

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05420

研究課題名（和文）脳内環境を保護するトリプトファン代謝鍵酵素の調節機構と食品を介した制御

研究課題名（英文）Regulatory mechanisms of tryptophan metabolic key enzymes protecting brain functions by food components

研究代表者

江頭 祐嘉合（Egashira, Yukari）

千葉大学・大学院園芸学研究院・教授

研究者番号：80213528

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：哺乳類において2アミノ3カルボキシムコン酸6セミアルデヒド脱炭酸酵素（ACMSD）はトリプトファンからナイアシンへの転換率を支配する鍵酵素である。また、ACMSDは神経毒キノリン酸の産生にも大きく影響している。本研究では、炎症を誘導したマウス由来ミクログリア細胞（脳内マクロファージ細胞）に食品成分を添加し、トリプトファン代謝鍵酵素の発現、炎症マーカーの分泌、作用機序を検討した。その結果、アピゲニンなどある種の食品成分は、リポ多糖で誘導した炎症を抑制するとともにACMSDやIDOなどの発現にも影響を与え、そのメカニズムとしてNF- κ B経路、MAPK経路、転写因子に作用することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トリプトファン代謝鍵酵素であるアミノカルボキシムコン酸セミアルデヒド脱炭酸酵素（ACMSD）は、トリプトファンからナイアシンへの転換率に寄与する以外に、炎症時に脳内免疫系にも関与することを示した。また、脳内に移行するある種の食品成分により、脳内炎症が抑制されるとともにACMSDにも作用することを示した。本研究の結果から、ある種の食品成分は、脳内マクロファージの炎症シグナル経路に影響を与え、神経毒キノリン酸の産生にかかわる酵素ACMSDの活性も制御することから、神経炎症を伴う疾患の予防に繋がる可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：In mammals, 2-amino-3-carboxymuconate 6-semialdehyde decarboxylase (ACMSD) is the key enzyme controlling the conversion ratio of tryptophan to niacin. ACMSD also has a significant effect on the production of the neurotoxin quinolinic acid. In this study, some kinds of food components were added to inflammation-induced mouse-derived microglial cells to examine the expression of ACMSD and IDO, secretion of inflammatory markers, and mechanisms of the action. The results showed that certain food ingredients suppressed inflammation and affected the expression of tryptophan metabolic key enzymes by inhibiting the NF- κ B pathway, MAPK pathway, and transcription factors.

研究分野：食品科学

キーワード：トリプトファン ナイアシン ACMSD ミクログリア アミロイド キノリン酸 LPS IDO

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

トリプトファンの中間代謝産物であるキノリン酸は、中枢神経系において多量に存在すると神経細胞上の NMDA 型グルタミン酸受容体を介して神経細胞を変性させることが報告されている。そのため、脳内におけるキノリン酸を減少させることは、神経変性を伴う疾患の予防に繋がると考えられる。実際に認知症の症状を示す HIV 感染末期患者の血液および脳髄液中においてキノリン酸の増大が報告されている()。そのキノリン酸の産生に影響を与える酵素のひとつにインドールアミン 2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO) とアミノカルボキシムコン酸セミアルデヒド脱炭酸酵素 (ACMSD) がある。我々は ACMSD 活性と血中のキノリン酸濃度との間に負の相関関係があることを見出した()。つまり ACMSD 活性が低いとトリプトファンからキノリン酸への産生が増加し、逆に ACMSD 活性が高いと産生量が減少する。ACMSD はトリプトファンからナイアシンへの転換率を支配する鍵酵素でもあり、脳、肝臓、腎臓に発現している。またこの酵素は栄養条件、ホルモン、糖尿病、腎臓病などの疾病で活性が変動することが報告されている。しかし、急性炎症、慢性炎症下での脳や脳内免疫細胞における ACMSD の関与や食品成分による影響、調節機構は明らかではない。

2. 研究の目的

脳炎症誘導時における ACMSD の変動と調節機構を明らかにするとともに食品成分の影響および作用機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウス由来の脳内免疫細胞であるミクログリア細胞 (MG6) に、調整したアミロイド (A₄₂) あるいはリポ多糖 (LPS) を添加し炎症を誘発させた。そして、炎症性サイトカインの分泌、トリプトファン代謝鍵酵素 ACMSD と IDO の発現を測定した。

(2) ミクログリア細胞の培養液に LPS を添加し 24~48 時間培養した。LPS を添加すると同時に食品成分 (フラボノイド、アミノ酸) の濃度を変えて添加し、炎症マーカーおよび炎症性サイトカインの培養液への分泌、ACMSD と IDO の発現を測定した。炎症抑制効果のあった食品成分に関しては、その作用機序を調べるため、炎症シグナルの NF- κ B 経路、MAPK 経路への関与をウエスタンブロット分析を行い検討した。

