

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K10997

研究課題名(和文)末梢アミノ酸代謝変動による高次脳機能低下を抑制する食環境の構築

研究課題名(英文) Establishment of dietary environment for regulation of higher brain function via control of peripheral amino acids metabolism

研究代表者

福渡 努 (FUKUWATARI, Tsutomu)

滋賀県立大学・人間文化学部・教授

研究者番号：50295630

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：末梢のアミノ酸代謝制御によってトリプトファン代謝産物キヌレン酸を介した高次脳機能の調節を目指し、疾病モデル動物における末梢および脳のトリプトファン代謝変動について調べた。NASHおよび急性肝炎によって、脳のアストロサイトが影響を受け、キヌレニンからキヌレン酸への産生が亢進した。部分肝切除によって脳キヌレン酸産生が亢進、潰瘍性大腸炎によって抑制された。この機構として、肝トリプトファン代謝の抑制/亢進に伴い、非肝臓組織におけるトリプトファン代謝が亢進/抑制され、脳内キヌレン酸産生が亢進/抑制することを明らかにした。以上より、末梢のトリプトファン代謝変動が脳機能に影響をおよぼす可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、末梢の代謝変動が高次脳機能に影響をおよぼす可能性を示すものであり、栄養学と脳神経科学を融合した新たな研究領域を開拓・展開するものである。食事や運動などの生活習慣によって末梢の代謝変動を調節することにより、脳神経疾患の発症予防、高次脳機能低下の予防・軽減につながる。さらには、高齢者の認知機能低下の予防・軽減に貢献するという社会的意義をもつ。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to regulate the higher brain function via tryptophan metabolite kynurenic acid by control of amino acids metabolism in the peripheral. We investigated the brain and peripheral tryptophan metabolism using model animals. NASH and acute liver failure affected function of kynurenine metabolism in the astrocytes, and then enhanced kynurenic acid production from kynurenine. Partial hepatectomy increased brain kynurenic acid, whereas ulcerative colitis decreased. The mechanisms of these phenomenon are that suppression/enhancement of liver tryptophan degradation induces enhancement/ suppression of tryptophan degradation in the non-hepatic tissues, and thus brain kynurenic acid production is enhanced/suppressed. These results suggest that changes of peripheral tryptophan metabolism affect higher brain function via changes of brain kynurenic acid levels.

研究分野：栄養学および健康科学

キーワード：アミノ酸 脳神経科学 代謝

1. 研究開始当初の背景

キヌレン酸はトリプトファン異化代謝経路であるキヌレニン経路の代謝産物の一つであり、近年、脳神経科学者の注目を集めている。キヌレン酸は生理的濃度で NMDA 受容体および $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体 ($\alpha 7nAChR$) のアンタゴニストとして作用し、これらの受容体は神経伝達物質の放出を介して高次脳機能を調節する。実験動物において、脳キヌレン酸濃度の増加はドーパミンやグルタミン酸などの神経伝達物質の放出を抑制し、認知機能の低下、うつ様症状を招く。また、脳キヌレン酸濃度の低下は神経伝達物質の放出を亢進し、認知機能および統合失調様症状を改善する。ヒトにおいては、統合失調症、双極性障害、アルツハイマー病の患者の脳におけるキヌレン酸濃度が高いことが報告されている。このように、キヌレン酸と脳神経系疾患との関与が示唆されることから、キヌレン酸代謝異常が脳神経系疾患を誘発するというキヌレン酸仮説が提唱されている。したがって、キヌレン酸代謝を正常に保つことは、脳環境を適切に維持することに寄与すると考えられる。

研究代表者らは、これまでに栄養学的見地からアミノ酸摂取による脳キヌレン酸産生調節の可能性について検討してきた。その結果、高トリプトファン食の摂取がキヌレン酸濃度の増加およびドーパミン放出の低下を招くことを明らかにした。さらには、10 種のアミノ酸が *in vitro* でキヌレン酸産生抑制作用をもち、*in vivo* では高リジン食と高分岐鎖アミノ酸食がキヌレン酸産生抑制およびドーパミン代謝亢進作用をもつことを見出した。以上の知見は、食事によるキヌレン酸産生亢進は高次脳機能に影響をおよぼすこと、高次脳機能は食事によって調節できることを示している。

