

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20780100

研究課題名（和文） トリプトファン代謝制御によるドーパミン機能調節に関する研究

研究課題名（英文） Study on modulation of dopaminergic function via manipulation of tryptophan metabolism

研究代表者

福渡 努（FUKUWATARI TSUTOMU）

滋賀県立大学・人間文化学部・准教授

研究者番号：50295630

研究成果の概要（和文）：トリプトファンの代謝産物キヌレン酸は脳内でニコチン作動性 $\alpha 7$ アセチルコリン受容体アゴニストとして作用することにより、神経伝達物質ドーパミン放出を抑制する。しかし、どのような生理的状態がキヌレン酸産生に影響をおよぼすのかについては明らかではない。本研究では、高血糖やホルモンなどの因子がキヌレン酸産生とドーパミン機能におよぼす影響について検討した。I型糖尿病モデルラット、チロキシソ投与ラット、エタノール摂取ラットについて検討した結果、ストレプトゾトシン誘発I型糖尿病モデルラットにおいて、脳内キヌレン酸濃度の上昇とドーパミン代謝回転抑制が認められた。高リシン食の摂取によってキヌレン酸産生増大を抑制できることから、ストレプトゾトシン誘発I型糖尿病モデルラットに1～3%リシン添加食を投与したところ、脳中キヌレン酸濃度はリシン摂取量依存的に低下し、ドーパミン代謝回転はリシン摂取量依存的に増大した。キヌレン酸前駆体であるキヌレニン濃度には変動が認められなかったことから、リシン代謝産物 α アミノアジピン酸の産生増大がキヌレニンからキヌレン酸への生合成を抑制したことが示唆された。高リシン食によるキヌレン酸濃度上昇抑制とドーパミン放出増加を示す結果は、食事を介してキヌレン酸産生を調節することによってドーパミン放出を正常な範囲に調整できる可能性を示すものである。

研究成果の概要（英文）：Tryptophan metabolite kynurenic acid (KYNA) is a preferential antagonist of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor ($\alpha 7$ nAChR). *In vivo*, nanomolar KYNA reduces the extracellular levels of dopamine in the brain via the blockade of $\alpha 7$ nAChRs. However, little is known what physiological state affect KYNA production in the brain. In the present study, we examined the effects of several physiological factors such as hyperglycemia and hormone change on the KYNA production and dopaminergic function. Type I diabetes model rats, thyroxin administrated rats and ethanol administrated rats were examined, and the streptozotocin-induced type I diabetes model rats showed the increase of brain KYNA concentration and the decrease of dopamine turnover. Since we previously reported that high lysine diet inhibit KYNA production in the rat brain, streptozotocin-induced type I diabetes model rats were fed on 1-3% lysine added diet. The brain KYNA concentration decreased, and the dopamine turnover increased in lysine-dependent manner in the streptozotocin-induced type I diabetes model rats. Taken together with no change of KYNA precursor kynurenine's concentration, these results suggest that increase of lysine metabolite α -amino adipic acid inhibited the KYNA synthesis from kynurenine. Present results showing inhibition of KYNA increase and induction of dopamine release by high lysine diet suggest that dietary manipulation of KYNA production can modulate dopamine release in normal range.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：栄養化学

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化合物である。というのは、キヌレン酸は低濃度でNMDA受容体および $\alpha 7$ ニコチン作動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、アルツハイマー病および統合失調症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ためである。キヌレン酸に関する知見の蓄積によって、キヌレン酸の生理的濃度変化がコリン作動性ニューロンやグルタミン酸作動性ニューロンに影響をおよぼすことが示唆されている。事実、キヌレン酸の増加によってグルタミン酸およびドーパミンの分泌が抑制され、キヌレン酸の低下によってドーパミンおよびアセチルコリンの分泌が促進されることが報告されている。

以上のように、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。しかし、どのような生理状態においてキヌレン酸産生が増減し、生理状態におけるキヌレン酸の増減がドーパミン機能にどのような影響をおよぼすのかについては明らかではない。

