

令和 3 年 4 月 21 日現在

機関番号：13301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23797

研究課題名(和文) 記憶学習のメカニズム解析及び血漿中脳由来エクソソームを利用した記憶学習能力の評価

研究課題名(英文) Analysis on novel mechanism(s) of learning and memory and evaluation of cognitive function using brain-derived exosomes in plasma

研究代表者

石本 尚大 (Ishimoto, Takahiro)

金沢大学・薬学系・助教

研究者番号：00843062

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの認知機能を改善させるergothioneine (ERGO)を経口投与したマウス及び対照群の記憶を司る海馬歯状回(DG)においてプロテオミクス解析を行い、発現が増加したある候補蛋白質に着目し、その発現を抑制するアデノ随伴ウイルス(AAV)を構築し、マウスDG特異的にこのAAVを感染させると神経突起の伸長が抑制された。

健常人と軽度認知障害患者をERGO投与群と偽薬投与群に分け、血清中エクソソーム画分を比較すると、ある候補蛋白質の発現量がERGO投与群で有意に高く、その発現量と血清中ERGO濃度および一部の認知機能検査の評価項目と正の相関を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの認知機能を改善させるERGOの作用機序として、記憶を司る海馬歯状回におけるある候補蛋白質による神経突起の伸長が関与する可能性を示唆した。

認知機能の判定には、実験動物では行動試験、ヒトでは種々の認知機能検査が必要であるが、心理的要因などによるデータのばらつきが問題となり、より定量的な指標の確立が求められている。本研究で見出した脳内環境を反映する脳由来エクソソーム内の分子が、認知機能の改善を推測するバイオマーカーになる可能性がある。

研究成果の概要(英文)： Ergothioneine (ERGO) is known to enhance cognitive function in human. Proteome analysis in mice showed oral administration of ERGO remarkably increased several proteins in hippocampal dentate gyrus (DG). Knockdown of a candidate protein in murine hippocampal DG by adeno-associated virus significantly enhanced neurite outgrowth, which may be one of the mechanisms underlying cognitive enhancement by ERGO.

Protein expression profile on exosomes derived from the brain in plasma may reflect the ERGO-induced enhancement of cognitive function. Expression of a candidate protein on exosomes in serum was associated with ERGO exposure and cognitive function, which might be a possible biomarker for assessment of ERGO-induced beneficial activity in the human brain.

研究分野：神経薬理学、薬物治療学

キーワード：記憶学習 脳由来エクソソーム バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国の全人口に占める認知症患者の割合は世界で最も高く、その予防・治療薬の開発は、喫緊の課題である。対症治療薬としては、アルツハイマー型認知症治療薬のドネペジルやメマンチン等があるが、未だ根本治療薬はなくその開発は困難を極める。そこで、近年、記憶学習能力を向上させる食物由来の化合物を認知症予防へ応用させる研究が多い。申請者らも近年、キノコ等に多く含まれる抗酸化アミノ酸 ergothioneine (ERGO) がヒトの認知機能を改善させること (Watanabe N et al., 2020)、マウスへの経口投与が、記憶に重要な DG において神経新生を促進し (Nakamichi N et al., 2016)、また神経細胞の成熟促進を介して記憶学習能力を向上することを見出した (Nakamichi N et al., 2021)。驚くべきことに、ERGO は水溶性でありながら、脳に効率良く分布し、他の食物由来化合物と比較して低投与量、短期間で、記憶学習能力を向上させる。脳に効率良く移行する ERGO は、脳において何か重要な役割を担う可能性が高い。ERGO は、他の記憶学習能力を向上させる食物由来化合物と比較し、低投与量、短期間で、記憶学習能力を向上させるが、その作用機序は未知である。そのメカニズムの解明は記憶学習能力向上の新規標的の発見や、認知機能の改善や認知症予防等への利用につながる可能性が高い。

認知機能の判定には、実験動物では行動薬理試験、ヒトでは種々の認知機能検査が必要であるが、心理的要因などによるデータのばらつきが問題となり、より定量的な指標の確立が求められる。神経変性疾患等の血漿中バイオマーカーに関する研究は盛んであるが、記憶学習能力と相関する血漿中バイオマーカーについての研究報告はほとんどない。そこで、血漿中の脳内環境を反映する脳由来エクソソーム内の記憶に関連する蛋白質の量が、認知機能を推測するバイオマーカーになる可能性が考えられた。

2. 研究の目的

目的は、ERGO による認知機能改善のメカニズム解明と、ERGO の効果と相関する血清中バイオマーカーとしての脳由来エクソソームの有用性の検証である。

3. 研究の方法

ERGO の作用機序の解明のため、ERGO を経口投与したマウス及び対照群の記憶を司る海馬歯状回 (DG) においてプロテオミクス解析を行った。さらに、発現が変動した標的蛋白質の発現を抑制するアデノ随伴ウイルス (AAV) を構築し、マウス DG 特異的にこの AAV を感染させ、記憶に重要な神経の突起長を評価した。

健常人と軽度認知障害患者を ERGO 投与群と偽薬投与群に無作為に分け、摂取 0、4、8、12 週に血清の回収と認知機能テスト Cognitrix を実施した。偽薬及び ERGO 投与群のエクソソーム画分における種々の蛋白質の発現を比較した。さらに、それらの認知機能との相関を解析した。

4. 研究成果

ERGO の作用機序の解明のため、ERGO を経口投与したマウス及び対照群の記憶を司る海馬歯状回 (DG) においてプロテオミクス解析を行ったところ、発現が変動する蛋白質を見出した。特に発現が増加したある候補蛋白質に着目し、その発現を抑制する AAV を構築し、マウス DG 特異的に感染させると神経突起の伸長が抑制された。ERGO による認知機能改善の機序の一部として考えられた。

血清から超遠心法により得られた画分を、ナノ粒子マルチアナライザーにより測定したところ、平均粒子径と粒子数は既報のエクソソームと同等であった。さらに Western blot によるエクソソームマーカー CD63 及び脳由来細胞外小胞マーカー SNAP25 の検出により、脳由来エクソソ

ームの単離を確認した。健常人と軽度認知障害患者を ERGO 投与群と偽薬投与群に無作為に分け、摂取 0、4、8、12 週に血清の回収と認知機能テスト Cognitrax を実施した。偽薬及び ERGO 投与群のエクソソーム画分を比較すると、ある候補蛋白質の発現量が ERGO 投与群で有意に高く、その発現量と血清中 ERGO 濃度は正の相関を示し、Cognitrax の一部の評価項目とも正の相関を示した。以上は、血清中エクソソームに含まれる分子が、ERGO 投与による認知機能改善作用のバイオマーカーになる可能性を示唆した。

<引用文献>

1. Watanabe N, Matsumoto S, Suzuki M et al (2020) Effect of ergothioneine on the cognitive function improvement in healthy volunteers and mild cognitive impairment subjects-A randomized, double-blind, parallel-group comparison study. *Jpn Pharmacol Ther* 48:685-697
2. Nakamichi N, Nakayama K, Ishimoto T et al (2016) Food-derived hydrophilic antioxidant ergothioneine is distributed to the brain and exerts antidepressant effect in mice. *Brain Behav* 6:e00477
3. Nakamichi N, Nakao S, Nishiyama M et al (2020) Oral administration of the food derived hydrophilic antioxidant ergothioneine enhances object recognition memory in mice. *Curr Mol Pharmacol* 14:220-233

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakamichi Noritaka, Matsumoto Yuta, Kawanishi Takumi, Ishimoto Takahiro, Masuo Yusuke, Horikawa Masato, Kato Yukio	4. 巻 42
2. 論文標題 Maturational Characterization of Mouse Cortical Neurons Three-Dimensionally Cultured in Functional Polymer FP001-Containing Medium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1545 ~ 1553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b19-00307	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 Nakamichi Noritaka, Nakao Shunsuke, Nishiyama Misa, Takeda Yuka, Ishimoto Takahiro, Masuo Yusuke, Matsumoto Satoshi, Suzuki Makoto, Kato Yukio	4. 巻 14
2. 論文標題 Oral Administration of the Food-Derived Hydrophilic Antioxidant Ergothioneine Enhances Object Recognition Memory in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Molecular Pharmacology	6. 最初と最後の頁 220 ~ 233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1874467213666200212102710	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 Nishiyama Misa, Nakamichi Noritaka, Yoshimura Tomoyuki, Masuo Yusuke, Komori Tomoe, Ishimoto Takahiro, Matsuo Jun-ichi, Kato Yukio	4. 巻 45
2. 論文標題 Homostachydrine is a Xenobiotic Substrate of OCTN1/SLC22A4 and Potentially Sensitizes Pentylentetrazole-Induced Seizures in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurochemical Research	6. 最初と最後の頁 2664 ~ 2678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11064-020-03118-8	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 Ishimoto Takahiro, Kato Yukio	4. 巻 -
2. 論文標題 Regulation of Neurogenesis by Organic Cation Transporters: Potential Therapeutic Implications	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Handbook of Experimental Pharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/164_2021_445	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11件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Ishimoto T, Masuo Y, and Kato Y
2. 発表標題 Functional Expression of Xenobiotic Transporters in Neural Stem Cells.
3. 学会等名 The 3rd Workshop for Japan-Korea Young Scientists on Pharmaceutics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishimoto T
2. 発表標題 Enhancement of Neurogenesis by OCTN1-mediated Ergothioneine Transport.
3. 学会等名 APSTJ Global Education Seminar (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishimoto T, Nakamichi N, and Kato Y
2. 発表標題 Transporter-mediated Ergothioneine Uptake Promotes Neuronal Differentiation through Activating NT5/TrkB/mTORC1 Signaling in Neural Stem Cells
3. 学会等名 New Frontier in Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石本尚大、高田健矢、増尾友佑、加藤将夫
2. 発表標題 P-gp及びBcrp阻害剤のマウス神経幹細胞生存率に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本留里、石本尚大、松本聡、増尾友佑、鈴木真、加藤将夫
2. 発表標題 ヒト血液中細胞外膜小胞におけるリン酸化TrkBの測定と食物由来抗酸化物質による変化
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高田健矢、石本尚大、増尾友佑、加藤将夫
2. 発表標題 マウス神経幹細胞における薬物排出トランスポーターの発現プロファイル
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 及川夏月、増尾友佑、石本尚大、加藤将夫
2. 発表標題 腎血流速度の評価に応用可能な生体内物質の網羅的探索
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西山美沙、吉村智之、増尾友佑、石本尚大、中道範隆、松尾淳一、加藤将夫
2. 発表標題 網羅的メタボロミクス解析による膜輸送体OCTN1脳内基質探索, 第93回日本薬理学会年会
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ishimoto T, Matsumura N, Masuo Y, Kiriya K, Sutoh K, Kato Y
2. 発表標題 Proliferative effect of tri-deoxyribonucleotides on mouse neural stem cells.
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masuo Y, Ishimoto T, Nakao S, Masuo Y, Matsumoto S, Suzuki M, Kato Y
2. 発表標題 Oral administration of food-derived amino acid ergothioneine enhances learning and memory by phosphorylation of TrkB and promotion of neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus.
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Matsumoto R, Ishimoto T, Matsumoto S, Masuo Y, Suzuki M, Kato Y
2. 発表標題 Amount of phosphorylated TrkB in serum extracellular vesicles reflect ergothioneine-induced enhancement of cognitive function.
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
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
---------	---------