国内外におけるキヌレン酸研究の多くは、脳内キヌレン酸産生を抑制する薬剤の開発、脳キヌレン酸濃度上昇と脳神経疾患との関係の解明に向けられており、脳キヌレン酸濃度が上昇する因子については不明な点が多い。食事によって脳キヌレン酸産生を制御し、高次脳機能を調節するためには、キヌレン酸産生亢進が生じる因子を明らかにし、その作用部位と作用機序を解明する必要がある。脳キヌレン酸産生に影響をおよぼす作用点として、大別すると、脳におけるキヌレニンからキヌレン酸への産生、末梢におけるトリプトファン代謝変動による血中キヌレニン濃度の変動が挙げられる。末梢において、大部分のトリプトファンは肝臓によって異化代謝され、インドール 2,3-ジオキシゲナーゼを発現する一部の非肝臓組織によっても代謝される。肝臓のトリプトファン代謝が変動すると、それに伴って非肝臓組織によるトリプトファン代謝も変動し、これらの末梢トリプトファン代謝変動によって脳キヌレン酸濃度が影響を受ける可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、高次脳機能低下を予防・軽減する食環境の構築を目指すため、末梢のアミノ酸代謝変動が脳内トリプトファン代謝を介した脳機能調節におよぼす影響およびその機構を解明することを目的とした。このために、疾病による末梢のアミノ酸代謝変動と脳キヌレン酸産生との関係を明らかにすることを目的として、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH)、急性肝炎、潰瘍性大腸炎のモデル動物について検討した。さらに、トリプトファン代謝の主要な役割を担う肝臓のトリプトファン代謝変動が脳キヌレン酸に影響をおよぼすことを明らかにしたことから、部分肝切除モデル動物について検討した。

3. 研究の方法

(1) 動物の飼育

本研究における動物実験を行うにあたり、滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた。飼育室の温度を 22°C 前後、湿度を 50% 前後に維持した。明暗サイクルについては、午前 6 時～午後 6 時を明、午後 6 時～午前 6 時を暗とした。

(2) NASH モデル動物の作成

6 週齢の Wistar 系雄ラットに NASH 誘導食としてコリン欠乏・メチオニン減量 (CDAA) 飼料、対照食としてコリン添加・メチオニン減量 (CSAA) 飼料を与え、12 週間飼育した。飼育期間中、24 時間尿を採尿し、分析に供した。飼育終了後にラットを屠殺し、採血および脳、肝臓、腓腹筋の摘出を行った。血液、組織を分析に供した。

(3) 急性肝炎モデル動物の作成

6 週齢の Wistar 系雄ラットを 2 群に分けた。四塩化炭素 (CCl_4) 処置群には 0.5 mL/kg CCl_4 を連続 3 日間腹腔内投与し、急性肝炎を誘導した。対照群にはコーン油を投与した。最終投与の 24 時間後にラットを屠殺し、採血および脳、肝臓、腓腹筋の摘出を行った。血液、組織を分析に供した。

(4) 潰瘍性大腸炎モデル動物の作成

8 週齢の Wistar 系雄ラットに 3% デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 溶液を 7 日間自由飲水させ、潰瘍性大腸炎を発症させた。その後、1% DSS 溶液を 7 日間与え、症状を緩和した。対照

群には水を自由飲水させた。飼育期間中、24時間尿を採尿し、分析に供した。DSS投与7日後および14日後にラットを屠殺し、採血および脳、肝臓、腓腹筋の摘出を行った。血液、組織を分析に供した。

(5) 部分肝切除モデル動物の作成

7週齢のWistar系雄ラットを2群に分けた。部分肝切除群に70%肝切除を行い、対照群に偽手術を行った。飼育期間中、24時間尿を採尿し、分析に供した。手術2, 3, 5日後にラットを屠殺し、採血および脳、肝臓、腓腹筋の摘出を行った。血液、組織を分析に供した。

(6) 分析

キヌレン酸はHPLC-蛍光検出法により、キヌレニン¹はHPLC-UV検出法により測定した。尿中のトリプトファン代謝産物をHPLC法により測定した。肝臓のトリプトファン²-ニコチンアミド転換経路の酵素活性を測定した。

