

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：83903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15272

研究課題名(和文) 糖尿病による認知症促進の鍵分子を探索する

研究課題名(英文) Investigation of key molecules involved in bidirectional interactions between diabetes and dementia

研究代表者

里 直行 (SATO, Naoyuki)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・分子基盤研究部・部長

研究者番号：70372612

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)：糖尿病が認知症の促進因子であることが報告されているがそのメカニズムは明らかでない。本研究では糖尿病に着目し、次世代認知症薬の新規標的分子の同定を行うことを目的とした。独自開発した糖尿病合併アルツハイマー病(AD)モデルマウスにおいて糖尿病およびADの合併によりはじめて発現増加する遺伝子をRNAseqにより同定し、ゲノム編集により遺伝子欠損マウスの作成を行った。最も高く発現増加していた分泌蛋白Factor X1および転写因子FactorX2に関しては、ゲノム編集マウスをすでに作成した。今後、得られたマウスと糖尿病合併ADマウスを掛け合わせ、各遺伝子の病態に対する効果を検討する。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer's disease (AD) is one of the major causes of dementia. In addition to APOE4, non-genetic risk factors such as diabetes have also emerged. However, mechanisms by which diabetes increases AD have not been fully understood. To investigate the interactions between AD and diabetes, we generated a novel model with AD and diabetes by crossing amyloid precursor protein (APP) mice and ob/ob mice. These mice show cognitive dysfunction even in young age. We performed gene expression analysis of APP+ob/ob mice. There are genes upregulated only in APP+ob/ob mice. These genes include 37 genes such as Factor X1, a secreted protein, and Factor X2, a transcriptional factor. We are generating gene knockout mice from the genes with the highest changes. Using these knockout mice, we will assess whether these genes could be targets for novel therapeutics for dementia.

研究分野：老年医学

キーワード：アルツハイマー病 糖尿病 遺伝子 ゲノム編集

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化が進む日本において認知症は解決すべき喫緊の問題である。認知症の中でもアルツハイマー病(AD)は、その約半数以上を占めるが根本的治療薬がない。糖尿病が認知症の促進因子であることが報告されているがそのメカニズムは明らかでない。我々は独自に糖尿病合併 AD モデルマウスを作出することに成功し、このマウスにおける認知機能低下、脳萎縮および神経変性を報告した (Takeda S, Sato N, et al. Proc Nat Acad Sci, USA, 2010)。本マウスを用い、糖尿病と AD の間には相互的な病態修飾作用があることを見出していたが、その機序の詳細はインスリン・シグナルなどが示唆されるものの未解明であった。脳内のアミロイド蓄積は、タウ・タンパクのリン酸化などの神経病態を連鎖的に誘発して神経死をもたらすことから、AD 発症の必要条件と考えられているが、アミロイド蓄積のみでは AD 発症の十分条件とはならない。我々は糖尿病と AD の合併モデルマウスにおけるタウのリン酸化亢進を見出し、さらに糖尿病および AD 合併マウスの遺伝子発現変化を捉えることに成功した。しかし、それらの遺伝子発現変化と病態との因果関係は明らかでない。

## 2. 研究の目的

糖尿病と AD の間には相互的な病態修飾作用があることを我々は糖尿病合併 AD マウスにおいて見出していたが、その機序の詳細はインスリン・シグナルなどが示唆されるものの、いまだ未解明である。本研究では、糖尿病と AD の合併モデルマウスにおける遺伝子発現変化の病態への因果関係を明らかにすることを目的とする。我々はアミロイドに対して生体は恒常性維持機構を持っているが、糖尿病によってその恒常性維持機構が破綻するのではないかと考えており、その分子機序を明らかにするところが本研究の学術的な特色である。その鍵となる分子は AD 治療薬開発の基盤となることが予想され、成功した場合に非

常に卓越した成果が期待できる。

## 3. 研究の方法

糖尿病合併 AD モデルのトランスクリプトーム解析により、糖尿病と AD が合併することによって初めて発現増加する Factor  $X_1$ , Factor  $X_2$ , Factor  $X_3$ , Factor  $X_4$  などの遺伝子群などを見出している。さらに脳内環境に存在する比較的分子量の大きい蛋白質を解析可能な独自に開発した脳内マイクロダイアリシス (Neuroscience, 2011, Neurobiol. Aging, 2013. 特許第 4625914 号)を用いて量的・質的に発現変化のある分子を同定する。これらの遺伝子あるいは分子に関して *in vitro* 実験系で機能スクリーニングを行い、さらに APP (Amyloid Precursor Protein)マウスに対し、作成した遺伝子欠損マウスとの交配や、特異的阻害剤の投与を通じ、糖尿病負荷による認知機能の変化を検討することで、生体での機能解析をおこなう。また認知症が糖尿病を促進する作用や機序も検討することで、両者をつなぐ標的候補分子や因子を同定する。

