

アルツハイマー病の治療標的としての インスリンシグナリング

Insulin signaling as a therapeutic target in Alzheimer's disease

愛媛大学大学院医学系研究科脳神経内科・老年医学

大八木保政*

はじめに

アルツハイマー病 (AD) は老年期認知症で最も多い原因疾患だが、根本治療法は確立されていない。2021年6月、アミロイドβ蛋白 (Aβ) を標的とする抗体の Aducanumab が米国で承認されたが、進行した認知症を改善させるものではない。私は以前、本誌において AD 脳では糖尿病 (DM) と共通の病態機序が重要であり¹⁾、ドパミンアゴニストであるアポモルフィン (APO) 治療で AD モデルの 3xTg-AD マウスの脳神経細胞のインスリン抵抗性が改善することを紹介した^{1,2)}。その後、我々は 3xTg-AD マウスにおいて末梢のインスリン欠乏やインスリン抵抗性上昇を誘導して脳内の Aβ やリン酸化タウ蛋白 (p-tau) を解析し、現在は神経系細胞のインスリンシグナリングに対する APO や DM 薬の影響を調べている。また、老年医学的観点からサルコペニア・フレイルと認知障害の関係などについても解析している。本稿では、AD における認知障害を回復させる治療標的として、神経細胞やミクログリアのインスリンシグナリングあるいはその伝達経路である phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) -Akt 経路の重要性について解説する。

AD と DM

DM と認知症についてはこれまで多くの疫学的研究がなされており、全体的には、DM により AD 発症リスクが約 1.5~2 倍程度上昇すると考えられる³⁾。本邦の代表的疫学研究である久山町研究でも、DM が血管性認知症および AD の重要なリスクとして報

告されている⁴⁾。さらに、AD 脳内では神経細胞のインスリン抵抗性上昇が報告されている⁵⁾。したがって、単純に考えれば、DM 薬で AD の認知機能改善に効果が期待できる。実際、多数の論文で AD マウスや AD 患者においてさまざまな DM 薬が有効であることが報告されている (表1)。特に、インスリン点鼻で軽度認知障害 (MCI) や早期 AD 患者の記憶機能の改善が注目されている⁶⁾。ただ、現在も米国でいくつかのインスリン点鼻の臨床試験が続いているがその結果は安定しておらず、まだしばらくは点鼻治療の最適化の研究が必要と考えられる⁷⁾。

3xTg-AD マウスにおける1型および2型DMの影響

DM にはインスリン分泌低下 (1型) とインスリン抵抗性上昇 (2型) がある。欧米では肥満に関係する 2 型 DM が重視されるが、日本の高齢 AD 患者では小柄な女性が多い。欧米人に比べてアジア人はインスリン分泌能が低く、特に高齢者ではインスリン欠乏になりやすい。そこで我々は、3xTg-AD マウスに対して、streptozotocin (STZ) の 5 日間注射で膵臓β細胞のインスリン分泌を抑制、あるいは高フルクトース食飼育 (HFuD) でインスリン抵抗性上昇を誘導し (各群 n=12)、それらのマウスを解析した⁸⁾。詳細は同論文を参照いただきたいが、結果を簡潔にまとめると、① STZ 群で認知障害が増悪、② ドットプロットで、STZ 群の脳内 Aβ42 増加と toxic Aβ42 conformer 形成促進、および STZ・HFuD 両群で p-tau 増加、③ 蛍光免疫染色でも同様に STZ 群でより顕著な Aβ42・p-tau 増加 (図1)、④ 蛍光二重免疫染色で STZ 群の脳神

* Yasumasa Ohyagi; Department of Neurology and Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, Ehime University

