

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

代謝ストレスおよびインスリンシグナル障害がアルツハイマー病モデルマウス脳におけるA $\beta$ 蓄積に及ぼす影響の解析

氏名 松井健太郎

アルツハイマー病 (AD) は高齢者に生じる認知症として最も頻度が高く、不可逆的に進行する神経変性疾患である。ADの主な臨床症状として、記憶障害・見当識障害・判断力の低下が挙げられ、病理学的特徴としては、アミロイド $\beta$ ペプチド (A $\beta$ ) よりなる老人斑の蓄積、タウ繊維よりなる神経原線維変化の出現、そして神経細胞死に伴う脳の萎縮が挙げられる。A $\beta$ の凝集と老人斑への蓄積がAD発症の原因であるという、アミロイド・カスケード仮説 (アミロイド仮説) が提唱されている。

ADの大多数を占める孤発例においては、発症の要因として加齢や遺伝的背景に加え、環境要因が関与すると考えられている。中でも近年、2型糖尿病がAD発症のリスクとなることが複数の疫学的研究から示唆されており、注目を集めている。糖尿病とは、血液中のグルコース濃度 (血糖値) の調節を行うインスリンの作用が低下することにより、高血糖状態が続く代謝性疾患である。特に2型糖尿病においては、糖代謝におけるインスリンの作用不全を示す病態である、インスリン抵抗性が発症機序に大きく関与している。

これまでに2型糖尿病とADの関係については、様々な実験的・臨床的検討が行われてきた。この中で、インスリンシグナルの障害とAD病態との関連が示唆されている。しかし、末梢ならびに脳内のインスリンシグナルの変化とAD病態、特にA $\beta$ の蓄積メカニズムとの関係は不明である。そこで本研究には、高脂肪食 (HFD) 負荷またはインスリン受容体基質2型 (IRS-2) 遺伝子欠損ADモデルマウスという、インスリン抵抗性を示す2種類の糖尿病合併モデルマウスを、A $\beta$ を蓄積するAPPトランスジェニックマウスと交配し、その病態を比較検討することにより、インスリンシグナルとAD病理増悪との関係を明らかにすることを目的として研究を行った。そして、代謝ストレスとA $\beta$ 病態との関連に着目した解析を行い、糖尿病が脳に及ぼす影響について考察を行った。

本研究では、当研究室で作出した家族性AD変異型APP Tgマウス (A7) をADモデルマウスとして用いた。A7マウスに対するHFD負荷を行い、アミロイド斑蓄積の前後におけるインスリンシグナルの変化およびA $\beta$ 病理への影響を検討した。その結果、A $\beta$ 蓄積開始時期に先立ち、末梢なら

びに中枢のインスリン抵抗性が生じることを示した。そして長期間の HFD 負荷により、不溶性 A $\beta$  量及びアミロイド斑蓄積が顕著に増加することが示された。これらの結果から、末梢・中枢のインスリンシグナル障害とそれに伴う糖尿病様病態が、アミロイド蓄積を促進することが示された。

この結果に基づき、インスリンシグナルの異常とアミロイド病態形成との関連を明らかにする目的で、インスリンシグナルが遺伝学的に抑制される IRS-2 欠損マウス (*Irs2* KO マウス) を用いた検討を行った。*Irs2*<sup>-/-</sup>;A7 マウスはインスリン抵抗性を示し、糖尿病様病態を発症することが示された。しかし HFD 負荷群と異なり、A $\beta$  蓄積を顕著に減少させることが明らかとなった。

A7 マウスに対する HFD 負荷あるいは IRS-2 の欠損はいずれもインスリン抵抗性を示し、糖尿病様病態を呈するにもかかわらず、アミロイド斑蓄積に関して前者は促進、後者は抑制という相反する結果となった。両モデルでのインスリン抵抗性発症要因の違いとして、*Irs2* KO マウスでは肝臓や膵  $\beta$  細胞、視床下部などのインスリン感受性組織におけるインスリンシグナルの低下によりインスリン抵抗性を示すのに対し、HFD 負荷においては、脂肪組織を始めとするインスリン感受性組織における炎症反応や小胞体ストレス、酸化ストレスが引き起こされ、その結果としてインスリンシグナルの障害が生じることを示されている。そこで、このようなインスリン抵抗性発症の上流に位置する要因が A $\beta$  蓄積促進の原因となる可能性を考え、*Irs2*<sup>-/-</sup>;A7 マウスに対する HFD 負荷を行った。その結果、インスリン抵抗性の増大、血糖値や血中インスリンレベルの上昇が認められ、糖尿病病態が増悪した。この時、*Irs2*<sup>-/-</sup>;A7 マウスに比して A $\beta$  の蓄積も亢進することが分かった。これらの結果から、A $\beta$  病理の増悪はインスリンシグナル障害 (低下) の結果として生じるものではない可能性が示唆された。