4. 研究成果

(1) NASHがトリプトファン代謝と脳キヌレン酸におよぼす影響

CDA群の肝臓にトリグリセリドが蓄積し、血清AST, ALTが高値を示し、NASHであることを確認した。CDA群の線条体キヌレン酸濃度が高値を示したが、線条体および血清のキヌレニン濃度には影響は認められなかった。肝臓におけるキヌレニン濃度、尿中トリプトファン代謝産物排泄量が増大し、末梢トリプトファン異化代謝が亢進した。しかし、CDA群の肝NADシクターゼ活性、肝Nampt発現量、肝NAD濃度、肝、血中の総ニコチンアミド濃度は低値を示し、ナイアシン栄養状態の低下を認めた。以上の結果より、NASHによる脳キヌレン酸濃度の上昇は脳におけるキヌレン酸産生能の亢進に起因することが示唆された。

(2) 急性肝炎がトリプトファン代謝と脳キヌレン酸におよぼす影響

CCl₄処置群の肝臓において、トリプトファンからキヌレニン¹へ代謝するトリプトファン², 3-ジオキシゲナーゼ活性が低下したが、肝臓および血中キヌレニン濃度への影響は認められなかった。脳においては、キヌレニン濃度への影響は認められなかったが、キヌレン酸濃度が対象群よりも高値を示した。以上の結果より、急性肝炎によって肝臓のトリプトファン代謝は低下するものの血中キヌレニン濃度には影響せず、脳においてキヌレン¹からキヌレン酸²への産生が亢進することが示唆された。

(3) 潰瘍性大腸炎がトリプトファン代謝と脳キヌレン酸におよぼす影響

疾患活動係数等より、DSS投与7日後に潰瘍性大腸炎の活動期、14日後に寛解期であることを確認した。活動期では肝臓のキヌレニン¹経路律速酵素トリプトファン², 3-ジオキシゲナーゼおよび3-ヒドロキシアンスラニル酸デヒドロゲナーゼの活性が高値を示し、寛解期ではキヌレニナーゼ¹および3-ヒドロキシアンスラニル酸デヒドロゲナーゼ²の活性が高値を示した。寛解期におけるトリプトファン²-ニコチンアミド転換率は対照群の2.5倍を示した。活動期の血清キヌレニン濃度は低値を示したが、活動期と寛解期のいずれにおいてもキヌレン酸²の脳内濃度は影響を受けなかった。以上の結果より、潰瘍性大腸炎によって肝臓におけるトリプトファン²の異化代謝が亢進し、それに伴い非肝臓組織におけるトリプトファン²代謝が抑制されたことが示唆された。

(4) 部分肝切除がトリプトファン代謝と脳キヌレン酸におよぼす影響

手術2日後の部分肝切除群の肝臓重量は低値を示し、手術3, 5日後には回復していた。手術2日後の切除群において、血中および脳内のキヌレニン¹, キヌレン酸濃度は対照群と比較して高値を示し、肝臓トリプトファン²-ニコチンアミド転換経路酵素活性は低値を示した。手術3, 5日後には、血中および脳内のキヌレニン¹, キヌレン酸濃度への影響は認められなかった。以上の結果より、肝臓のトリプトファン²代謝が抑制されると、非肝臓組織のトリプトファン²代謝が亢進し、それに伴って非肝臓組織由来の血清キヌレニン濃度が上昇し、脳キヌレン酸濃度が上昇したことが示唆された。

(5) まとめ

本研究により、末梢のトリプトファン代謝変動が脳キヌレン酸産生に影響することを明らかにし、脳機能が影響を受ける可能性を示した。脳キヌレン酸産生が受ける影響には、①末梢由来のトリプトファン代謝産物が影響をおよぼす、②脳におけるキヌレン酸産生能が影響を受ける、の2パターンが存在することを明らかにした。さらに、①については、肝臓のトリプトファン代謝能力が鍵であり、肝臓で代謝しきれないトリプトファンが非肝臓組織で代謝されると、その非肝臓組織由来の血清キヌレニン濃度が上昇し、それに伴って脳によるキヌレニン取込量が増え、脳キヌレン酸濃度の上昇に繋がるというメカニズムを見出した。②については、肝臓のトリプトファン代謝変動が大きくなくても、末梢の炎症の種類によっては脳のキヌレン酸合成能が増大し、脳キヌレン酸濃度が上昇するというメカニズムを見出した。