表 1 AD マウスおよび AD/MCI 患者等に対する DM 治療薬の効果

AD マウスモデル	薬剤	対象	効果
Vandal et al. (2014)	insulin	3xTg-AD	高脂肪食で認知機能が悪化し、インスリン注射で改善
Mao et al. (2016)	insulin	APP/PS1	インスリン点鼻で認知障害および Aβ蓄積の改善
Escribano et al. (2010)	Ros	APP	Aβ沈着の除去
Yu et al. (2015)	Ros, Pio	3xTg-AD	学習能力の改善、タウ蛋白リン酸化および神経炎症の抑制
Toba et al. (2016)	Pio	APP/PS1	前 Aβ蓄積段階における小脳機能の改善
Hsu et al. (2017)	Ros	Tg2576	FGF14 のリン酸化促進、および神経活動の改善
D'Amico et al. (2010)	Sita	APP/PS1	Aβ沈着の抑制
Kosaraju et al. (2016)	Lina	3xTg-AD	認知機能の改善
McClellan et al. (2011)	Lira	APP/PS1	Aβ沈着の抑制
Bomfim et al. (2012)	Ex-4	APP/PS1	インスリンシグナリングの回復
Ma et al. (2012)	GLP-1	APP/PS1	記憶機能の改善
Long-Smith et al. (2013)	Lira	APP/PS1	インスリン抵抗性の軽減、Aβ蓄積およびミクログリア活性化の抑制
Faivre et al. (2013)	GIP	APP/PS1	海馬シナプス可塑性の改善、Aβ蓄積老人斑および活性化ミクログリアの減少
McClellan et al. (2014)	Lira	APP/PS1	Aβ蓄積、ミクログリア活性化および記憶障害の抑制
Chen et al. (2017)	Lira	3xTg-AD	記憶障害の改善およびリン酸化タウ蛋白の減少
Cai et al. (2018)	Lixi	3xTg-AD	Aβ/p-tau 蓄積、神経炎症の抑制
Tai et al. (2018)	TA	APP/PS1	記憶障害および Aβ沈着の改善、BDNF の増加
Robinson et al. (2019)	Exe	Tg2576	Exe とインスリン点鼻の併用による効果増強
Salles et al. (2019)	DA	APP/PS1	神経炎症に対して GLP-1/GIP 併用は Lira 単独よりも有効
Zhang et al. (2019)	Lira	(Rat)	高ホモシステイン血症ラットにおいて p-tau and Aβの減少
AD/MCI 患者	薬剤	対象	効果
Craft et al. (2012)	insulin	AD/MCI	インスリン点鼻で記憶機能の改善
Claxton et al. (2013)	insulin	AD/MCI	インスリン点鼻の効果における性差：男性でより有効
Claxton et al. (2015)	insulin	AD/MCI	インスリン点鼻の記憶改善効果は APOE-ε4 キャリアで顕著
Watson et al. (2005)	Ros	AD/MCI	認知障害の進行を抑制
Sato et al. (2011)	Pio	AD+2型DM	認知機能の改善
Knodt et al. (2019)	Pio	(健康人)	記憶機能および海馬の fMRI の改善
Isik et al. (2017)	Sita	DM ± AD	AD の有無によらず、DM 患者の認知機能の改善

Ros, Rosiglitazone; Pio, Pioglitazone; Sita, Sitagliptin; Lina, Linagliptin; Lira, Liraglutide; Ex-4, Exendin-4; GLP-1, glucagon-like peptide-1; GIP, Glucose-dependent insulintropic peptide; Lixi, Lixisenatide; TA, triple GLP-1/GIP/glucagon receptor agonist; Exe, Exenatide; DA, Dual agonist of GLP-1/GIP.

