

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：33909

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21779

研究課題名(和文)加齢性CORT概日リズム低下を介したアルツハイマー病増悪化誘導因子の探索

研究課題名(英文) Analysis of exacerbating factors for dementia and Alzheimer's disease in the flattening of the CORT circadian rhythm with aging.

研究代表者

多田 敬典 (Tada, Hirobumi)

至学館大学・健康科学部・教授

研究者番号：20464993

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：加齢は認知症・アルツハイマー病の最大のリスク因子である。近年、加齢とともに生じるコルチゾール(CORT)分泌概日リズムの振幅消失の老化促進への関与が注目されている。しかしながら、CORT概日リズムの加齢性変化の脳機能への影響は十分明らかにされていない。

本研究では、加齢マウスを用いて、CORT分泌変化に伴う認知症様症状の認知機能障害・情動機能障害について解析した。またCORT分泌変化に連動するシナプス機能、脳内炎症、細胞老化の加齢性変化を検討し、認知症・アルツハイマー病態が重篤化するメカニズムの解明を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会に突入した我が国において、健康寿命の延伸が重要視されている。特に高齢者の20%近くを占める認知症の改善は、健康長寿社会実現に欠かすことができない要因の一つである。しかしながら認知症に対する治療薬開発は長年苦戦が強いられている。そのような背景から認知症のリスク因子に着目した研究が注目されており、特に加齢は最大のリスク因子と考えられている。本研究は加齢に伴うコルチゾール分泌異常と連動する脳内因子、行動変化に着目することで認知症・アルツハイマー病が重篤化するメカニズムが明らかになることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Aging is the greatest risk factor for dementia and Alzheimer's disease. Recently, flattened circadian rhythm of cortisol (CORT) secretion has been reported to promote aging, however the age-related cortisol effects on brain function have not been fully elucidated.

In this study, we analyzed cognitive impairment and aggression of dementia-like symptoms associated with changes in CORT secretion using aging mice. We also examined age-related changes in synaptic function, brain inflammation, and cellular senescence associated with changes in CORT secretion. These results are expected to lead to the elucidation of the mechanisms of dementia and Alzheimer's disease severity.

研究分野：加齢神経内分泌学

キーワード：加齢 コルチゾール 認知機能 攻撃行動

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会に突入した我が国において、健康寿命の延伸が重要視されている。団塊の世代が75歳(要介護率が増加する年代)を迎える2年後は2025年問題として、社会全体の対応策が求められており、健康寿命延伸のための予防・健康づくりプランが推進されている(厚生労働白書令和4年版)。特に高齢者の20%近くを占める認知症の改善は、健康長寿社会実現に欠かすことができない要因の一つである。しかしながらアルツハイマー病を含む認知症に対する治療薬開発は長年苦戦が強いられている(Cummings et al., *Alzheimers Dement*, 2019など)。その中で我々は加齢に伴い分泌バランス変化を来す内分泌機能に着目した認知症研究を展開し、ストレスホルモンの一つコルチゾール(CORT)を介したストレスシグナル経路異常を起点としたシナプス機能異常が誘導され、認知/情動機能に影響を及ぼすことを明らかにしてきた。

加齢は認知症・アルツハイマー病の最大のリスク因子である(Hou et al., *Nat Rev Neurol*, 2019)。一方で加齢に伴う身体的変化は多岐にわたるため、認知機能に対する加齢の影響は複雑である。その中で、加齢性変化とライフスタイルとの因果関係が注目を浴びており、内分泌機能に起因するものが多く含まれる。実際、認知症においても内分泌機能異常を引き金とする症例が複数存在し、さらには内分泌機能異常が認知症重篤化の大きな原因にもなっている。一方で内分泌機能異常に伴う認知症は、治療可能な認知機能障害(Treatable Dementia)に含まれ、早期診断・治療することで改善が見込まれることが知られており、特に高齢者では診断・治療の遅延が認知症症状を加速してしまうこともあるため(Matsunaga et al., *Brain Nerve*, 2016)加齢に伴う認知症・アルツハイマー病の脳内変化について理解し、内分泌機能との関係性を明らかにすることは重要と考えられている。

## 2. 研究の目的

加齢とともに生じるCORT分泌日内変動の振幅リズムの消失が老化促進に関与していることが報告されている(Hood and Amir, *J Clin Invest*, 2019; Sharma et al., *Biol Psych*, 1989)。その様な背景から、高齢者における内因性のCORT分泌パターン変化と認知症症状との関連が注目されている。また認知症の症状は記憶障害などの中核症状と、それに付随して易怒性攻撃行動など情動機能に関わる周辺症状の大きく分けて2つに分類される(Bessey and Walaszek, *Curr Psychiatry Rep*, 2019)。特に周辺症状は患者や介護者のQOLを下げるだけでなく、中核症状の進行にも関与するとされ、解決すべき大きな社会問題である。そのため認知症の包括的な治療方法の開発には、認知機能・情動機能両側面からの解析が必要とされている。