## 4. 研究成果

糖尿病合併 AD モデルの解析により、糖尿病と AD が合併することによって初めて発現増加する遺伝子のうち、Factor  $X_1$ , Factor  $X_2$  のゲノム編集ノックアウトマウスの作出に成功した。このそれぞれのラインの F1 ラインを得、ジェノタイプングを行い、目的のラインを得(ヘテロ)そのヘテロ同士を掛け合わせ、ホモマウスを得ている。Factor  $X_1$  に関してはノックアウトにより胎生致死であることが判明したため、コンディショナルノックアウトの作成を新たに開始し、近頃完成した。Factor  $X_2$  に関しては遺伝子レベルでのノックアウトは確認できたが、蛋白レベルでもノックアウトできているかを確認した後に、APP マウスと交配予定である。

また糖尿病合併 AD モデルの解析により、いくつかの脂質代謝に関連した遺伝子の発現が

上昇変動していることが分かったために、その中核因子である Factor  $X_5$  と Factor  $X_6$  のコンディショナルノックアウトマウスの作成を開始した。

糖尿病合併 AD モデルによって、糖尿病と AD が合併することによって初めて発現増加する遺伝子をバイオインフォマティクスのアプローチであらたに解析すると、過去に AD 研究 (Zhang et al., Cell 2013) で報告のあったある遺伝子モジュールとかなり有意に相関することが判明した。またそのような遺伝子の発現を制御しうる転写因子として、Factor Y を同定した。今後この Factor Y の制御下で、糖尿病合併 AD モデルの表現型が改善するかを検証する予定である。

また三重大学神経内科の富本秀和先生の協力のもと、BCAS (両側総頸動脈狭窄) モデルの導入を行っている。本モデルは脳梗塞を起こさず、白質病変を生じさせることができる白質病変モデルである。最近報告された BCAS モデルで発現増加する遺伝子 (Ohtomo et al. Neuroscience Letters, 2017) と我々の糖尿病合併 AD モデルで発現増加する遺伝子の一部が共通することを見出した。我々の糖尿病合併 AD モデルを血管因子と代謝因子に分けることができるとすれば、本 BCAS モデルが糖尿病合併 AD モデルにおける血管因子の部分を変現している可能性が示唆される。我々が現在作成中の各遺伝子欠損マウスに対して本 BCAS モデルを用いて各遺伝子の白質病変への影響がどのようなものか検討している。

#### 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7件)

- 1) 里 直行  
糖尿病と認知症 糖尿病と認知症の分子レベルの関連.  
医療の広場, 査読無, 58(3): 4-5, 2018.
- 2) 里 直行  
生活習慣病と認知症.  
形成外科, 査読無, 61(3): 295-304,

- 2018.
- 3) 里 直行  
認知症と糖尿病 原因と結果の双方向の関係.  
神経心理学, 査読無, 33(3):177-182, 2017.
- 4) 里 直行  
加齢および加齢関連疾患からみたアルツハイマー病の発症機構.  
BIO Clinica 老化とアルツハイマー方認知症, 査読無, 32(8): 28-33, 2017.
- 5) 里 直行  
糖尿病から探る認知症メカニズム.  
実験医学 増刊, 査読無, 35(12): 169-172, 2017.
- 6) Shinohara M, Naoyuki Sato.  
Bidirectional interactions between diabetes and Alzheimer's disease.  
Neurochem Int, 査読あり, 108: 296-302, 2017.  
DOI: 10.1016/j.neuint.2017.04.20
- 7) 里 直行  
糖尿病による認知症促進機構とその予防 糖・脂質代謝の観点から  
実験医学増刊「糖尿病研究の“いま”と治療の“これから”」編集=綿田裕孝 2017, 査読無, Vol. 35 No. 2, 226-231

〔学会発表〕(計13件)