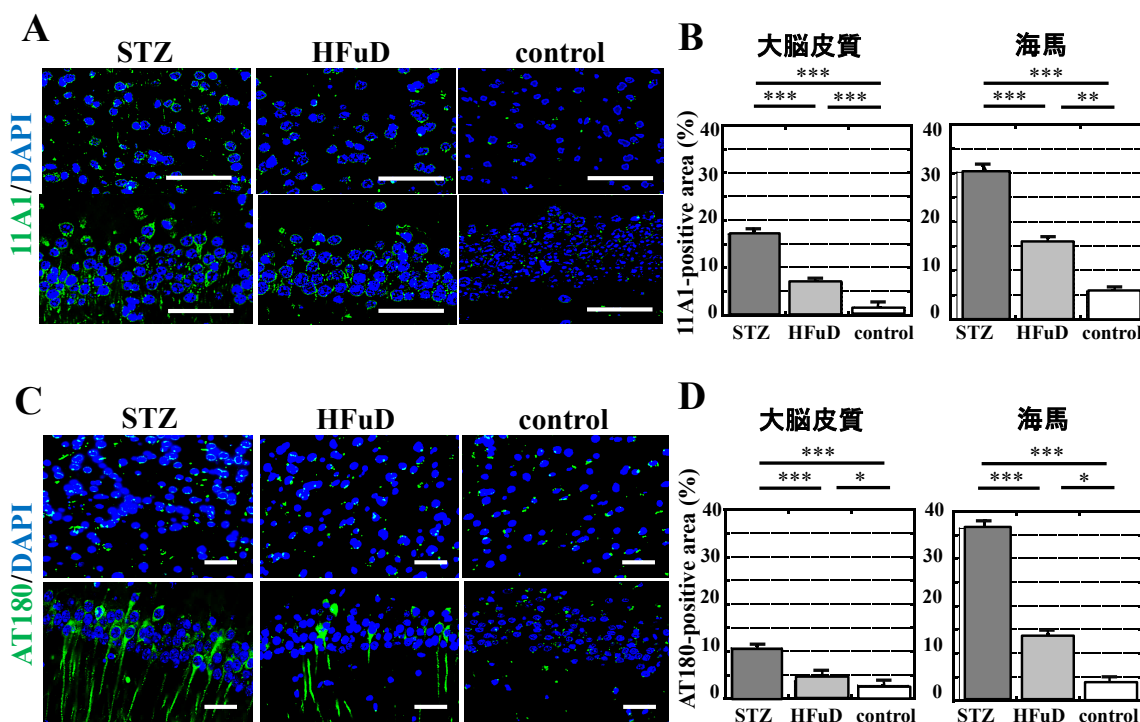


図 1 3xTg-AD マウス脳神経細胞内の Aβ42 および p-tau の蓄積

A, C) 11A1 (toxic Aβ42 conformer) および AT180 (p-tau) 抗体による蛍光免疫染色 (緑色)。青色は DAPI による核染色。Bars = 50 μm
B, D) 各染色の相対的面積割合 (各群 n = 12)。*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

経細胞内でtoxic A β 42 conformerとタウオリゴマーの共凝集物が陽性 (図2)、⑤AD脳の慢性炎症である活性化ミクログリア増加もSTZ群で顕著であった (図3)。以上より、インスリン欠乏とインスリン抵抗性

