

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：17601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650201

研究課題名(和文) 脳の老化制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of regulatory mechanism for brain aging

研究代表者

田口 明子 (Taguchi, Akiko)

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号：80517186

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：脳インスリン様シグナルの欠損は、哺乳類においても寿命を延長し老化を遅延することが報告されていた。老化に伴う認知機能の低下は、海馬の神経新生の低下と相関するが、脳インスリン様シグナルの低下がこれらの変化へ与える影響については未だ不明であった。我々は老齢期の脳インスリン様シグナル欠損マウスの海馬における解析から、細胞増殖および神経新生が増加し、神経炎症の増加および神経細胞の活動性の低下が有意に抑制されることを明らかにした。さらに、行動解析から、これらのマウスの認知機能は、老齢期においても高く保持されていることが判明し、脳インスリン様シグナルの低下は脳の老化を遅らせることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Previous studies showed that less neural Insulin/IGF-1 signaling (IIS) extends lifespan and delays aging in mammals as well as in lower animals. Age-related cognitive decline is correlated with the reduced adult neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus (DG), however it remained unknown how reduced neural IIS influences cognitive function and adult hippocampal neurogenesis. We found that proliferation and neuronal differentiation remarkably augmented in aged mice lacking neural IIS. Moreover, neural IIS depletion suppressed reduction in dendritic complexity and microglial activation in DG of aged mice. Finally, behavior analysis demonstrated that the test accuracy ratios in aged mice lacking neural IIS were significantly greater than those in age-matched controls. These findings suggest that reduced neural IIS may delay brain aging.

研究分野：総合生物

科研費の分科・細目：神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：認知機能 老化 神経細胞新生 代謝障害

### 1. 研究開始当初の背景

近年の無脊椎動物モデルにおける解析から、中枢神経系のインスリン様シグナルが寿命・老化のコントロールセンターの一つであることが明らかにされたが、脊椎動物における同様な作用の存在については知られていなかった。我々は、インスリン様シグナルの主要な調節因子である Insulin Receptor Substrates2 (IRS2) を脳特異的に欠損させた  $Birs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウスが無脊椎動物と同様に寿命を延長することを世界で初めて明らかにし、後続の解析からは、アルツハイマー病モデルマウスの脳における IRS2 の欠失が、 $\beta$ アミロイドの蓄積を遅らせ死亡率を改善させる事も判明した。一方、加齢に伴う記憶学習能の衰退は、海馬歯状回の神経新生の低下と相関することが知られているが、これらの調節における IRS2 の役割については不明であった。本研究は、脳 IRS2 の欠損が記憶学習能および歯状回の神経新生に与える影響を解析する事を通じて、脳の老化制御機構の一端を理解する事を目標として研究を進めた。

### 2. 研究の目的

本研究では、2年間で以下を明らかにすることを目的とした。

1). 成体脳海馬神経新生の変化: 成体海馬歯状回の神経細胞新生過程における IRS2 の発現局在及び脳 IRS2 の欠損が老齢期の神経細胞新生の様態と神経幹細胞、神経前駆細胞の増殖能力へ与える影響について解析する。2). 神経炎症および神経細胞死への影響: 加齢に伴う神経炎症および神経細胞死の増加に対して脳 IRS2 の欠損が与える影響について解析を行う。3). 神経細胞の形態と活動性の変化: 脳 IRS2 の欠損が老齢脳に見られる樹状突起複雑性の低下に及ぼす作用について調べる。4). 記憶学習機能についての解析: 行動解析を行い、脳 IRS2 の欠損が老齢期の記憶学習機能に与える影響について精査する。

### 3. 研究の方法

我々は、IRS2が成体海馬の成熟神経細胞に発現していることを報告していたが、歯状回の神経細胞新生過程におけるIRS2の発現局在については未だ明らかでは無かった。最初に、神経細胞新生過程の各種細胞マーカーと抗IRS2抗体を用いた二重免疫染色法により、歯状回におけるIRS2の発現様式を調べた。次に、我々と米国ハーバード大学医学部ボストン小児病院内分泌部門Dr. Morris White研究室との共同研究として作製された長寿モデルである  $Birs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウスの老齢期における歯状回の細胞増殖能と神経細胞新生の変化についての解析には、BrdU パルスラベル法および免疫染色法を用いた。また同様に、免疫染色法を用いて、老齢  $Birs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウス歯状回における神経炎症および神経細胞死、新生神経細胞の樹状突起のパターン形成について解析を行い、また、海馬依存的記憶学習能は WaterT-maze テストによって評価した。

