

博士論文(2023年3月)内容の要旨および審査結果の要旨

鈴鹿医療科学大学大学院 薬学研究科

氏名 さとう まさや 佐藤 雅也

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 博(薬)甲第12号

学位授与の日付 令和5年3月10日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目「認知機能への高血糖の影響に関する研究」

論文審査委員(主査) 教授 佐藤 英介 医学博士
(副査) 教授 定金 豊 博士(理学)
教授 米田 誠治 Ph.D.in Chemistry (オランダ)
教授 田口 博明 博士(薬学)
教授 西田 圭吾 博士(医学)

論文要旨

氏名	佐藤 雅也
----	-------

論文の題名

認知機能への高血糖の影響に関する研究

論文の要旨

序論

「日本における認知症の高齢者人口の将来推計に関する研究」によると、2012年時点での認知症高齢者数は約462万人で、2020年には、認知症高齢者数は約600万人まで増加している。2025年には65歳以上の5人に1人、約700万人が認知症を患っていると予測されており、認知症患者の数は今後さらなる増加が見込まれている。近年、血糖コントロール不良に伴う認知機能低下、また糖尿病（Diabetes Mellitus:以下、DM）がアルツハイマー型認知症（Alzheimer's Disease:以下、AD）を始めとした認知症の危険因子であることが指摘されている。65歳以上を対象とした久山町研究では、糖尿病患者は非糖尿病患者に比べて海馬容積が有意に小さいとの報告があり、DMと認知症との関係に関する様々な研究が行われている。また、高血糖及びDMによる認知症発症には終末糖化産物（Advanced Glycation End Products:以下、AGEs）の関与が報告されている。しかし、DMによる認知症発症のメカニズムの詳細は不明である。

当研究室では、DMによる認知症発症のメカニズムの解明を目指して研究を行ってきた。本研究では、高血糖が認知機能及び海馬に与える影響について検証するため、患者を対象とした高血糖と認知機能の関係に関する臨床調査研究、動物モデルを用いた高血糖による認知機能及び脳組織への影響について臨床研究と基礎研究の両面から研究を行った。

第1章 高血糖と認知機能の関係に関する調査

第1章では、精神科領域の患者を対象に高血糖による認知機能への影響について調査を行った。65歳以上の患者401名（男性：188名、女性：213名）を電子カルテにより、後方視的調査を行い、解析対象者125名（男性：61名、女性：64名）とした。このうち、AD患者（39名）に対して、非DM群とDM群のHbA1c値と長谷川式簡易知能評価スケール（HDS-R）による認知機能評価を行った。その結果、非DM群と比較してDM群でHbA1c値が有意に高く、HDS-Rの平均スコアの有意な低下がみられ、高血糖による認知機能低下が考えられた。またHDS-Rの9項目のうち、海馬の機能を評価している「3つの単語の遅延再生」で非DM群と比較してDM群で低下傾向がみられ、高血糖による海馬へ影響も示唆された。このことから、高血糖が海馬を萎縮させ、認知機能低下を引き起こしている可能性が示唆された。

第2章 糖負荷によるマウスの認知機能への影響

第1章から得られた「高血糖による認知機能低下」についての考察を検証するため、マウスを用いた糖負荷試験による認知機能と脳組織（海馬）への影響について検証を行った。試験動物は ddY 系雄性マウス 3 週齢を用いた。Control 群と糖負荷群に分けて飼育を行い、糖負荷には maltodextrin 溶液濃度を 10 %、20 %、30 % と設定し、90 日間の糖負荷を行った。90 日間の糖負荷で体重と血糖値は、経日的に上昇し、20 %糖負荷群において、control 群と比較して有意な上昇が認められた。自発運動、ローターロッド試験及び八方迷路試験の 3 つの行動薬理試験は、体重及び血糖値で最も影響が大きかった 20 %糖負荷群に絞り、更なる調査を行った。その結果、自発運動は control 群と 20 %糖負荷群で活動量に差はみられず、ローターロッド試験及び八方迷路試験では control 群と比較して 20 %糖負荷群で認知機能における運動機能障害及び、記憶障害が確認された。また、海馬についても CA1、CA2、CA3 と歯状回の各領域で control 群と比較し、20 %糖負荷で有意な縮小がみられた。海馬の萎縮と行動薬理試験における認知機能低下の併行性がみられたことから、高血糖により海馬の萎縮が起こり、認知機能低下を引き起こしている可能性が示唆された。この結果は、第1章で得られた考察を支持する。