我々は、これまでに食品栄養学的見地からアミノ酸摂取による脳内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代謝回転の抑制を招くことを明らかにした。さらには、高リシン食の摂取がリシン代謝産物 α アミノアジピン酸産生を介することによってキヌレン酸産生増大とドーパミン代謝回転低下を抑制することを明らかにした。

2. 研究の目的

生理状態の変化は脳機能に影響をおよぼすことがある。例えば、糖尿病による高血糖状態、血糖コントロールの失敗による低血糖状態、甲状腺ホルモンチロキシン分泌の増加、エタノール摂取などが高次脳機能に障害をおよぼすことが知られている。本研究では、血糖値や上記のホルモンを変動させた実験動物を用いることにより、キヌレン酸産生に影響をおよぼす生理的因子とその機構について明らかにし、それによるキヌレン酸産生の変化がドーパミン機能にどのような影響をおよぼすのかを明らかにすることを目的とする。さらに、高リシン食の摂取が生理状態の変化によるキヌレン酸産生変動におよぼす影響についても検討することにより、食餌を介したキヌレン酸産生の調節がドーパミン機能におよぼす影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物飼育

本実験は滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた。飼育室の温度は22℃前後、湿度は50%前後に維持し、明暗サイクルは、午前6時～午後6時を明、午後6時～午前6時を暗とした。

動物実験にはWistar系雄ラットを用いた。チロキシン投与による影響について検討する実験では、3週齢のラットに0～5 mg/kgのチロキシンを含む20%カゼイン食を与え、28日間飼育した。エタノール摂取による影響について検討する実験では、3週齢のラットに20%カゼイン食と水あるいは15%エタノールを与え、28日間飼育した。高血糖による影響について検討する実験では、7週齢のラットに20%カゼイン食を7日間与えて予備飼育したのち、70 mg/kg体重となるようにストレプトゾトシンを腹腔内投与し、さらに7日間飼

育した。対照にはストレプトゾトシンの代わりに生理食塩水を腹腔内投与した。高血糖に対する高リシン食の影響を検討する実験では、7週齢のラットを7日間予備飼育したのちに70 mg/kg 体重のストレプトゾトシンを腹腔内投与し、さらに0~30 g/kg のリシンを添加した20%カゼイン食を与えて7日間飼育した。いずれの実験においても、飼育終了後にラットを屠殺し、脳と肝臓を摘出し、採血した。摘出した脳から線条体を摘出した。

(2) 組織切片を用いた *in vitro* 実験

Wistar 系 8 週齢雄ラットから大脳皮質を摘出し、ティッシュチョッパーで 1 mm 角の組織切片を作製した。2 μmol/L キヌレニンおよび 0.2~50 mmol/L グルコースを含むリンゲル緩衝液中でこの組織切片を 2 時間培養した。培養後、リンゲル緩衝液を回収し、キヌレニンの定量に用いた。

(3) 分析

キヌレニン酸は HPLC-蛍光検出法により、キヌレニンは HPLC-UV 検出法により、ドーパミン、ドーパミン代謝産物である 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸 (DOPAC) とホモバニリン酸 (HVA) は HPLC-電気化学検出法により測定した。DOPAC と HVA の合計に対するドーパミンの比をドーパミン代謝産物/ドーパミン比とした。

4. 研究成果

(1) チロキシン投与およびエタノール摂取がキヌレニン酸産生におよぼす影響

3 週齢のラットに 0~5 mg/kg チロキシン含有食あるいは 15%エタノールを 4 週間摂取させたが、脳キヌレニン酸濃度には変動は認められなかった。すなわち、チロキシン分泌の増大および長期のエタノール摂取はキヌレニン酸代謝には関与しないことが示唆された。

(2) I 型糖尿病モデルラットにおけるキヌレニン酸産生

8 週齢のラットにストレプトゾトシンを腹腔内投与し、ストレプトゾトシン誘発 I 型糖尿病モデルラットを作製した。生理食塩水を腹腔内投与した対照ラットと比べ、I 型糖尿病モデルラットの線条体におけるキヌレニン酸濃度は 160%の値を示した (図 1)。また、ドーパミン放出の指標となるドーパミン/ドーパミン代謝産物比は対照ラットの 70%の値を示し、ドーパミン代謝回転の低下が示唆された。