### 4. 研究成果

脳IRS2の欠損が老齢期の海馬神経細胞新生および記憶学習機能へ与える影響を明らかにすることを目的として解析を行い、以下の成果を得た。

(1). 加齢に伴う成体海馬歯状回神経新生の変化についての解析

老齢  $Birs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウス歯状回の BrdU 陽性細胞数は同齢コントロールマウスに比べ明らかに増加していることから、細胞増殖能が高く保たれていることが判った。さらに、細胞増殖の増加に伴い新生神経細胞マーカーの顕著な増加とグリア細胞マーカーの減少が観察され、老齢コントロールに比べ、 $Birs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウス海馬では神経細胞新生が有意に促進されていることが明らかになった。

(2). 脳老化に誘導される神経炎症および神経細胞死への影響

ミクログリアの特異的マーカー および細胞死マーカーのそれぞれに対する抗体を用いた免疫染色から、老齢  $Birs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  とコン

トロールマウスの海馬歯状回におけるミクログリアの数に差は見られなかったが、活性化型ミクログリアの数は  $Blrs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウスで有意に低下していることが判った。一方、細胞死マーカー陽性細胞数は  $Blrs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウスで増加していたが、新生神経細胞数は増加しており、また成熟神経細胞数の低下は見られなかったことから、細胞死マーカー発現細胞の増加はグリア細胞数の低下を反映しているものと考えられた。

### (3). 老齢脳における新生神経細胞の形態変化と活動性についての検討

老齢脳における神経細胞の活動性を調べるために、特異的マーカーの発現と新生神経細胞マーカー発現細胞の樹状突起のパターン形成について評価を行い、老齢  $Blrs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウス海馬における幼弱神経細胞の樹状突起の分岐の複雑性は有意に高く維持されていることが明らかになった。

### (4). 老齢期の記憶学習機能へ与える影響

T字水迷路テストにより海馬依存的記憶学習能を調べたところ、老齢  $Blrs2ko^{+/-}$  and  $-/-$  マウスの正解率はコントロール群に比べ顕著に高く、老齢期においても高い記憶学習能力を保持していることが明らかになった。

## 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5件)

1. Miyoshi K, Yanagi S, Kawahara K, Nishio M, Tsubouchi H, Imazu Y, Koshida R, Matsumoto N, Taguchi A, Yamashita S, Suzuki A, Nakazato M.: Epithelial pten controls acute lung injury and fibrosis by regulating alveolar epithelial cell integrity. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013; 187: 262-275. [査読有]
2. 田口明子: インスリン様シグナルとアルツハイマー病-認知機能調節における脳インスリン様シグナルの役割-. 医学のあゆみ

249(6):535-538, 2014[査読無]

3. 田口明子: 脳の老化とインスリン様シグナル. 脳 21, Vol.17 No.2 110-115, 2014[査読無]
4. 福岡屋航, 田口明子: 糖尿病関連神経変性疾患 - アルツハイマー病発症機構についての新たな視点. *Diabetes Frontier* 24(3): 253-261, 2013[査読無]
5. 田口明子, 倉田栄子, 福岡屋航: 代謝調節分子の中樞神経系における役割 - 脳内インスリン様受容体シグナル分子 IRS2 を介した神経機能調節機構 -. 実験医学増刊号, 30: 2057-2061, 2012[査読無]

〔学会発表〕(計16件)