- 1) Naoyuki Sato  
Bidirectional interaction between diabetes and Alzheimer's disease.  
10<sup>th</sup> NAGOYA Global Retreat Invited lecture, (Chairman Mariko Noda, Akiko Sato, Tomomi Mukai), Feb. 16. 2018
- 2) 里 直行  
糖尿病と認知症—炎症性分子の関与も含めて. 平成 29 年度 日本歯周病学会 60 周年記念京都学会 シンポジウム 【超高齢社会を生き抜く歯周病予防・治療の考え方】(座長 吉成伸夫先生), 2017 年 12 月 17 日
- 3) 里 直行  
糖尿病による認知症促進機構の解明.  
第 36 回 日本認知症学会 学術集会 シンポジウム 18【生活習慣・生活習慣病と認知症・アルツハイマー病】(座長 神崎 恒一先生・木下 彩栄先生), 2017 年 11 月 25 日
- 4) 里 直行  
アミロイド と糖尿病. 第 12 回 臨床ストレス応答学会 シンポジウム 1【神経変性疾患における異常蛋白質の毒性、蓄積および伝播】(座長 渡部 和彦先生・永井 義隆先生), 2017 年 11 月 4 日

- 5) Fukumori A, Naoyuki Sato  
Mechanism of Substrate Recognition  
by the Exosites in  
-Secretas. International  
Symposium 2017 -Understanding  
Intramembrane Proteolysis from  
Substrates to Enzymes, Oct.5, 2017,  
Regensburg, Germany.
- 6) Naoyuki Sato  
Bidirectional interaction between  
Alzheimer's disease and diabetes.  
The 3rd NCGG-ICAH  
Symposium--Satellite Symposium of  
59th Annual meeting of the Japan  
Geriatrics Society--, Sep.7, 2017
- 7) 里 直行  
糖尿病による認知症促進機構の解明.  
第 59 回 日本老年医学会学術集会 シ  
ンポジウム 2 糖尿病と認知症 研  
究中心 , 2017 年 6 月 14 日
- 8) Naoyuki Sato  
"Bidirectional Interactions  
between Diabetes and Alzheimer ' s  
disease"  
The 7th BRI International  
Symposium 2017, Alzheimer ' s  
disease: Narrowing the gap between  
basic science and clinical  
application, March 11th, 2017
- 9) Naoyuki Sato  
"Bidirectional Interactions  
between Diabetes and Alzheimer ' s  
disease: Exploring Therapeutic  
Options" 2nd Geriatric Innovation  
Forum, January 21th, 2017,
- 10) 里 直行  
認知症の予防の最前線 - 糖尿病が認  
知症を促進する分子メカニズムの解  
明 - 脳心血管抗加齢研究会 2016 シ  
ンポジウム 6 「認知症における Topics  
( 周辺情報・在宅を含めて )」2016 年  
12 月 18 日
- 11) 里 直行  
糖尿病と認知症 第 56 回 近畿理学  
療法学術大会 シンポジウム 3 「認  
知機能改善のアプローチ - 運動処方  
の可能性を探る - 」2016 年 11 月 27  
日
- 12) 里 直行  
糖尿病と認知症 第 38 回日本臨床栄  
養学会総会・第 37 回日本臨床栄養協  
会総会 第 14 回大連合大会 ワーク  
ショップ 5 「高齢者糖尿病患者の  
栄養管理」2016 年 10 月 7 日
- 13) 里 直行  
糖尿病と認知症 - 原因と結果の双方  
向の関係 第 40 回日本神経心理学会  
学術集会 公募シンポジウム II 「認  
知症の食行動異常」2016 年 9 月 16 日

〔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

<http://www.ncgg.go.jp/camd/department/nba/index.html>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

里 直行 (SATO Naoyuki)  
国立研究開発法人国立長寿医療研究セン  
ター・分子基盤研究部・部長  
研究者番号：70372612

##### (2) 研究分担者

長野 清一 (NAGANO Seiichi)  
国立研究開発法人国立精神・神経研究セ  
ンター・神経研究所 疾病研究第五部・  
室長  
研究者番号：40362727

竹屋 泰 (TAKEYA Yasushi)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号：70590339

##### (3) 連携研究者

なし( )  
研究者番号：

##### (4) 研究協力者

竹屋(大西) 美幸 (TAKEYA Miyuki)  
向園 昌弘 (MUKOUZONO Masahiro)