

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：83903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25750068

研究課題名(和文) 内因性神経保護物質キヌレン酸の栄養的増加によるアルツハイマー病予防及び治療の試み

研究課題名(英文) The Alzheimer's disease prevention and treatment by nutritional increase in endogenous neuro-protective mediator, kynurenic acid in brain

研究代表者

奥野 海良人 (OKUNO, Alato)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・ラジオアイソトープ管理室・研究員

研究者番号：50623980

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：トリプトファンは必須アミノ酸の一つである。トリプトファンを摂取すると、生体内で分解される代謝過程で神経保護物質であるキヌレン酸と神経毒性のあるキノリン酸に作り変えられる。生体内で産生されるこれらの化合物の比率は脳神経疾患に影響を及ぼすと考えられる。しかしながらトリプトファン栄養の変化が脳内キヌレン酸、キノリン酸比に与える影響についてはほとんど明らかではない。そこで本研究ではマウスに濃度の異なるTrpを含んだ飼料を与えた。その結果、脳内KYNA/QA比が減少し、神経保護能の低下が示唆された。このため、極端なTrpの摂取は脳神経疾患発症の一因子となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Tryptophan (Trp) metabolism within the mammalian brain mainly occurs through the kynurenine pathway, where both the endogenous neuro-protective mediator, kynurenic acid (KYNA) and the endogenous excitatory neurotoxin, quinolinic acid (QA) are generated. Increase in KYNA/QA ratio in the brain is thought to be neuro-protective against some neurodegenerative diseases. To examine the possible effect of Trp intake on the change of the KYNA/QA ration in the brain, 0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0% Trp supplementation to 20% casein diet were fed to 20 weeks old C57BL6/J male mice for 28 weeks. As a result, the 1-5% Trp supplementation caused a decrease in the KYNA/QA ratio in brain. Furthermore, a systemic inflammation (a 5-fold increase in plasma level of IFN- γ). These results suggest that a simple Trp supplementation to AD patients worsens rather than suppresses neural degeneration by decrease in the KYNA/QA ratio and by increase in systemic inflammation.

研究分野：基礎栄養学

キーワード：トリプトファン キヌレン酸 キノリン酸

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) をめぐる研究は内外で精力的に進められているが、根本治療薬は未だ開発されていない。AD の早期に認められる病理学的所見はアミロイド ペプチド (A β) が凝集した老人斑の蓄積である。特に A β のオリゴマーは強い神経毒性を示す(1)。その毒性メカニズムは、 α 7 ニコチン様アセチルコリン受容体 (α 7nAChR) を介した cAMP regulatory element binding protein (CREB) のリン酸化抑制(2) や striatal enriched tyrosine phosphatase (STEP) 依存性の N-メチル-D-アスパラギン酸受容体 (NMDAR) 過剰活性化 (Ca²⁺ 過剰流入) によるシナプス障害である(3)。さらに A β オリゴマーは α 7nAChR 非依存性に NMDAR を過剰活性化しシナプス障害を惹起する(4)。NMDAR 依存性のシナプス障害を抑制するアンタゴニストとしてメマンチンが最近開発され AD 治療薬として使用が開始された。しかし、本薬剤は認知症の進行を若干遅延させる程度であり、その薬効は十分とは言えない。さらに α 7nAChR 依存性のシナプス障害には無効であり、睡眠誘導の副作用など問題点も多い(5)。

トリプトファン (Trp) 代謝産物キヌレン酸 (KYNA) は NMDAR 及び α 7nAChR のアンタゴニストであり、神経活動の調節に関与している(6)。KYNA はグルタミン酸により惹起される NMDAR を介した興奮性神経細胞死をブロックし、またグルタミン酸依存性に神経細胞死を生ずる脳虚血モデル動物において神経保護作用を示す(7)。AD 患者において脳脊髄液中 KYNA レベルは健常人に比して低下しており、脳内 KYNA レベル低下による神経保護作用不足が病因の一つと考えられる(8)。

2. 研究の目的

申請者はこれまでにラットに Trp 添加飼料を与えることで脳内 KYNA が増加することを報告しており(9)、またその生成量は Trp 摂取量依存的に最大で約 10 倍に増加することを見出している(10)。この KYNA の増大は脳内の Trp-キヌレン酸代謝経路に流入する Trp の増大によるものと考えられる。QA は KYNA と同じ代謝経路上の化合物であるが、Trp 摂取による末梢 QA の増加量は KYNA の同増加量に比較し顕著に低いことが知られている(11)。なお KYNA は血液脳関門を通過しないので、末梢投与によって脳内 KYNA を増加させることはできない。以上から、申請者は Trp 摂取により KYNA を脳内で選択的に増加させ、A β 及び QA の神経毒性を低減させることにより AD の予防及び治療を行うことを目的に実験を行った。

3. 研究の方法

20 週齢 C57B6/J 雄マウスを 5 群に分け、それぞれの群に对照食 (20% カゼイン食) を与え、試験群には对照食に 0.5、1、2、5% の Trp を添加した飼料を与え、4 週間飼育した。飼育