これまで我々はCORT分泌に依存してグルココルチコイド受容体を介して認知機能障害及び攻撃性発現が誘導されることを明らかにしている(Tada et al., *PNAS*, 2016; Miyazaki et al., *J. Clin. Invest.* 2012)。本研究では、マウスで観察される認知症様症状の認知機能障害・情動機能障害と、CORT分泌に連動するシナプス機能、脳内炎症、細胞老化の加齢性変化を検討し、認知症・アルツハイマー病態が重篤化するメカニズムを明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

加齢動物を用い、以下の解析を行った。

### (1) 加齢性認知機能の検討

加齢に伴う認知症の中核様症状として、Y字型迷路テストによる認知機能行動評価を行った。

Y字型迷路テスト：Y字型迷路内探索行動で、マウスが自発的に異なるアームに入る性質を利用した交替反応を測定し、正答率を指標に認知機能の評価した。

### (2) 加齢性情動機能の検討

加齢に伴う認知症の周辺様症状として、対物攻撃行動テストによる情動機能行動評価を行った。

対物攻撃行動テスト(Aggression Response Meter)：刺激棒を動物の眼前で動かし、刺激棒に対して噛む、引っ張ることにより加えられた力の強度と方向を加重センサーによって検出し、対物攻撃行動を指標に情動機能の評価した(Kuchiiwa, *J Neurosci Methods*, 2016)。

### (3) 尿中CORTの検討

CORTの分泌にはサーカディアンリズムがあり、マウスにおいては、分泌量は朝方低く、夕方には増加することが知られている。本実験では明期(AM10:00-12:00)にマウス尿を採取し、尿中に含まれるCORT濃度をELISA法で測定した。

#### (4)脳内細胞老化の検討

細胞老化マーカーとして用いられる p16<sup>Ink4</sup> の発現量を定量解析し、脳内の細胞老化の進行度を評価した。

#### (5)脳内炎症・シナプス機能に対する効果検討

脳内炎症に関しては、Iba1 の発現を指標に、脳内ミクログリア活性を解析することで評価した。

シナプス機能に関しては、シナプス膜分画における AMPA 型グルタミン酸受容体の GluA1 の発現量を定量した。また GFP アクチンを用いた FRAP (fluorescence recovery after photobleaching; 光褪色後蛍光回復法) 解析による、シナプス内のアクチン流動性について検討した。

### 4. 研究成果

本研究では CORT 分泌が低い時間帯において、抜歯などによる加齢が促進されたマウスで、過剰に CORT が分泌されることを見つけた。それに伴い脳内での細胞老化マーカー p16<sup>Ink4a</sup> の発現量が上昇し、ミクログリアマーカーである Iba1 の発現量増加が見られることを確認した (Furukawa, Tada et al., *Sci Rep.*, 2022)。このように、加齢が脳老化および脳内炎症の亢進を誘導することを明らかにした。