第3章 海馬の萎縮と AGEs の関係

第2章までの結果においても「高血糖が海馬の萎縮を起し認知機能低下を引き起こしている」可能性が示唆された。第3章では、先行研究を基にした高血糖モデルマウスの作成と、高血糖による認知機能と海馬への影響について検討を行った。動物モデルは C57BL/6J (7 週齢) マウスを用いて試験を実施した。糖負荷群には、ニコチンアミド (Nicotinamide: 以下、NA)、ストレプトゾトシン (Streptozotocin: 以下、STZ) を事前に腹腔内投与した。その後、control 群と STZ 群 (Maltodextrin 溶液: 1 %、5 %、20 %) に分けて、4 ヶ月間飼育を行った。体重は control 群と 1 %糖負荷群で差はなく、血糖値は 1 %糖負荷群で Control 群と比較し、有意な上昇がみられた。行動薬理試験は血糖値の有意な上昇が確認された 1 %糖負荷群に絞り行った。自発運動量では、Control 群と 1 %糖負荷群で活動量に差はみられなかった。ローターロッド試験および八方迷路試験では control 群と比較して 1 %糖負荷群で認知機能における運動機能障害及び、記憶障害が確認された。海馬は各領域 (CA1、CA2、CA3、歯状回) で、control 群に比べて 1 %糖負荷群で有意な縮小がみられ、また脳内に AGEs も確認された。このことから、高血糖により海馬の萎縮が起こり、認知機能低下を引き起こしている可能性が示唆された。また、脳内に AGEs の形成が確認されたことから、海馬の萎縮と AGEs は関連がある可能性が示唆された。この結果から、第3章で作成したモデルマウスは高血糖モデルマウスとして評価可能であり、第1章から第2章までの「高血糖が認知機能低下を引き起こしている」可能性を支持するものである。

結論

本研究を通じて、高血糖が海馬の萎縮を引き起こし、認知機能低下を引き起こしていること、また海馬の萎縮と AGEs の形成と蓄積は関連がある可能性が示唆された。この高血糖が持続することで、AD などの認知症へ発展していく可能性が考えられる。そのため、DM の前段階である高血糖が認知機能低下を引き起こすことは、DM による認知症発症のメカニズムの解明に繋がると考

えられる。今回の結果を踏まえ、研究を継続することでDMによる認知症発症のメカニズムの解明の一助としていきたい。

引用文献

- 1) 内閣府：高齢社会白書 平成 29 年度版, 2017, pp19-21, 日経印刷, 東京
- 2) Cheng G, Huang G ,Deng H, Wang H :Diabetes as a risk factor for dementia and mild cognitive impairment ;A meta-analysis of longitudinal studies. Intern Med J,42 (5) : 484-491 (2012).
- 3) Launer LJ, et al: Effects of intensive glucose lowering on brain structure and function in people with type 2 diabetes (ACCORD MIND): a randomized open-label substudy. Lancet Neurol 10: 969-977, 2011
- 4) Ohara T, et al :Glucose tolerance status and risk of dementia in the community : the Hiayama study Neurology, 77 : 1126-1134, 2011
- 5) Yamagishi S, Fukami K, Matsui T: Crosstalk between advanced glycation end products (AGEs) -receptor RAGE axis and dipeptidyl peptidase-4-incretin system in diabetic vascular complications. Cardiovasc Diabetol 14: 2, 2015.
- 6) Shimizu R, Sakazaki F, Okuno T, et al. Difference in glucose intolerance between C57BL/6J and ICR strain mice with streptozotocin/nicotinamide-induced diabetes. *Biomed Res* 2012; 33: 63-66.