上昇のどちらもA β ・p-tau蓄積およびミクログリア炎症を促進するが、インスリン欠乏群で変化がより顕著な結果であった。

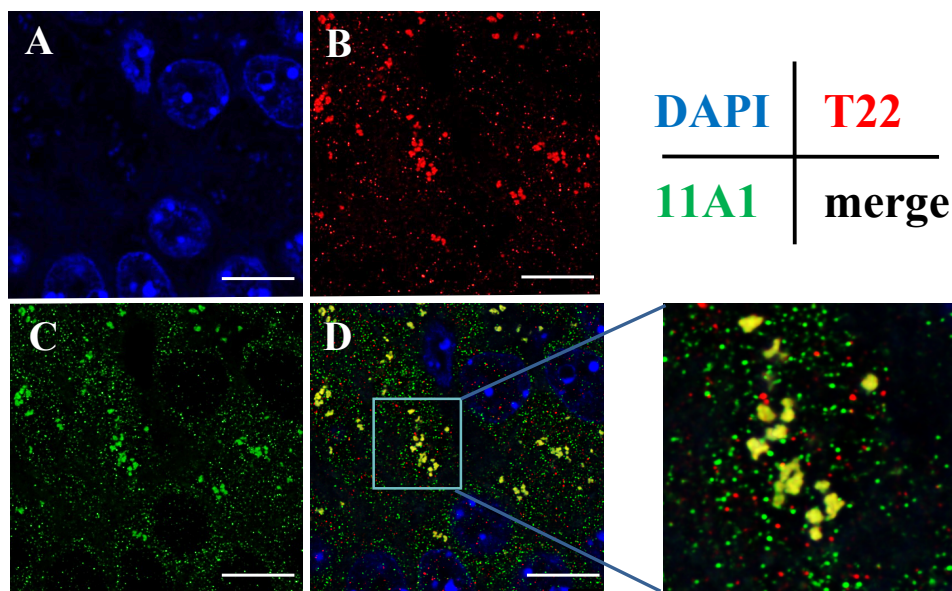


図2 STZ注射3xTg-ADマウス脳神経細胞内のA β 42およびp-tauの共凝集

A) DAPI (核染色)、B) T22 (tau oligomer)、C) 11A1 (toxic A β 42 conformer)、D) merge。
赤 (p-tau) と緑 (A β 42) のドットよりも大きな黄色の構造物は両者の共凝集物と考えられる。Bars = 10 μ m

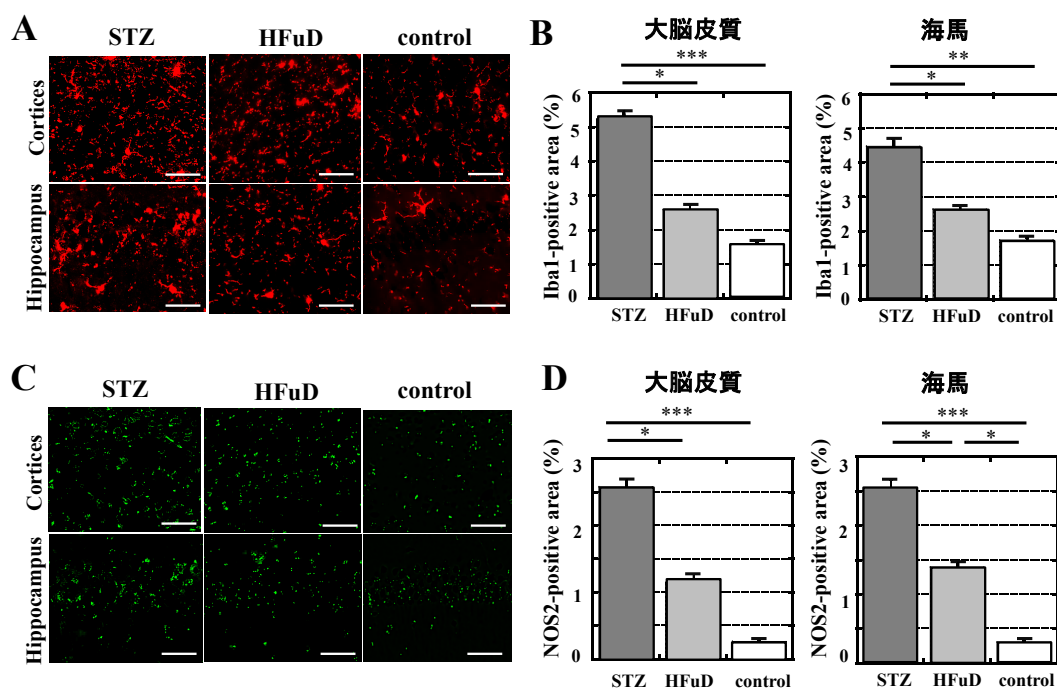


図3 3xTg-ADマウス脳組織のミクログリア活性化

A, C) Iba1 (ミクログリア、赤) および NOS2 (活性型ミクログリア、緑) 抗体による蛍光免疫染色。
Bars = 50 μ m
B, D) 各染色の相対的面積割合 (各群 n = 12)。*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

3xTg-ADマウス脳のインスリンシグナリング障害とAPO治療

我々は以前、APOの皮下注射で3xTg-ADマウスの脳神経細胞内のAβ42分解を促進し記憶障害を改善することを見出した⁹⁾。また少数の臨床研究で、APO皮下注射でAD患者の記憶機能の改善を認めた^{1,10)}。APO注射では脳神経細胞のインスリン抵抗性が改善するため²⁾、細胞内のインスリンシグナリング障害を改善する可能性が考えられる。インスリンシグ

ナリングはAktやGSK-3βのリン酸化レベルに反映される(図4)。そこで、TR-FRET法でpAktおよびpGSK-3βを測定すると、どちらもHFuD群よりSTZ群で顕著に低下していた(図5)。さらに、培養Neuro-2a細胞でpAktおよびtotal Aktを測定すると、APO処理でpAktの相対的増加が見られた(図6)。また、PI3K-Akt経路は主にミクログリアに発現しているTREM2受容体のシグナルも担っており、同経路の活性化はミクログリア炎症も抑制する可能性がある。