さらに、加齢動物の認知機能と情動機能を行動解析により評価した。加齢マウスの認知機能について Y 字型迷路テストを行った。加齢マウスでは、若齢期のマウスと比較してアーム総進入回数による自発運動量の加齢性減少が見られ、異なるアームを認識する交替反応による、空間認知正答率の加齢性低下が確認された。また同様に加齢マウスの情動機能を評価した。他個体との接触を必要としない対物攻撃行動測定装置を用い、情動機能として易怒性攻撃行動を測定した。加齢マウスは若齢マウスに比べて易怒性攻撃行動が上昇することを見出した。さらに社会的隔離による慢性的なストレス環境下で飼育し、CORT 分泌異常を惹起することで、さらなる攻撃行動の上昇が見られることを確認した。また加齢マウスでは、シナプス膜分画における GluA1 量の低下傾向が見られた。加えて加齢に伴うスパイン内のアクチン流動性とシナプス可塑性についての検討を試み、加齢動物の皮質シナプスにおいてアクチン流動性の低下傾向が見られた。今後、これら加齢に伴う CORT 概日リズム低下を介した脳老化、脳内炎症、シナプス機能低下と認知症中核症状である認知機能障害及び周辺症状である易怒性攻撃行動発現との機能的因果関係を明らかにしていくことを試みる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Furukawa Masae, Tada Hirobumi, Wang Jingshu, Yamada Mitsuyoshi, Kurosawa Mie, Satoh Akiko, Ogiso Noboru, Shikama Yosuke, Matsushita Kenji	4. 巻 12
2. 論文標題 Molar loss induces hypothalamic and hippocampal astrogliosis in aged mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6409
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-10321-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 多田敬典	4. 巻 2(6)
2. 論文標題 内分泌系の加齢変化と脳認知機能	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 老年内科	6. 最初と最後の頁 672-679
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Furukawa Masae, Tada Hirobumi, Raju Resmi, Wang Jingshu, Yokoi Haruna, Ikuyo Yoriko, Yamada Mitsuyoshi, Shikama Yosuke, Matsushita Kenji	4. 巻 15
2. 論文標題 Long-Term Capsaicin Administration Ameliorates the Dysfunction and Astrogliosis of the Brain in Aged Mice with Missing Maxillary Molars	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2471 ~ 2471
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu15112471	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Furukawa Masae, Tada Hirobumi, Raju Resmi, Wang Jingshu, Yokoi Haruna, Yamada Mitsuyoshi, Shikama Yosuke, Matsushita Kenji	4. 巻 15
2. 論文標題 Long-Term Soft-Food Rearing in Young Mice Alters Brain Function and Mood-Related Behavior	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2397 ~ 2397
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu15102397	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tsuji Shogo, Brace Cynthia S, Yao Ruiqing, Tanie Yoshitaka, Tada Hirobumi, Rensing Nicholas, Mizuno Seiya, Almunia Julio, Kong Yingyi, Nakamura Kazuhiro, Furukawa Takahisa, Ogiso Noboru, Toyokuni Shinya, Takahashi Satoru, Wong Michael, Imai Shin-ichiro, Satoh Akiko	4. 巻 6
2. 論文標題 Sleep/wake patterns are altered with age, Prdm13 signaling in the DMH, and diet restriction in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e202301992
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lsa.202301992	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Tada H
2. 発表標題 Age-related changes in glucocorticoid secretion patterns are involved in synaptic aging.
3. 学会等名 第44回日本基礎老化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 多田敬典
2. 発表標題 認知症予防と生活習慣について
3. 学会等名 知多五市議会議長会研修会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 多田敬典
2. 発表標題 生活習慣を見直して認知症を予防しよう
3. 学会等名 刈谷市生涯学習講座 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tada H, Tokunaga A, Akagi K, Konagai A
2. 発表標題 Chronic kidney disease correlates with uremic indoxyl sulfate levels to reduce cognitive function.
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hirobumi TADA
2. 発表標題 Age-related glucocorticoid endocrinological regulation involved in social cognitive function
3. 学会等名 AOCE-SICEM 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 多田敬典
2. 発表標題 精神神経疾患における攻撃性制御の意義と分子機序の解明
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会 日本比較薬理学・毒性学会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 多田敬典
2. 発表標題 加齢に伴うストレス内分泌変化が脳認知機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第62回日本老年医学会学術集会「エイジングサイエンスフォーラム～最新老化研究から新しい健康概念へ」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 多田敬典, 元井章智, 元井里奈, 赤木一考
2. 発表標題 露地栽培アガリクス(KA21株)の加齢性運動機能低下に対する効果の検討
3. 学会等名 第20回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 多田敬典, 元井章智, 元井里奈, 赤木一考
2. 発表標題 露地栽培アガリクス(KA21株)の寿命、筋・神経系に対する効果の検討
3. 学会等名 第100回日本獣医麻酔外科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tada H, Yasuda K, Nakashima A, Suzuki K, Tokunaga A, Akagi K
2. 発表標題 Paramylon, a $\alpha$ -1,3-Glucan from <i>Euglena gracilis</i> , extends lifespan and diminishes age-related neuromuscular decline.
3. 学会等名 第43回日本基礎老化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 多田敬典
2. 発表標題 生活習慣を見直して認知症を予防しよう
3. 学会等名 刈谷市生涯学習講座(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 津島博道、浅井あづさ、細山徹、多田敬典、杉本昌隆
2. 発表標題 マウス筋細胞由来抗細胞老化因子の探索
3. 学会等名 第95回 日本生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山菜穂、清塚麻衣、後藤三緒、壁谷慶子、辻将吾、多田敬典、佐藤亜希子
2. 発表標題 高脂肪食下における背内側部特異的Prdm13欠損が代謝能にもたらす機能変化について
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 多田敬典、山田匡恵、徳永暁憲、浅野真子、遠藤汐咲姫、高津真白、田中さくら、村松玲亜、森川茉桜、和田真幸、安田光佑、中島綾香、鈴木健吾
2. 発表標題 微細藻類Euglena gracilisの摂取による加齢性認知機能低下に対する効果の検討
3. 学会等名 第22回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 寿命延長用食品組成物、寿命延長用剤、抗老化用食品組成物及び抗老化剤	発明者 多田敬典、赤木一考、徳永暁憲、安田光佑、中島綾香、鈴木健吾	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-189646	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ストレス性認知機能障害改善組成物およびこれを含む医薬・飲食品、飼料	発明者 多田敬典、元井章智	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-174395	出願年 2022年	国内・外国の別 国内



〔取得〕 計0件

〔その他〕

研究室HP  
<https://www.sites.google.com/view/tada-lab/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	赤木 一考  (Akagi Kazutaka)  (30794424)	富山大学・学術研究部教育研究推進系・特命助教    (13201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------