

組みを検討することが課題であると考え。

20) トリプトファン代謝酵素からみた「こころ」と
精神疾患の分子機序の解明

研究代表者 金井 将昭

【研究背景】

近年、社会情勢の悪化等から、うつ病や不安症等の精神疾患が増加しており、大きな社会問題となっている。しかし、これらの精神障害の詳細な病態機序の解明には至っておらず、こころの理解と効果的な治療法の開発が切望されている。一方で、古くからバランスの良い食事と適度な運動は健全な精神発達や精神状態の維持に重要である事が知られている。私達は、情動と密接に関係する食事（栄養）、特に必須アミノであるトリプトファン（Trp）の代謝系に注目している（図1）。うつ病治療薬として、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）が一定の効果を示す事からも、セロトニン（5-HT）を含めた Trp 代謝系が精神疾患の病態機序に寄与する事が推測される。一方で、SSRI 等の治療に抵抗する例も数多く存在し、その理由として Trp 代謝系の 5% 未満を担う 5-HT 経路が標的となっており、Trp の大部分（90% 以上）を代謝す

るキヌレニン (Kyn) 経路を標的とする薬剤の開発が遅れている事が挙げられる (図 1)。

近年、Kyn 経路の主代謝物である Kyn の様々な生理機能が明らかになりつつある (図 1)。特に、①インターフェロン (IFN) 治療の副作用の一つであるうつ様症状の発症と血中 Kyn 量の増加が相関する事や、② Kyn の腹腔内投与によってうつ様行動が引き起こされる事から、「IFN 惹起性うつ病発症と血中 Kyn 量の増加」との関連性が注目されている。しかし、Kyn 産生の律速段階には Tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO、主に肝臓に発現) と Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO、肝外組織に発現) の 2 つの酵素が存在するため (図 1)、生体内でどちらの酵素が Kyn 産生に重要であるのか?、IFN 惹起性うつ病の発症に重要であるのか? は不明であった。

本研究では、生理的条件下ならびに IFN 投与時における血中 Kyn 量の調節に対する TDO と IDO の *in vivo* での役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】

TDO と IDO の各々の遺伝子欠損マウスならびに野生型同一腹仔を、ヘテロマウス同士の交配によって産出し、15-18 週齢の雄マウスを実験に供した。生理的食塩水またはマウス IFN- γ (5×10^4 IU/head) を各マウスに腹腔内投与し、24 時間後に血漿、肺、肝臓を採取した。C57Bl/6J マウスに四塩化炭素 (CCl₄) を投与し、急性肝炎モデルを作製し、経時的に肝臓ならびに血漿を採取した。また Trp 負荷実験として、C57Bl/6J マウスに生理的食塩水ならびに IFN- γ を投与した後、24 時間後に 3 種類の濃度の Trp 溶液 (0, 5, 10 mg/kg) を尾静脈投与し、1 時間後に血漿と肺を採取した。Real-time RT-PCR、Western blot 法、酵素活性測定法を用いて、各マウス群の TDO (肝臓) ならびに IDO (肺) の発現変化を解析した。また血中 Trp 代謝物は HPLC-UV/FLD を用いて解析した。

【結果】

生理的条件下 (図 2-1) : TDO-KO マウスでは野生型同一腹仔に比べて、血中 Trp 量ならびに Kyn 量が顕著に増加した。一方で、IDO-KO マウスは、野生型に比べて顕著に血中 Kyn 量が減少したが、血中 Trp 量は変化しなかった。

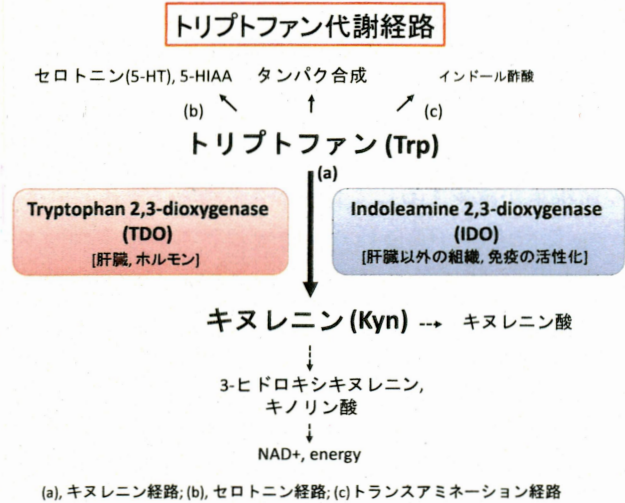


図 1

【2-1. 生理的条件下】

vs 野生型マウス

	Trp	Kyn
TDO-KO	↑↑ (x10)	↑ (x2)
IDO-KO	→	↓ (70% down)