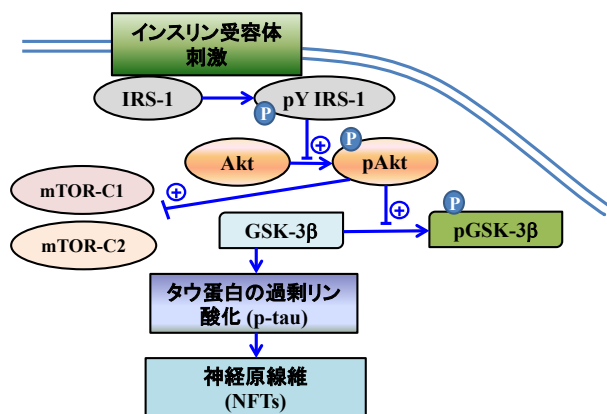


図4 細胞内インスリンシグナリングの簡略シェーマ

インスリン受容体が刺激されると IRS-1 のチロシン残基がリン酸化され、リン酸化 IRS-1 は Akt をリン酸化、さらに pAkt は GSK-3β をリン酸化する。また、pAkt は mTOR を活性化し細胞周期を調節する。非リン酸化 GSK-3β がタウ蛋白の過剰リン酸化を促進する。

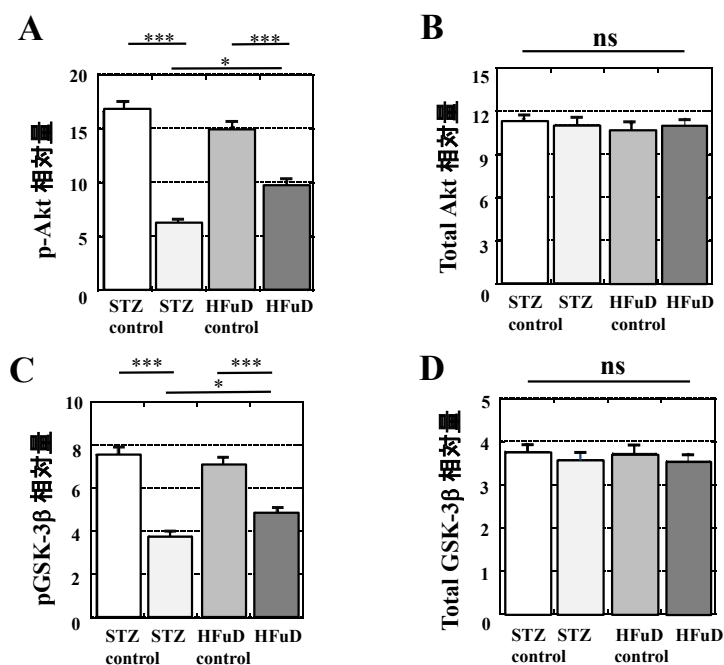


図5 3xTg-AD マウス脳組織の Akt および GSK-3β のリン酸化

A) pAkt, B) Total Akt, C) pGSK-3β, D) Total GSK-3β。pAkt, pGSK-3βとも STZ 群および HFuD 群で低下しており、STZ 群でより顕著。一方、total Akt や total GSK-3βは変化なく、STZ 群および HFuD 群でリン酸化プロセスの低下と考えられる。ns = not significant, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

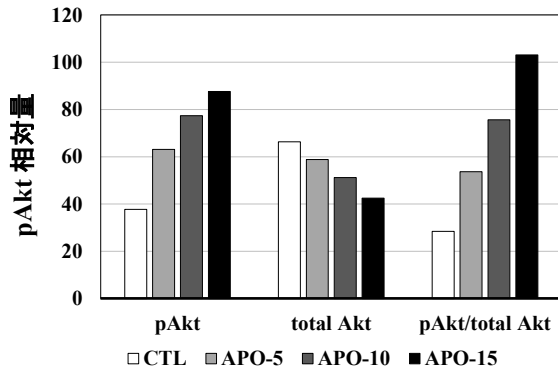


図6 Neuro-2a細胞のAktリン酸化におけるAPOの作用

無血清培地に添加するAPOの用量に比例して、pAktの増加、total Aktの減少、その結果、pAkt/total Akt比の上昇が見られる。(n = 1)

