

令和元年6月18日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09776

研究課題名(和文) 糖尿病によるアストロサイト脂質代謝異常に伴う認知機能への影響

研究課題名(英文) Effects of diabetes-related lipid dysregulation in astrocytes on cognitive functions

研究代表者

鈴木 亮 (Suzuki, Ryo)

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20396732

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病の脳ではAMPK活性が上昇し、SCAPが減少する。AMPKシグナルがRab2経路を介してSCAP-SREBP複合体のゴルジ体への輸送を促進する可能性を見出した。SCAP欠損アストロサイトと初代培養野生型ニューロンの共培養では、対照アストロサイトと比較して、共培養した初代培養野生型ニューロンの形態的成熟度は有意に未熟で、神経突起長の短縮と分岐数の減少が見られた。アストロサイトにおけるSCAP減少は、ニューロンの成長と成熟を阻害する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病が認知機能を低下させるメカニズムは未だ不明な点が多い。アストロサイトにおけるエネルギー状態と脂質代謝の変化によってニューロンの成熟状態が影響を受ける新規分子経路を提唱する結果である。

研究成果の概要(英文)：Brain from a subject with diabetes mellitus exhibits elevated activity of AMPK and reduction of SCAP. AMPK signaling potentially promotes transport of SCAP-SREBP complex from ER to Golgi via Rab2 pathway. Reduction of SCAP in astrocytes can inhibit growth and maturation of adjacent neurons.

研究分野：糖尿病

キーワード：糖尿病 脳脂質代謝 コレステロール合成 SCAP AMPK

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年脳の高次機能におけるアストロサイトやオリゴデンドロサイトなどグリア細胞の重要性が注目されている。アストロサイトはコレステロールを活発に合成する細胞であり、脳のグルコース代謝にも深く関与する。インスリン刺激によるステロール合成関連遺伝子の誘導は、初代培養ニューロン以上に初代培養アストロサイトで顕著であったことから、アストロサイトにおけるステロール合成が脳高次機能維持に重要との仮説を立て、アストロサイト特異的な薬剤誘導ノックアウトを目的に、*Gfap-CreERT2* を用いてアストロサイト特異的 *SCAP* 欠損誘導マウス(*G-SCAP(-)*マウス)を作成した。このマウスは、成体にタモキシフェンを投与してアストロサイト特異的に *SCAP* 欠損を誘導することで、発生過程での遺伝子欠損の影響を回避できる。*Social Recognition Test* を実施したところ、対照マウスでは縄張りに侵入した幼若 BALB/c マウスに対して経時的に関心を失い反応時間が短縮するのに対し、成長後にアストロサイトで *SCAP* 欠損を誘導した *G-SCAP(-)*マウスではそのような社会認識行動が見られない。さらに *Passive Avoidance Test* において、電気ショック後 24 時間後の回避行動は対照マウスと同様であったが、1 ヶ月経過後、対照マウスは依然暗室に進入しないのに対し、*G-SCAP(-)*マウスは進入までに要する時間が有意に短縮し、回避反応の減弱が認められる。これらの結果は、個体成体のアストロサイトにおいて *SCAP-SREBP* 経路を介して産生される脂質分子が、社会認識能力および長期記憶の形成に何らかの役割を果たす可能性を示唆している。

2. 研究の目的

(1) 糖尿病状態の脳で減少する *SREBP* シャペロン分子 *SCAP* を欠損したアストロサイトで障害される機能の同定、(2) *SCAP* 欠損による認知機能低下に関与するアストロサイト由来分子の探索、(3) 糖尿病状態の脳アストロサイトで *SCAP* が減少するメカニズムの解明、(4) 糖尿病状態の脳アストロサイトで生じる変化の解明を目的とする。

3. 研究の方法

- (1) *Gfap-CreERT2::Scap(flox/flox)*マウスを用いて、*SCAP*欠損誘導アストロサイトの機能ならびに形態の評価をおこなう。シナプス形成について、定量的評価をおこなう。
- (2) *SCAP*欠損アストロサイトを単離培養し、馴化培地のリビドミクス解析をおこなう。野生型神経細胞との共培養で補充によりシナプス形成が改善する分子を選別する。
- (3) アストロサイトの AICAR 刺激によるユビキチン-プロテアソーム経路を介した *SCAP* 減少について、細胞内輸送に関連する分子を主な標的に siRNA や阻害薬などの影響を評価する。
- (4) (2) で得られたアストロサイト由来候補分子の組織中含量を、糖尿病モデルマウスの脳で測定する。
(3) で確認した分子の発現変化を糖尿病モデルマウスの脳で確認する。