【2-2. IFN- γ 投与】

vs 同一 genotype saline 投与群

	Trp	Kyn	肺IDO活性	肝TDO活性
WT	↓	↑	↑	→
TDO-KO	↓	↑ *	↑	n.d.
IDO-KO	→	→	n.d.	→

*WTに比べてTDO-KOのKynは有意に高値 n.d., 検出不可

【2-3. CCl₄誘発急性肝炎時】

vs 肝炎発症前

	Activity	mRNA	protein
肝臓TDO	↓	↓	↓

【2-4. Trp 負荷実験】

血中KYNレベル (肺IDO活性)

	Trp0	Trp5	Trp10
saline	(+)	↑ (+)	↑↑ (+)
IFN	↑↑ (++)	↑↑↑ (++)	↑↑↑↑ (++)

図 2 結果のまとめ

IFN- γ 投与 (図 2-2) : マウス IFN- γ (5×10^4 IU/head) を投与して 24 時間後には、IDO-KO マウス除くすべての群で、肺の IDO 活性が顕著に増加したが、肝臓の TDO 活性はすべての群で変化しなかった。この時、野生型ならびに TDO-KO マウスでは血中 Trp 量が減少し、血中 Kyn 量が増加した。一方で、IDO-KO マウスでは血中 Trp 量ならびに Kyn 量は変化しなかった。また、IFN 投与後の野生型と TDO-KO マウスの血中 Kyn 量の増加を比較すると、IFN による肺 IDO の活性化は同程度であるにも関わらず、TDO-KO マウスの血中 Kyn 量は有意に増加する事が明らかになった。

CCl₄ 誘発急性肝炎 (図 2-3) : CCl₄ 投与後 24 時間で肝傷害の指標である ALT が顕著に増加し、72 時間まで持続した。CCl₄ 誘発性急性肝炎時 (投与後 24-72 時間) には、肝臓の TDO 活性、TDO 蛋白質 /Tdo mRNA の発現量が減少することが明らかになった。

Trp 負荷実験 (図 2-4) : 生食プレ投与群の各マウス間の肺 IDO 活性には差がないにも関わらず、投与した Trp 量に依存して血中 Kyn 量が増加した。また、IFN- γ プレ投与群についても、肺の IDO 活性化は各マウスで同程度誘導されるにも関わらず、投与した Trp 量に依存して有意に血中 Kyn 量が増加した。

【考 察】

1. 生理的条件下 (図 3) : TDO (肝臓) が主に血中 Trp 量を調節する。その Trp 量に応じて、IDO (肝外組織) が血中 Kyn 量を調節することが明らかになった。
2. IFN- γ 投与 (図 4) : IFN- γ 投与による肝臓 TDO の修飾は軽微であるが、IDO は肺 (肝外組織) で顕著に活性化される。そのため、肝外組織の IDO による Trp から Kyn への代謝が増加し、血中 Kyn 量が増加する。IFN- γ 投与による血中 Kyn 量の増加には、IDO の活性化が必須である。
3. 肝炎時 : 肝炎時には肝臓の TDO 活性が減少する。そのため、肝臓での Trp 代謝が減少し、血中ならびに肝外組織への Trp 流出が増加し、肝外組織での