2 型糖尿病における慢性的な過食、肥満状態は脂肪組織の肥大化、TNF $\alpha$  などの炎症性サイトカインの分泌増加や活性酸素種の発現増加、そしてそれに伴う小胞体ストレスシグナルの活性亢進といった現象を引き起こし、インスリン抵抗性の原因となることが知られている。そこで、本研究で用いた糖尿病合併 A7 マウスの脂肪組織における炎症性及び小胞体ストレスシグナル分子の mRNA 発現量を測定した。その結果、HFD 負荷により炎症性シグナルの活性が亢進することが示された一方で、IRS-2 の欠損では変化が見られなかった。更に、*Irs2*<sup>-/-</sup>;A7 マウスに対する HFD 負荷では、炎症性ならびに小胞体ストレスシグナル分子の発現量に有意な増加が示された。これらの結果から、炎症性ならびに小胞体ストレスシグナルの活性は IRS-2 の欠損では変化せず、HFD 負荷によってのみ亢進することが示された。

上記の結果を踏まえ、糖尿病様 AD モデルマウスの中枢における炎症性シグナル及び小胞体ストレスシグナル分子の活性について、検討を行った。WT マウス及び A7 マウスの中枢では、アミ

ロイド斑蓄積開始前の若齢において IRE1-XBP1s 経路に代表される小胞体ストレスシグナル分子の mRNA 発現量が HFD 負荷により有意に増加していたが、高齢ではその変化が見られなくなることが示された。そして、A7 マウスでは WT マウスに比べ HFD 負荷による mRNA 発現量の増加が抑制されていた。

近年、炎症性シグナル分子である IKK $\beta$  及び小胞体ストレスシグナル分子である XBP1s の肝臓における活性が、グルコース恒常性の改善につながることが報告され、糖尿病の増悪には炎症反応または小胞体ストレス反応の応答性低下が関与している可能性が新たに示唆されている。しかし、脳においてこれらのシグナル応答性に変化が生じているかどうかは未だ解明されていない。そこで、HFD を負荷した A7 マウスおよび WT マウスにおいて、小胞体ストレスならびに炎症性反応の応答性が中枢または末梢で変化しているかを検討した。この目的で、絶食後の再摂食による生理的代謝ストレスに対する応答性を評価する実験系を確立し、HFD を負荷した 6 か月齢の WT と A7 マウスで小胞体ストレス反応の応答性を評価した。その結果、A7 マウスではアミロイド斑蓄積開始前より、特に大脳皮質において HFD を負荷した際に IRE1-XBP1s 経路に代表される小胞体ストレスの応答性が WT マウスに比べ低下していることが示された。これらの結果から、HFD を負荷した A7 マウスでは、中枢における小胞体ストレス反応の特異的経路における応答性低下が慢性的に持続した結果、A $\beta$  量増加による AD 病理増悪を引き起こす可能性が新たに示唆された。

以上の結果から、本研究において私は HFD を負荷した AD モデルマウスの解析により、糖尿病様病態が脳の A $\beta$  量増加に伴いアミロイド蓄積を促進させることを示した。一方、IRS-2 の欠損による遺伝的インスリンシグナルの抑制では A $\beta$  の蓄積が顕著に減少することが示された。そして、IRS-2 欠損 A7 マウスに対して HFD を負荷した検討により、A7 マウスでは IRS-2 が欠損していても HFD 負荷により A $\beta$  蓄積ならびに炎症性、小胞体ストレスシグナル分子の発現量が有意に増加することが示された。これらの結果から、HFD 負荷 AD モデルマウスでは、代謝負荷により生じるインスリンシグナル低下の結果 A $\beta$  蓄積が促進されるのではなく、その上流で生じている代謝ストレス、すなわち炎症性反応ならびに小胞体ストレス反応の亢進がアミロイド病理を増悪させている可能性が考えられた。更に、HFD 負荷 AD モデルマウスの詳細な検討により、AD モデルマウスでは HFD 負荷による脳の小胞体ストレス応答性の低下が生じている可能性が示された。この結果は、脳における小胞体ストレス反応の応答性の改善が AD 発症に対しても有効に働く可能性を新たに示唆するものである。IRS-2 欠損 AD モデルマウスの結果を考慮すると、上述したメカニズムが成り立っていると仮定した場合、炎症性ならびに小胞体ストレス反応による A $\beta$  蓄積促進作用が、インスリン作用の低下に伴う A $\beta$  斑蓄積抑制作用を顕著に上回っていると考えられる。今後は、HFD 負荷時に

小胞体ストレス応答性が低下する分子メカニズムについて更に検討を進め、この変化が AD 病理の促進に関与していることを明らかにすることにより、治療標的となりうる分子を特定し AD の予防・治療に役立てたい。