(3) マウス (ICR 雄) に LPS を投与するとともに細胞の実験で効果のあった食品成分を経口投与し、脳内のトリプトファン代謝鍵酵素の発現を定量 PCR 法で測定した。

4. 研究成果

(1) アミロイド の細胞培養液への添加 (10, 20 μ M) はミクログリア細胞の炎症を誘発した。炎症マーカーである一酸化窒素 (NO) 産生量は、それぞれアミロイド 無添加群の 3 倍、5.9 倍であった。しかし、LPS の添加時に比べて NO や炎症性サイトカイン TNF、IL-6 の分泌量が低かったため、今後は LPS による炎症誘導で実験を行うこととした。

(2) ミクログリア細胞に LPS を添加すると同時にフラボノイドのアピゲニン (5~20 μ M) を添加し培養後、炎症性サイトカイン、ACMSD、IDO の発現を測定した。LPS の添加により NO、IL-6 分泌量は大きく増加した (図 1)。LPS 添加後 30 時間において、IDO の遺伝子発現は有意に上昇し、48 時間後には LPS 無添加群の 5.5 倍に上昇した。一方、ACMSD の発現は、LPS 添加 30 時間後には対照群 (LPS 無添加群) より有意に低下した (図 2)。炎症時の IDO の増加および ACMSD の減少から神経毒キノリン酸の増加が予想される。一方、ミクログリア細胞にフラボノイドのアピゲニン (0~20 μ M) を LPS とともに同時添加し培養すると、用量依存的に NO および IL-6 の分泌が有意に低下し炎症が抑制された (図 1)。そしてアピゲニンの添加により IDO の有意な低下および ACMSD の有意な増加がみられた (図 2)。そのメカニズムとして NF- κ B 経路および Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路の阻害の関与を明らかにした()。ACMSD は、転写因子 hepatocyte nuclear factor-4 (HNF4) と転写コアクチベーター peroxisome proliferator-activated receptor- coactivator (PGC) 1 により正に制御される。HNF4 の転写活性は、炎症シグナルである Erk/MAPK、JNK/MAPK、NF- κ B 経路の活性化によって阻害されることが報告されている。また、NF- κ B 経路の活性化が抑制されると PGC1 の発現が増強することも報告されていることから、これらの転写因子を介して ACMSD 発現が回復・増加した可能性が考えられた()。アピゲニンはセロリ、パセリ、紫蘇など様々な野菜に含まれるフラボノイドである。また我々は玉葱や緑茶にも含まれるフラボノイドのケルセチンやアミノ酸のヒスチジンでもほぼ同様の効果を確認した (投稿準備中)。

(3) マウスに LPS を投与すると海馬、線条体、小脳における IDO と ACMSD の遺伝子発現が変動し、アピゲニンの経口投与により正常群 (LPS 無処理マウス群) の値に近づいた。脳内ミクログリアの炎症により、神経毒キノリン酸の産生に大きな影響を及ぼす ACMSD の発現が変動することは興味深い。さらに野菜などに含まれる血液脳関門を通過するアピゲニンやケルセチンがこの酵素の発現にも影響することから、これらの食品成分は脳内炎症を伴うようなあ

る種の疾病予防に寄与する可能性が考えられた。

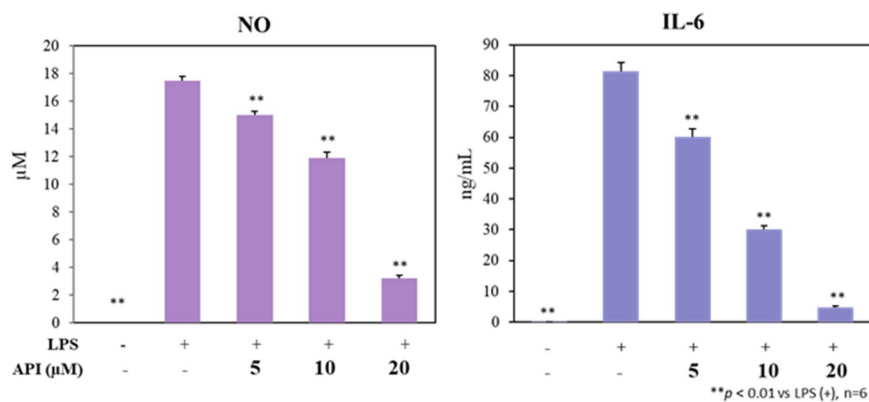
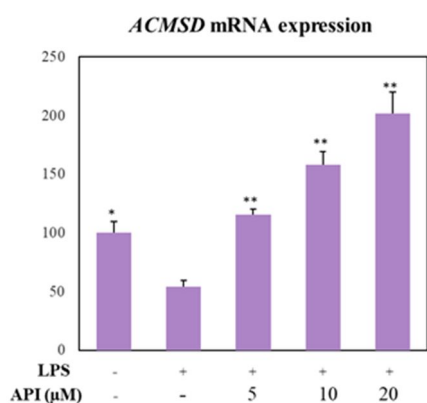


図1. ミクログリア細胞に LPS とアピゲニン (API) を同時添加した時の炎症マーカーである NO と IL6 の分泌量 (論文 より引用)



Values indicate the mean \pm SE (n=6). *p < 0.05 and **p < 0.01 vs LPS (+)API (-).