I 型糖尿病モデルラットにおけるキヌレニン酸濃度の上昇およびドーパミン代謝回転の低下を食餌によって抑制できるか明らかにすることを目的として、ストレプトゾトシン誘発 I 型糖尿病モデルラットに 0~30 g/kg リシン

添加食を与えた。線条体におけるキヌレニン酸濃度はリシン摂取量依存的に低値を示した (図 2A)。線条体におけるキヌレニン濃度にはリシン摂取による影響は認められなかったことから、キヌレニンからキヌレニン酸への生合成が抑制されたことが示唆された。ドーパミン代謝産物/ドーパミン比はリシン摂取量依存的に上昇した (図 2B)。以上の結果から、高リシン食の摂取によってリシン代謝産物 α アミノアジピン酸産生が促進され、α アミノアジピン酸がキヌレニン酸産生酵素キヌレニンアミノトランスフェラーゼ II の基質となることによってキヌレニン酸産生が抑制され、キヌレニン酸濃度の低下によってドーパミン放出が亢進された可能性が考えられた。

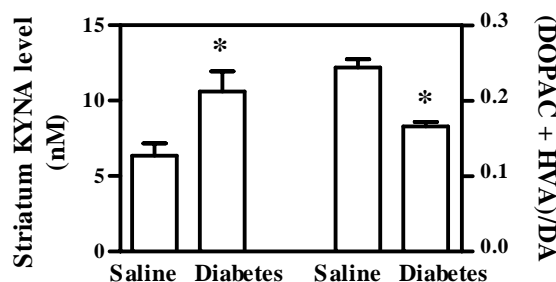


図 1 ストレプトゾトシン誘発 I 型糖尿病が線条体におけるキヌレニン酸濃度およびドーパミン代謝産物/ドーパミン比におよぼす影響。値は平均 ± 標準誤差 (n = 5~7) として示した。

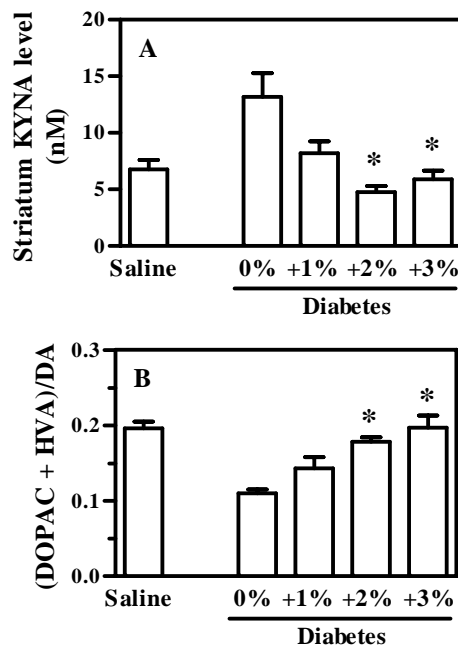


図 2 高リシン食がストレプトゾトシン誘発 I 型糖尿病モデルラットにおける線条体キヌレニン酸濃度 (A) およびドーパミン代謝産物/ドーパミン比 (B) におよぼす影響。値は平均 ± 標準誤差 (n = 5~7) として示した。

(3) 高血糖状態がキヌレン酸合成におよぼす影響

I型糖尿病モデルラットにおいて脳キヌレン酸濃度の上昇が認められたことから、高血糖状態がキヌレン酸合成を亢進するのかを明らかにすることを目的として、ラット脳組織切片を用いた *in vitro* 実験を行った。ラット大脳皮質から 1 mm 角の組織切片を作製し、5～30 mM のグルコースを含む緩衝液中で 2 時間培養し、合成されたキヌレン酸量を決定した。生理的濃度である 5 mM グルコース処理と比べ、グルコース濃度がそれ以上になってもキヌレン酸合成量に影響は認められなかった。この結果から、高血糖は直接キヌレン酸産生酵素に影響をおよぼすのではなく、他の経路を経た間接的な影響である可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福渡 努 (FUKUWATARI TSUTOMU)
滋賀県立大学・人間文化学部・准教授
研究者番号：50295630