最終日に解剖を行い、脳の QA、KYNA ならびに脳および血中の Trp、KYN レベルを測定した。さらに KYN 経路の律速酵素 (TDO、IDO) の酵素活性を測定した。

4. 研究成果

(1) 予想に反して脳中 KYNA、QA 両濃度が Trp 添加量依存的に増加していた。同様のパターンで脳内 KYN も増加していたが、KYN の前駆体である Trp の増加パターンとは異なっていた。すなわち KYNA および QA は KYN 量に相関することが明らかとなった (図 1)。Trp 栄養の変化によって脳内 KYNA、QA がどのように変化するのかを調べた研究はこれまでに報告が無く、KYNA、QA は脳神経調節に関わる分子であることから、今後、特にトリプトファン栄養と脳の関わりを研究する上で重要な知見である。

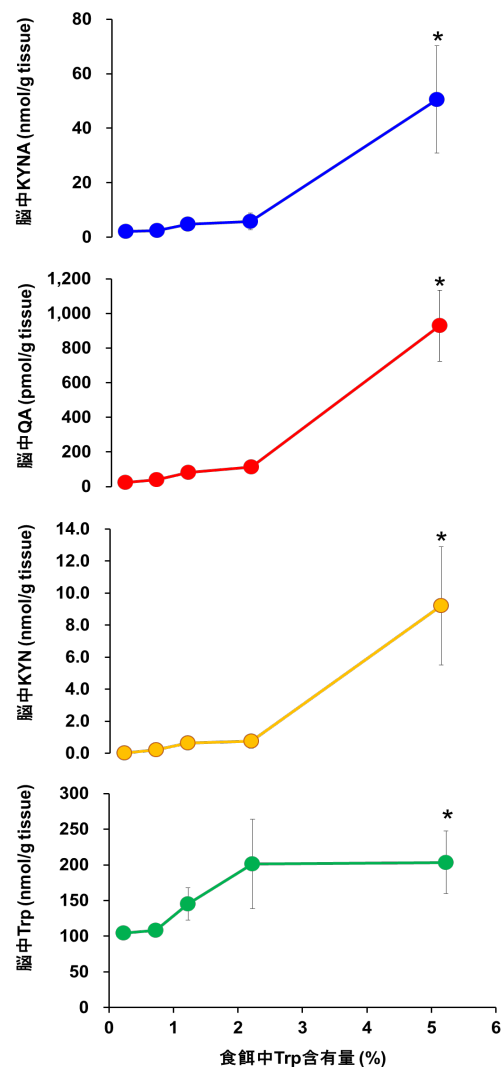


図 1 Trp 摂取が脳内 KYNA、QA、KYN、Trp に及ぼす影響

(2) KYN は血液脳関門を通過することができるため、末梢で産生された KYN が血液脳関門を経て脳内に取り込まれる可能性があった。実際に脳内 KYN 濃度の変化 (図 1) は血中 KYN 濃度に依存していた (図 2)。しかしながら図 2 に示すように血中 Trp 濃度は 1% Trp

添加以上で増加しておらず、Trp-KYN 代謝の亢進が示唆された。このことについて調べるために Trp-KYN 代謝の最大の場合である肝臓中の IDO の活性を調べたところ、活性の増加は 1%以上の Trp 添加では変化がなかった。しかしながら小腸での IDO 活性は 1%以上の Trp 添加で Trp 添加量比例的に増加しており、高濃度の Trp 摂取における Trp 代謝は腸管 IDO の活性化の貢献が大きいことが示唆された。Trp 摂取量の多寡によって IDO、IDO の寄与度が変わるとは本実験で始めて明らかにされたことであり、特に IDO の活性が増加は最終代謝産物まで代謝する酵素の揃っている肝臓 IDO による代謝とは異なり、血中に遊離する KYN の増加につながり、全身における KYN 以降の重要な生理活性を持った Trp 代謝産物の増加につながると考えられるため、栄養学的に大変重要な発見である。今回調べた中では腸管でのみ IDO が活性化されていたため、Trp 栄養による腸内細菌叢の変化が考えられ、腸-脳相関、もしくは腸-他臓器相関につながる可能性がある重要な知見である。

