて評価し、糖尿病に伴う認知機能の低下にも血中因子を介した体系的調節機構が関与する可能性を見出していた。一方、脳インスリンシグナルの変化および血中因子を介した経路が認知症発症に関与するかについては不明であった。

2. 研究の目的

我々は、認知機能障害を伴う糖尿病モデルとして、生理的 2 型糖尿病モデル (Diet Induced Obesity: DIO) マウスの利用を確立した。本研究では、DIO マウスと同齢野生型 (WT) マウス間の交換輸血およびパラバイオームの実験から示唆された DIO マウスの体系的認知機能障害を誘導する血中因子を同定することを目的の 1 つとした。加えて、新規の認知症モデルである次世代型アルツハイマー病モデル (APPKI) マウス (理研 BSI 西道研究室との共同研究) 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認知機能障害の相互関係を明らかにすること、また、DIO マウスから同定した血中因子との関係についても検討を行った。

3. 研究の方法

APPKI 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。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。

若齢 APPKI マウスの血中因子濃度の解析は、血清あるいは血漿を用いた ELISA 解析により検討した。

4. 研究成果

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 (血中因子群を含む研究成果について、現在、特許申請準備中)。

認知機能障害を発症するとされる 6 ヶ月齢以降の APPKI マウスの海馬インスリンシグナルは、DIO マウス同様に変化することが判った。さらに、興味深いことに、認知機能障害をまだ発症しない 6 ヶ月齢以前の APPKI マウスの血中で、我々が同定した血中因子の 1 つが、DIO マウス同様な変化を示す傾向にあることを見出している。これらの結果から、同定血中因子は、糖尿病の有無に限らず、認知機能障害を予見するバイオマーカー候補の可能性があることが示された。解析に必要な APPKI マウスの数がまだ十分に得られていないため、現在、繁殖を行っている。数が得られ次第、予備実験結果の確認と更なる解析を行う予定である。

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 15 件)

1. Kawakami E, Tokunaga A, Ozawa M, Sakamoto R, Yoshida N. The histone demethylase Fbxl11 plays an essential role in embryonic development by repressing cell-cycle regulators. *Mechanisms of Development* 135, 31-42 2015. [査読有]
2. 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]
3. 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]
4. 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]
5. 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]
6. 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]
7. 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]
8. 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]
9. 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]
10. 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]
11. 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]
12. 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]
13. 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]
14. 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]
15. 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 20 件)
1. 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
 2. 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
 3. 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
 4. 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
 5. 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
 6. 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
 7. 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
 8. 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

9. 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

10. 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

11. 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

12. 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

13. 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

14. 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

15. 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.

16. 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

17. 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・海馬神経ネットワーク制御機構の解析. 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

18. 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

19. 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

20. 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)
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

(2) 研究分担者

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)