図2. ミクログリア細胞 MG6 に LPS とアピゲニン (API) を同時添加した時の ACMSD の遺伝子発現 (論文 より引用)

引用文献

- Heyes MP, Saito K, Lackner A, Wiley CA, Achim CL, Markey SP (1998) Sources of the neurotoxin quinolinic acid in the brain of HIV-1-infected patients and retrovirus-infected macaques. *FASEB J.* 12(10):881-896.
- Egashira Y, Sato M, Saito K, Sanada H (2007) Dietary protein level and dietary interaction affect quinolinic acid concentration in rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 77(2):142-148.
- Kurniati D, Hirai S, Egashira Y (2023) Effect of apigenin on tryptophan metabolic key enzymes expression in lipopolysaccharide-induced microglial cells and its mechanism. *Heliyon* 9(1):e12743.
- 江頭祐嘉合 (2023) ミクログリア細胞におけるトリプトファン・ナイアシン代謝鍵酵素と炎症, *ビタミン*, 97(9):419-421.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kurniati Dian, Hirai Shizuka, Egashira Yukari	4. 巻 9
2. 論文標題 Effect of apigenin on tryptophan metabolic key enzymes expression in lipopolysaccharide-induced microglial cells and its mechanism	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e12743
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2022.e12743	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

1. 著者名 江頭祐嘉合	4. 巻 97
2. 論文標題 ミクログリア細胞におけるトリプトファン・ナイアシン代謝鍵酵素と炎症	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ビタミン	6. 最初と最後の頁 419-421
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 有
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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yukari Egashira
2. 発表標題 Alteration of tryptophan-NAD metabolism by nutritional factors and its mechanism
3. 学会等名 国際トリプトファン学会（オンラインシンポジウム）（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 江頭祐嘉合, Dian Kurniati, 平井静, Kei 国慶
2. 発表標題 LPS処理ミクログリア細胞におけるニコチンアミドモノヌクレオチド（NMN）のトリプトファン・NAD代謝鍵酵素と炎症に及ぼす影響
3. 学会等名 日本ビタミン学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松山大治朗, 佐藤秀平, 平井 静, 江頭祐嘉合
2. 発表標題 LPS処理ミクログリア細胞におけるヒスチジンのトリプトファン・NAD代謝鍵酵素と炎症に及ぼす影響
3. 学会等名 日本アミノ酸学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐々木航大, 白田 茜, 西山衿加, 稲葉風月, Dian Kurniati, 平井静, 江頭祐嘉合
2. 発表標題 高たんぱく質食によるトリプトファン代謝鍵酵素ACMSD発現調節へのmTORの関与
3. 学会等名 日本栄養食糧・食糧学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 江頭祐嘉合, 平井静, Dian Kurniati
2. 発表標題 LPS炎症時のマウス脳内トリプトファン・NAD代謝鍵酵素に及ぼす紫蘇フラボノイドの影響
3. 学会等名 日本アミノ酸学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江頭祐嘉合, 平井静, Dian Kurniati, 越口愛美
2. 発表標題 食品成分が炎症誘導ミクログリア細胞の トリプトファン代謝鍵酵素の発現に及ぼす影響
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江頭祐嘉合, 平井静, Dian Kurniati, 越口愛美
2. 発表標題 トリプトファン・NAD代謝鍵酵素ACMSDと炎症との関連と食品成分の作用
3. 学会等名 JSTRY2022 (日本トリプトファン研究会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yukari Egashira, Dian Kurniati, Shizuka Hirai
2. 発表標題 Effect of perilla flavonoid apigenin on tryptophan-NAD metabolic key enzymes expression in LPS-stimulated microglial cells and its mechanism
3. 学会等名 22nd International congress of nutrition (ICN) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江頭祐嘉合, 西山衿加, 稲葉風月, Dian Kurniati, 平井静
2. 発表標題 ラットにおけるトリプトファン・NAD代謝鍵酵素ACMSDの高たんぱく質食による発現調節
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 江頭祐嘉合 (分担)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 理工図書	5. 総ページ数 335
3. 書名 食品学総論 (江頭祐嘉合編著)	

1. 著者名 江頭祐嘉合（分担）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 635
3. 書名 ビタミン・バイオフィクター総合事典（日本ビタミン学会編集）	

1. 著者名 江頭祐嘉合（分担）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 理工図書	5. 総ページ数 405
3. 書名 基礎栄養学（小林謙一編著）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

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		
インドネシア	Universitas Padjadjaran		