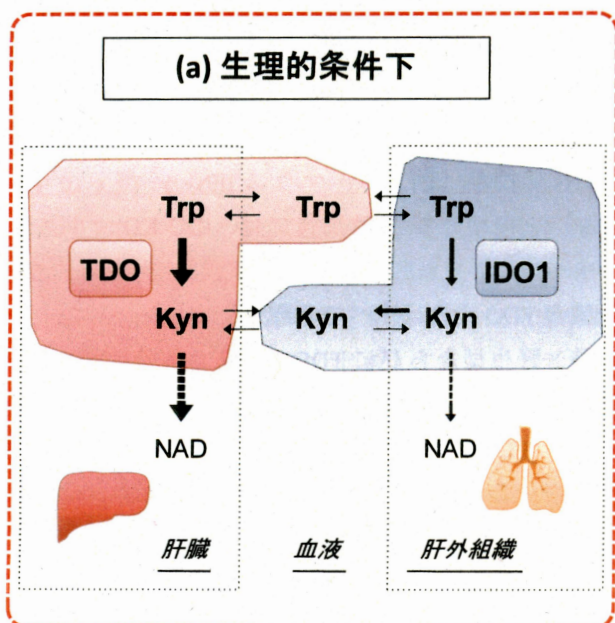


図 3

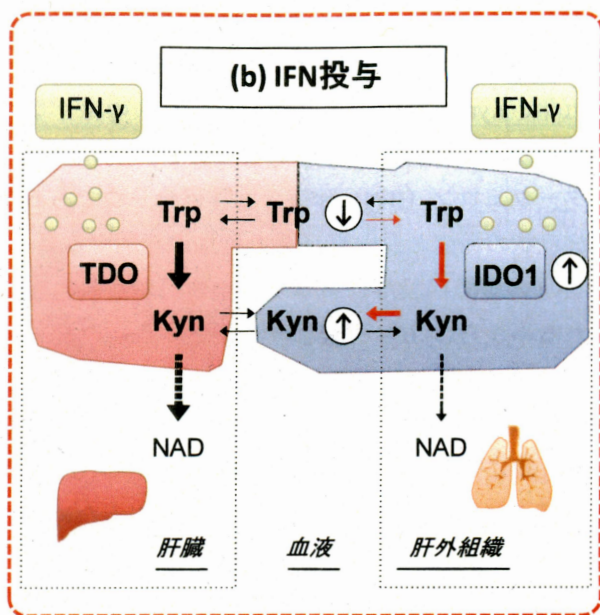


図 4

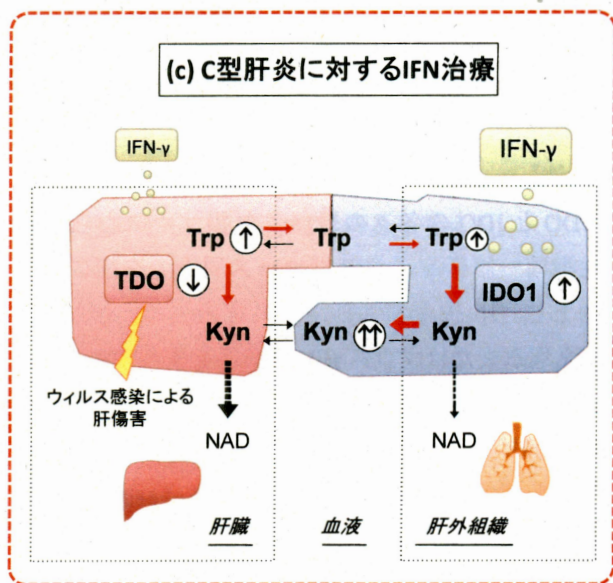


図 5

Kyn 産生を促進する可能性が示唆された。

4. Trp 負荷試験 : IDO 活性が同程度の場合、投与された Trp 濃度に依存して、血中 Kyn 量が増加する事が明らかになった。TDO-KO マウスへの IFN- γ 投与実験の結果と合わせて考えると、血中 Kyn 量の制御には、IDO に加えて、血中 Trp 量とそれを主に制御する TDO も重要である事が示唆された。

以上から、TDO と IDO は、血中 Kyn 量の制御に異なる役割を担っている事が明らかになった。IFN 治療が適応される C 型肝炎では、肝傷害によって TDO 活

性が減少し、それに伴い血中や肝外組織への Trp 流入と Kyn 産生が亢進しやすい環境である事が予想される。IFN 治療が開始されると、肝外組織の IDO が活性化し、さらに Kyn 産生が亢進する事が予想された (図 5)。以上から、血中 Kyn 量増加 (IFN 惹起性うつ病) のリスクファクターとして、IDO の活性化、肝臓 TDO 活性の低下、ならびに血中 Trp 量の増加に注意する必要性が示唆された。今後、本研究結果を基盤として、「生理的なうつ様行動」や「IFN 惹起性うつ病」に TDO と IDO が寄与するかについて検討したい。

【謝 辞】

本研究は旭川医科大学教育研究推進センター センター長・船越教授ならびにセンター職員の皆様に御協力頂き実施しました。大阪大学 中村敏一教授、川崎医科大学 刀祢教授、大山先生にも御協力頂きました。本研究の一部は平成 23 年度「独創性のある生命科学研究」の御支援により可能になったものです。深く御礼申し上げます。また本成果によって鈴木紘一メモリアル賞 (2011 日本生化学会) を受賞致しました。

21) 量子力学的境界の実現法とカシミール効果の考