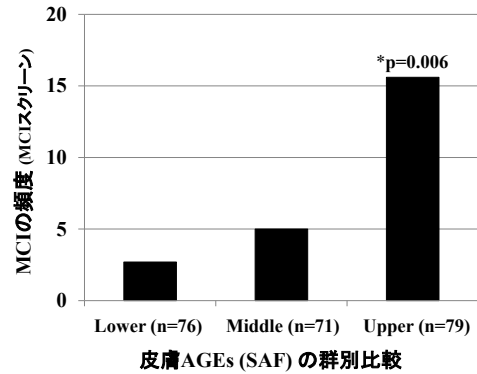


図7 AGEsの皮膚蓄積とMCI頻度の相関

皮膚AGEsの蓄積は自家蛍光 (Skin autofluorescence, SAF) で表される。SAFレベルで低・中・高の3群に分け、MCIスクリーンで診断した健忘型MCIの頻度を表した。高SAF群でMCI頻度が有意に高かった (p = 0.006)。

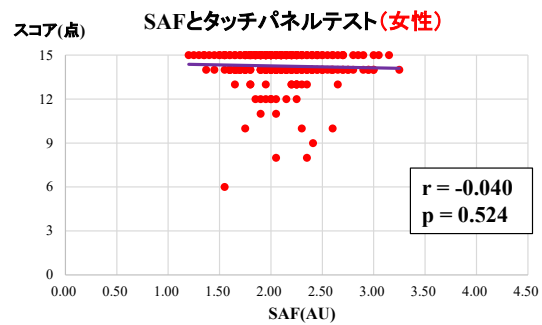
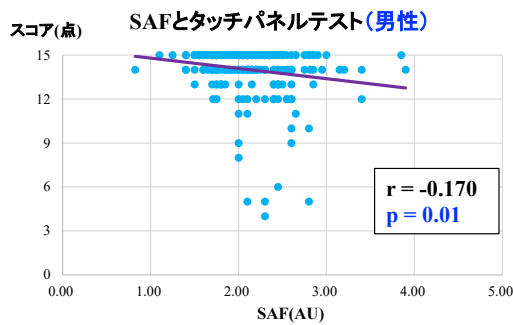
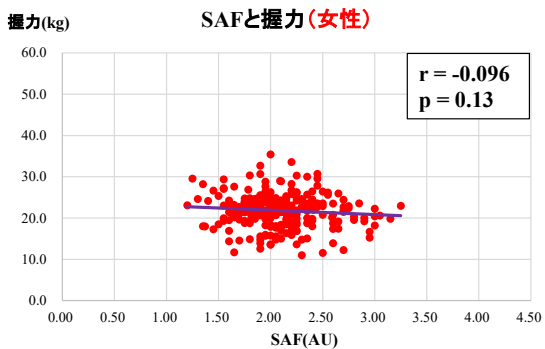
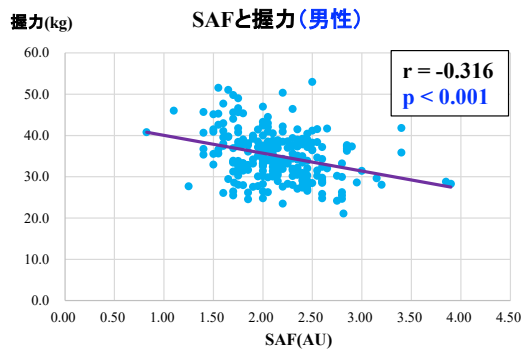


図8 皮膚 AGEs 蓄積と握力および認知機能の相関 (男女別)