4. 研究成果

- (1) 糖尿病状態の脳で観察される *SCAP* の減少がアストロサイトとニューロンの機能に与える影響を評価する目的で、*SCAP* 欠損アストロサイトと初代培養野生型ニューロンの共培養をおこなった。対照アストロサイトと比較して、共培養した初代培養野生型ニューロンの形態的成熟度は有意に未熟で、神経突起長の短縮と分岐数の減少が見られた。アストロサイトにおける *SCAP* 減少が、ニューロンの成長と成熟を阻害する可能性を示唆する。
- (2) *GFAP-CreERT2::Scap(flox/flox)*マウスに成長後タモキシフェンを投与し *SCAP* 欠損を誘導した後、免疫染色で海馬および脳室周囲の神経幹細胞数を評価した。adult neurogenesis に影響する可能性を検討している。
- (3) 糖尿病の脳では AMPK 活性が上昇し、*SCAP* が減少する。AMPK α 1 ノックダウンまたは AMPK 上流の LKB1 ノックアウトにより、初代培養グリア細胞の *SCAP* が軽度増加することを確認した。ファトスタチンにより *SCAP-SREBP* 複合体のゴルジ体への輸送を阻害すると AMPK 活性化薬 AICAR による *SCAP* の減少が抑制される。COPII 小胞輸送に関わる Rab2a をノックダウンすることで、初代培養グリア細胞の *SCAP* が増加することを見出した。AMPK シグナルは Rab2 経路を介して *SCAP-SREBP* 複合体のゴルジ体への輸送を促進する可能性がある。
- (4) *SREBP-2 flox*マウスを神戸理研との共同開発により作製し、系統樹立した。初代培養グリア細胞にアデノウイルスベクターを用いて Cre リコンビナーゼを発現させ、*SREBP-2* 経路の発現低下を確認した。
- (5) 入院患者を対象に血清ステロール代謝物と認知機能の関連を調べ、関連の認められる候補物質を同定した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 11 件)

- ① Suzuki R, Eiki J, Moritoyo T, Furihata K, Wakana A, Ohta Y, Tokita S, Kadowaki T. Effect of short-term treatment with sitagliptin or glibenclamide on daily glucose fluctuation in drug-naïve

- Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab* 20:2274-2281, 2018. (査読有)
DOI: 10.1111/dom.13364
- ② Ueda K, Takimoto E, Lu Q, Liu P, Fukuma N, Adachi Y, Suzuki R, Chou S, Baur W, Aronovitz MJ, Greenberg AS, Komuro I, Karas RH. Membrane-initiated estrogen receptor signaling mediates metabolic homeostasis via central activation of protein phosphatase 2A. *Diabetes* 67:1524-1537, 2018. (査読有)
DOI: 10.2337/db17-1342
- ③ Kobayashi M, Ohsugi M, Sasako T, Awazawa M, Umehara T, Iwane A, Kobayashi N, Okazaki Y, Kubota N, Suzuki R, Waki H, Horiuchi K, Hamakubo T, Kodama T, Aoe S, Tobe K, Kadowaki T, Ueki K. The RNA methyltransferase complex of WTAP, METTL3, and METTL14 regulates mitotic clonal expansion in adipogenesis. *Mol Cell Biol* 38:e00116-e00118, 2018. (査読有)
DOI: 10.1128/MCB.00116-18
- ④ Fujishiro M, Kushiya A, Yamazaki H, Kaneko S, Koketsu Y, Yamamotoya T, Kikuchi T, Sakoda H, Suzuki R, Kadowaki T. Gastrointestinal symptom prevalence depends on disease duration and gastrointestinal region in type 2 diabetes mellitus. *World J Gastroenterol* 23:6694-6704, 2017. (査読有)
DOI: 10.3748/wjg.v23.i36.6694
- ⑤ Abe-Doi M, Oe M, Murayama R, Takahashi M, Zushi Y, Tanabe H, Takamoto I, Suzuki R, Yamauchi T, Kadowaki T, Komiyama C, Sanada H. Development of an automatic puncturing and sampling system for a self-monitoring blood glucose device. *Diabetes Technol Ther* 19:651-659, 2017. (査読有)
DOI: 10.1089/dia.2017.0163
- ⑥ Shibuta T, Waki K, Tomizawa N, Igarashi A, Yamamoto-Mitani N, Yamaguchi S, Fujita H, Kimura S, Fujiu K, Waki H, Izumida Y, Sasako T, Kobayashi M, Suzuki R, Yamauchi T, Kadowaki T, Ohe K. Willingness of patients with diabetes to use an ICT-based self-management tool: a cross-sectional study. *BMJ Open Diabetes Res Care* 5:e000322, 2017. (査読有)
DOI: 10.1136/bmjdr-2016-000322
- ⑦ Kato A, Fujimaki Y, Fujimori S, Isogawa A, Onishi Y, Suzuki R, Yamauchi T, Ueki K, Kadowaki T, Hashimoto H. Psychological and behavioural patterns of stigma among patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *BMJ Open* 7:e013425, 2017. (査読有)
DOI: 10.1136/bmjopen-2016-013425
- ⑧ Kato A, Fujimaki Y, Fujimori S, Isogawa A, Onishi Y, Suzuki R, Yamauchi T, Ueki K, Kadowaki T, Hashimoto H. Association between self-stigma and self-care behaviors in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *BMJ Open Diabetes Res Care* 4:e00156, 2016. (査読有)
DOI: 10.1136/bmjdr-2015-000156
- ⑨ Fujishiro M, Izumida Y, Takemiya S, Kuwano Y, Takamoto I, Suzuki R, Yamauchi T, Ueki K, Kadowaki T. A case of insulin allergy successfully managed using multihexamer-forming insulin degludec combined with liraglutide. *Diabet Med* 33:e26-e29, 2016. (査読有)
DOI: 10.1111/dme.12998
- ⑩ Kato A, Fujimaki Y, Fujimori S, Izumida Y, Suzuki R, Ueki K, Kadowaki T, Hashimoto H. A qualitative study on the impact of internalized stigma on type 2 diabetes self-management. *Patient Educ Couns* 99:1233-1239, 2016. (査読有)
DOI: 10.1016/j.pec.2016.02.002
- ⑪ Amemiya A, Noguchi H, Oe M, Takehara K, Ohashi Y, Suzuki R, Yamauchi T, Kadowaki T, Sanada H, Mori T. Shear stress-normal stress (pressure) ratio decides forming callus in patients with diabetic neuropathy. *J Diabetes Res* 2016:3157123, 2016. (査読有)
DOI: 10.1155/2016/3157123