1. 福岡屋航, 倉田栄子, 中里雅光, 田口明子: 糖尿病は海馬 IRS2 シグナルを介して神経新生・認知機能を低下させる。第57回日本糖尿病学会総会: 2014年5月22-24: 大阪市、日本
2. 田口明子, 牧ノ段学, 福岡屋航, 倉田栄子, 中里雅光, Gabriel Corfas, and Morris White: 脳インスリン様シグナルを介した寿命と認知機能の制御: 第91回日本生理学会大会: 2014年3月16-18: 鹿児島市、日本
3. 田口明子: 脳インスリン様シグナルと精神・神経疾患-中樞神経・末梢組織の相互作用を介した脳機能の調節機構とは?-: 第5回奈良精神神経科学懇話会: 2014年2月6日: 奈良市、日本
4. Akiko Taguchi and Masato Kasuga: New insights into the Insulin-like signaling pathways: old and new bridge between metabolism and aging: The 36<sup>th</sup> annual meeting of the Molecular Biology Society of Japan: Dec 3-6, 2013, Kobe, Japan
5. 田口明子: 研究のメッカ・ボストンでのIZAYOIな研究生活から受けた恩恵: 第40回日本神経内分泌学会学術総会: 2013年10月25-26: 宮崎市、日本
6. Akiko Taguchi: Systemic regulation of cognitive function with age-related

alterations in nutrient homeostasis: The 6<sup>th</sup> Asian Aging Core for Longevity (AACL) conference: Oct 31-Nov 2, 2013. Kyoto, Japan

7. 田口明子, 牧ノ段学, 中里 雅光, 岸本年史, Gabriel Corfas, Morris White: 成体脳神経細胞新生を介した認知機能調節における脳 IRS2 の役割: 第 34 回日本肥満学会: 2013 年 10 月 11-12: 東京、日本

8. Akiko Taguchi, Manabu Makinodan, Gabriel Corfas, and Morris White: The effect of impaired energy metabolism on adult neural function: The 36<sup>th</sup> NAITO CONFERENCE ON Molecular aspects of energy balance and feeding behavior: Sep 10-13, 2013: Sapporo, Japan

9. Akiko Taguchi, Manabu Makinodan, Wataru Fukuokaya, Eiko Kurata, Gabriel Corfas, and Morris White: Loss of neural IRS2 ameliorates age-related cognitive decline and reduced hippocampal neurogenesis.

Cold Spring Harbor Meeting: Metabolic signaling and disease: from cell to organism : Aug 13-17, 2013: New York, USA.

10. 田口明子: 生理的脳老化における脳インスリン様シグナルの役割. 第13回日本加齢医学会総会: 2013年6月28-30: 横浜市、日本

11. Akiko Taguchi, Manabu Makinodan, Wataru Fukuokaya, Eiko Kurata, Toshifumi Kishimoto, Gabriel Corfas, and Morris White: Role of brain insulin-like signaling in age-related cognitive change. Neuro 2013: June 20-23, 2013: Kyoto, Japan.

12. 田口明子, 福岡屋航, 倉田栄子, Morris White: 脳インスリン様シグナルを介した脳老化調節機構. 第 36 回日本基礎老化学会大会: 2013 年 6 月 4-6: 大阪市、日本

13. Taguchi A, Makinodan M, Fukuokaya W, Kurata E, Corfas G, and White MF: Neural

IRS2 deficiency prevents age-related decline in spatial learning and memory. Cold Spring Harbor Meeting: Neurodegenerative disease 2012

Nov 28-Dec 1: New York, USA.

14. 田口明子, White MF.: 組織特異的なインスリン様シグナルの多様な役割: 脳老化調節経路としてのインスリン様シグナルの新たな側面. 第 6 回蠕虫研究会: 2012 年 7 月 27-28: 宮崎、日本

15. Taguchi A, Nakazato M, and White MF.: Role of insulin-like signaling in age-related decline in neural functions. The 9<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome Study Group: 2012, July 7-8: Tokyo, Japan

16. 田口明子, 中里雅光, Morris White: 脳の老化制御経路としてのインスリンシグナルの役割.: 第 85 日本内分泌学会学術総会: 2012 年 4 月 19-21: 名古屋、日本

〔図書〕(計 1 件)

1. 田口明子: インスリン様シグナルと寿命・老化の制御. 糖尿病学イラストレイティッド, 291-296, 2012

〔産業財産権〕  
出願状況 なし

取得状況 なし

〔その他〕  
ホームページ:

<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/3naika/default.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田口 明子 (TAGUCHI AKIKO)  
宮崎大学・医学部・准教授  
研究者番号: 80517186

(2) 研究分担者

塩見 一剛 (SHIOMI KAZUTAKA)  
宮崎大学・医学部・准教授  
研究者番号: 40305082

(3) 連携研究者 なし