脳キヌレン酸濃度の上昇が脳神経疾患の発症の原因の一つであることが指摘されているにも

かかわらず、国内外におけるキヌレン酸研究では、脳キヌレン酸濃度を上昇させる因子とそのメカニズムについては不明な点が多い。本研究成果は、脳キヌレン酸濃度上昇の因子とそのメカニズムを明らかにしたという点において、大きな学術的意義がある。また、脳神経疾患の発症予防、高次脳機能低下の予防・軽減において、脳だけを対象とするのではなく、末梢の代謝変動を制御する重要性を示したものであり、栄養学と脳神経科学を融合した新たな研究領域を開拓・展開するものである。今後、脳キヌレン酸濃度を上昇させる因子とそのメカニズムをさらに明らかにし、その知見に基づいて末梢の代謝変動制御による脳キヌレン酸濃度を調節するという研究の発展が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fukuwatari T.	4. 巻 12
2. 論文標題 Possibility of amino acid treatment to prevent psychiatric disorders via modulation of tryptophan metabolite kynurenic acid production	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 E1403
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu12051403	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 -
1. 著者名 Sekine A, and Fukuwatari T.	4. 巻 701
2. 論文標題 Acute liver failure increases kynurenic acid production in rat brain via changes in tryptophan metabolism in the periphery.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Lett	6. 最初と最後の頁 14-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2019.02.004.	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 -
1. 著者名 Klausing AD, Fukuwatari T, Bucci DJ, and Schwarcz R.	4. 巻 237
2. 論文標題 Stress-induced impairment in fear discrimination is causally related to increased kynurenic acid formation in the prefrontal cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Psychopharmacology	6. 最初と最後の頁 1931-1941
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00213-020-05507-x	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 該当する
1. 著者名 Hornigold N, Dunn KR, Craven RA, Zougman A, Trainor S, Shreeve R, Brown J, Sewell H, Shires M, Knowles M, Fukuwatari T, Maher ER, Burns J, Bhattarai S, Menon M, Brazma A, Scelo G, Feulner L, Riazalhosseini Y, Lathrop M, Harris A, Selby PJ, Banks RE, and Vasudev NS.	4. 巻 123
2. 論文標題 Dysregulation at multiple points of the kynurenine pathway is a ubiquitous feature of renal cancer: implications for tumour immune evasion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Br J Cancer	6. 最初と最後の頁 137-147
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41416-020-0874-y	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

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井上 真実, 畑山 翔, 福渡 努
2. 発表標題 急性肝炎が肝臓トリプトファン代謝および脳内キヌレン酸産生におよぼす影響
3. 学会等名 日本アミノ酸学会第13回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水谷 天音, 井上 真実, 福西 あずさ, 小泉 花奈絵, 畑山 翔, 辰巳 佐和子, 福渡 努
2. 発表標題 ラットにおける非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) および非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) がナイアシン栄養状態およびトリプトファン - ニコチンアミド転換経路におよぼす影響
3. 学会等名 日本アミノ酸学会第13回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上 真実, 畑山 翔, 福渡 努
2. 発表標題 急性肝炎が神経伝達物質キヌレン酸の産生におよぼす影響
3. 学会等名 第58回日本栄養・食糧学会近畿支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮前 里帆, 井上 真実, 小泉 花奈絵, 畑山 翔, 福渡 努
2. 発表標題 ラットにおける潰瘍性大腸炎がトリプトファン代謝におよぼす影響
3. 学会等名 第74回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関根愛莉, 福渡努
2. 発表標題 急性肝炎は末梢トリプトファン代謝変動を介して脳内キヌレン酸産生を増大させる
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上真実, 福西あずさ, 小泉花奈絵, 畑山翔, 福渡努
2. 発表標題 ラットにおける非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) が神経伝達調節物質キヌレン酸の産生におよぼす影響
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水谷天音, 井上真実, 福西あずさ, 小泉花奈絵, 辰巳佐和子, 畑山翔, 福渡努
2. 発表標題 ラットにおける非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) がナイアシン栄養状態におよぼす影響
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 畑山翔, 井上真実, 宮前里帆, 水谷天音, 福渡努
2. 発表標題 ラットにおける部分肝切除がトリプトファン - NAD合成経路におよぼす影響
3. 学会等名 日本アミノ酸学会第14回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮前里帆, 相宮紫乃, 畑山翔, 福渡努
2. 発表標題 部分肝切除が脳内キヌレン酸濃度におよぼす影響
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福渡努
2. 発表標題 トリプトファン - NAD経路代謝産物キヌレン酸と脳神経機能
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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		
米国	University of Maryland		