[学会発表] (計 12 件)

- ① 鈴木亮：認知症と糖尿病. 第 34 回日本静脈経腸栄養学会学術集会 (招待講演), 2019 年
- ② 鈴木亮：高齢者糖尿病と認知症 (血糖コントロール目標も含めて). 第 33 回日本糖尿病合併症学会・第 24 回日本糖尿病眼学会総会 (招待講演), 2018 年
- ③ 鈴木亮：高齢者における糖尿病の管理. 日本成人病 (生活習慣病) 学会 第 9 回教育集会 (招待講演), 2018 年
- ④ 鈴木亮：糖尿病と認知症. 第 55 回日本糖尿病学会関東甲信越地方会 (招待講演), 2018 年
- ⑤ 渡辺隆介、鈴木亮、亀井望、周聖浦、寺井愛、門脇孝：脳グリア細胞においてステロールセンサー分子 SCAP はユビキチンプロテアソーム経路を介して量制御される. 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2017 年
- ⑥ 周聖浦、鈴木亮、渡辺隆介、寺井愛、亀井望、門脇孝：アストロサイトにおけるステロールセンサー分子 SCAP の欠損誘導は認知機能障害と行動変化を引き起こす. 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2017 年

- ⑦ 鈴木亮：糖尿病における認知障害・認知症. 第 59 回日本老年医学会学術集会（招待講演），2017 年
- ⑧ 鈴木亮：脳内インスリンの役割とその作用不全. 第 32 回日本糖尿病合併症学会（招待講演），2017 年
- ⑨ 周聖浦、鈴木亮、渡辺隆介、寺井愛、亀井望、門脇孝：ステロールセンサー分子 SCAP のアストロサイトにおける欠損誘導は記憶障害と行動変化を引き起こす. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2016 年
- ⑩ 渡辺隆介、鈴木亮、亀井望、周聖浦、寺井愛、門脇孝：脳グリア細胞においてステロールセンサー分子 SCAP はコビキチン-プロテアソーム経路を介して量制御される. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2016 年
- ⑪ 鈴木亮：脳内コレステロール代謝と認知機能. 第 16 回日本抗加齢医学会総会（招待講演），2016 年
- ⑫ 鈴木亮：脳のインスリン作用不全に伴う脂質合成異常と糖尿病関連病態の形成. 第 31 回日本糖尿病合併症学会, 2016 年

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

- 出願状況（計 0 件）
- 取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：周 聖浦

ローマ字氏名：Chou Shengpu

研究協力者氏名：渡辺 隆介

ローマ字氏名：Watanabe Ryusuke

研究協力者氏名：寺井 愛

ローマ字氏名：Terai Ai

研究協力者氏名：亀井 望

ローマ字氏名：Kamei Nozomu

研究協力者氏名：門脇 孝

ローマ字氏名：Kadowaki Takashi

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。