※和文で作成すること。用紙サイズ A4、2500 字以内 (MS 明朝 10.5 ポイント)。

論文審査結果の要旨

【判定結果】

当委員会は、佐藤 雅也氏による学位申請論文の審査及び口述による諮問を行った結果、博士（薬学）の学位を授与されるに相応しいと判断した。

【判定理由】

申請された論文は、認知機能への高血糖の影響に関する内容である。アルツハイマー病患者における糖尿病の既往歴と認知機能との関連を調査した結果、高血糖が認知機能に関与することを考察し、マウスを用いた高血糖モデルを作成して、高血糖が認知機能低下を引き起こすことを明らかにした研究成果の報告である。

第一章では、精神科領域の患者を対象に高血糖による認知機能への影響について調べている。65 歳以上の患者を電子カルテにより、後方視的調査を行い、このうちアルツハイマー病患者に対して、非糖尿病群と糖尿病群の HbA1c 値と長谷川式簡易知能評価スケール（HDS-R）による認知機能評価を行っている。その結果、非糖尿病群と比較して糖尿病群で HbA1c 値が有意に高く、HDS-R の平均スコアの有意な低下がみられ、高血糖によって認知機能が低下していることを言及した。また HDS-R の 9 項目のうち、海馬の機能を評価している「3 つの単語の遅延再生」で非糖尿病群と比較して糖尿病群で低下傾向がみられ、高血糖による海馬へ影響も示唆し、高血糖が海馬を萎縮させ、認知機能低下を引き起こしている可能性を考察した。

第二章では、第一章から得られた「高血糖による認知機能低下」についての考察を検証するため、マウスを用いた糖負荷試験による認知機能と脳組織（海馬）への影響について調べている。糖負荷には maltodextrin 溶液を使用している。その結果、自発運動は control 群と糖負荷群で活動量に差はみられず、ローターロッド試験及び八方迷路試験では control 群と比較して糖負荷群で認知機能における運動機能障害及び、記憶障害が確認されることを言及した。また、海馬についても CA1、CA2、CA3 と歯状回の各領域で control 群と比較し、糖負荷で有意な縮小がみられたことを言及した。海馬の萎縮と行動薬理試験における認知機能低下の併行性がみられたことから、高血糖により海馬の萎縮が起これ、認知機能低下を引き起こしている可能性が示唆され、第一章で得られた考察を支持している。

第三章では、第二章で作成したモデルマウスとは異なる方法で作成した高血糖モデルマウスを用いて、高血糖による認知機能と海馬への影響について調べている。糖負荷群は、Nicotinamide と Streptozotocin を事前に腹腔内投与して高血糖マウスを作成している。ローターロッド試験および八方迷路試験では control 群と比較して糖負荷群で認知機能における運動機能障害及び、記憶障害が確認された。海馬は各領域（CA1、CA2、CA3、歯状回）で、control 群に比べて糖負荷群で有意な縮小がみられ、また脳内に終末糖化産物（AGEs）も確認された。このことから、高血糖により終末糖化産物（AGEs）

が脳内に形成され、それによって海馬の萎縮が起こり、認知機能が低下すると言及している。従って、第三章で作成したモデルマウスも高血糖モデルマウスとして評価可能であり、第一章と第二章の「高血糖が認知機能低下を引き起こす」ことを支持している。

以上のような申請者の研究について審査委員会は慎重に審議し、下記の結論を得た。申請者は薬学研究科において、臨床での知見を分子病態学にまで発展させ、鋭い観察力や分析力、展開力を持って研究を遂行した。また申請者の研究より得られた知見は、高血糖による認知機能低下の分子病態の理解を前進させた。これらの研究から血糖値の制御が、将来的な認知機能低下の予防に繋がることを期待できるものと考えられる。従って、申請者は博士（薬学）の学位を授与することに値する。