皮膚AGEsレベルはSAF値で表される。Pearson解析で、男性群において、SAFと握力、SAFとタッチパネルスコア間で有意な逆相関あり。

サルコペニア、MCI と AGEs の相互作用

最後に、サルコペニア、MCIと終末糖化産物 (AGEs) の関係について解説する。AGEsは糖尿病や加齢と共に全身に蓄積する老化マーカーの一つで、皮膚AGEsの自家蛍光を簡便に測定するAGE-Reader® (DiagnoOptics社) が利用されている。愛媛大学病院の抗加齢・予防医療センターでは健常高齢者のコホート研究を行っており、MCIとAGEs蓄積の相関や

(図7)¹¹⁾、サルコペニア指標の一つの握力やタッチパネル式認知機能とAGEs蓄積の逆相関を男性群で認めている (図8)。皮膚AGEsは老化や糖代謝異常を反映するだけでなく、筋肉や脳の老化、すなわちサルコペニアや認知機能低下の臨床的バイオマーカーとして期待できるかもしれない。逆に、AGEs摂取を抑制することでサルコペニアや認知機能低下を予防できる可能性についても今後検討する必要がある。

おわりに

AD進行期の認知障害の改善には、神経細胞、ミトコンドリアやアストロサイトの機能改善が重要であり、治療標的の一つはインスリンシグナリングを主とするPI3K-Aktシグナルと考えられる。それがADの根本的治療薬の開発・実用化につながることを期待している。

文献

- 1) 大八木保政. アルツハイマー病：脳の糖尿病の治療薬開発. 老年期認知症研究会誌 21: 46-49, 2017.
- 2) Nakamura N, Ohyagi Y, Imamura T, Yanagihara YT, Iinuma KM, Soejima N, Murai H, Yamasaki R, Kira J. Apomorphine therapy for neuronal insulin resistance in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 58: 1151-1161, 2017.
- 3) Kopf D & Frölich L. Risk of incident Alzheimer's disease in diabetic patients: A systematic review of prospective trials. *J Alzheimers Dis* 16: 677-685, 2009.
- 4) Ohara T, Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, Hata J, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y. Glucose tolerance status and risk of dementia in the community: the Hisayama study. *Neurology* 77: 1126-1134, 2011.
- 5) Talbot K, Wang HY, Kazi H, Han LY, Bakshi KP, Stucky A, Fuino RL, Kawaguchi KR, Samoyedny AJ, Wilson RS, Arvanitakis Z, Schneider JA, Wolf BA, Bennett DA, Trojanowski JQ, Arnold SE. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J Clin Invest* 122: 1316-1338, 2012.
- 6) Craft S, Baker LD, Montine TJ, Minoshima S, Watson GS, Claxton A, Arbuckle M, Callaghan M, Tsai E, Plymate SR, Green PS, Leverenz J, Cross D, Gerton B. *Arch Neurol* 69: 29-38, 2012.
- 7) Hallschmid M. Intranasal Insulin for Alzheimer's disease. *CNS Drugs* 35: 21-37, 2021.
- 8) Imamura T, Yanagihara YT, Ohyagi Y, Nakamura N, Iinuma KM, Yamasaki R, Asai H, Maeda M, Murakami K, Irie K, Kira J. Insulin deficiency promotes formation of toxic amyloid- β 42 conformer co-aggregating with hyper-phosphorylated tau oligomer in an Alzheimer's disease model. *Neurobiol Dis* 137: 104739, 2020.
- 9) Himeno E, Ohyagi Y, Ma L, Nakamura N, Miyoshi K, Sakae N, Motomura K, Soejima N, Yamasaki R, Hashimoto T, Tabira T, LaFerla FM, Kira J. Apomorphine treatment in Alzheimer mice promoting amyloid- β degradation. *Ann Neurol* 69: 248-256, 2011.
- 10) Ohyagi Y, Takei SI. Insulin signaling as a therapeutic target in Alzheimer's disease: Efficacy of apomorphine. *Neurol Clin Neurosci* 8: 146-154, 2020.
- 11) Igase M, Ohara M, Igase K, Kato T, Okada Y, Ochi M, Tabara Y, Kohara K, Ohyagi Y. Skin autofluorescence examination as a diagnostic tool for mild cognitive impairment in healthy people. *J Alzheimers Dis* 55: 1481-1487, 2017.

この論文は、2021年9月25日（土）第23回九州老年期認知症研究会で発表された内容です。