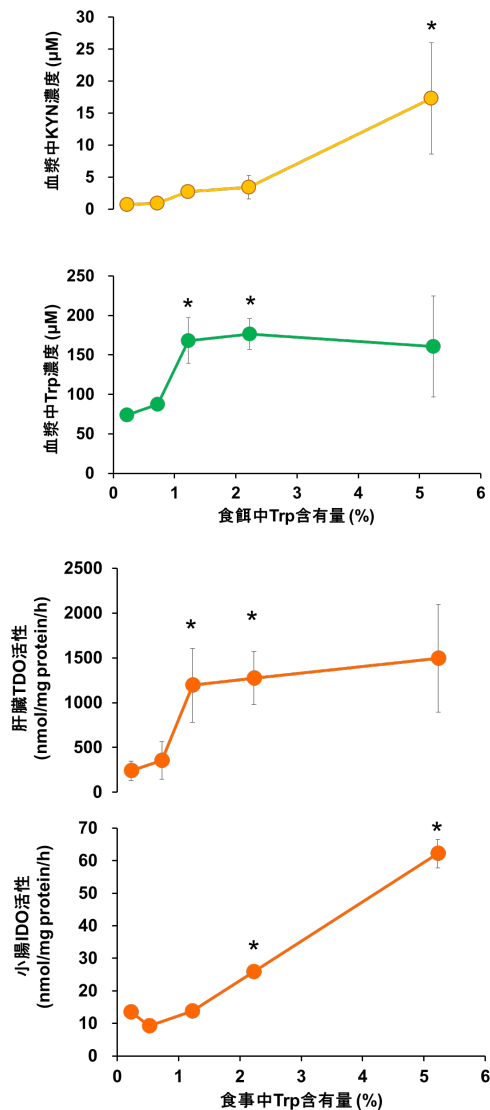


図2 Trp 摂取が血漿中 KYN , Trp ならびに肝臓中 IDO、腸管 IDO 活性に及ぼす影響

(3) IDO の活性の調節には炎症性サイトカインが深く関わっていることが知られており本研究においても炎症性サイトカインである血中 IFN- γ がコントロールに比べおよそ 6 倍に増加していた。また抗炎症性サイトカインとして知られる血中 IL-10 濃度は 5%Trp 添加時にコントロール群に比べ有意な低下が認められた。Trp 栄養を変化させることで腸管の炎症性サイトカインに影響を及ぼすという報告はこれまでもいくつか存在する。本研究で特徴的だったのは IDO の調節に深く関わっている IFN- γ を増加させている点である。しかしながら血中で IFN- γ が増加しているにもかかわらず、他の臓器での IDO の活性化が認められないことから、IFN- γ は腸管組織近傍で産生され、それが放出されて血流に乗った時には IDO を活性化させる濃度を下回っている可能性が示唆される。今後は Trp 栄養による小腸でのイベントを調べる事が重要であると考えられる。

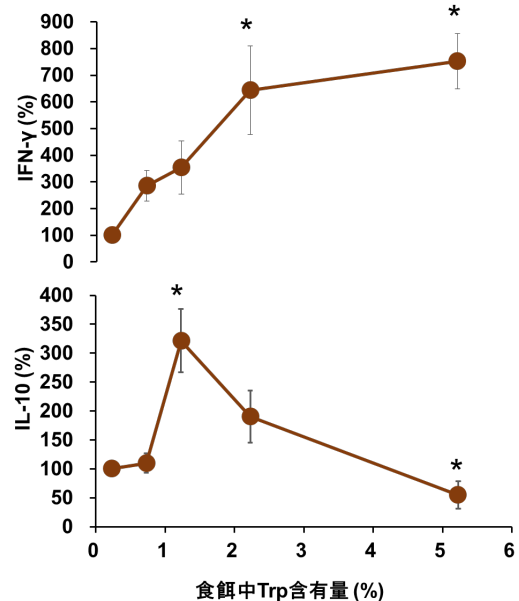


図3 Trp 摂取が血中 IFN- γ および IL-10 濃度に及ぼす影響

< 引用文献 >

- (1) Selkoe DJ et al., Behav Brain Res, 192, 2008, 106-113,
- (2) Dineley et al., J Neurosci, 21, 2001, 4125-4133,
- (3) Venkitaramani et al., J Neurosci, 27, 1995, 11832-11837
- (4) Shankar et al., J Neurosci, 27, 2007 2866-2875
- (5) Handforth et al., Clin Neuropharmacol, 33, 2010, 223-226
- (6) Hilmas et al., J Neurosci, 21, 2001, 7463-7473
- (7) Nozaki and Beal, J Cereb, 12, 1992, 400-407

(8) Heyes et al., Brain, 115, 1992, 1249-1273

(9) Okuno et al., J Neurochem, 118, 2011, 796-805

(10) Okuno et al., Biosci Biotechnol Biochem, 72, 2008, 1667-1672

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)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

・The 14th Meeting of International Society for Tryptophan Research

Trp supplementation decreases KYNA/QA ratio in the mouse brain.

Okuno A, Yoshimi T, Mikawa R and Takikawa O.

16-18 Sep, 2015 America Michigan

・日本アミノ酸学会 第9回学術大会

マウスにおけるトリプトファン摂取が神経保護物質キヌレン酸および神経毒キノリン酸の脳内および血液レベルに及ぼす影響

奥野 海良人, 三河 隆太, 吉見 立也, 滝川 修

10月23日-24日 滋賀県

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

奥野 海良人 (OKUNO, Alato)

国立長寿医療研究センター・ラジオアイソトープ管理室・研究員

研究者番号: 50623980

(2)研究分担者

(なし)

研究者番号:

(3)連携研究者

(なし)

研究者番号: