

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	疾患モデル動物におけるプテリジン代謝変化の解析
Title(English)	
著者(和文)	竹下直輝
Author(English)	Naoki Takeshita
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11394号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:一瀬 宏,林 宣宏,長田 俊哉,清尾 康志,小倉 俊一郎
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11394号, Conferred date:2020/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	（理学）
学生氏名： Student's Name	竹下 直輝		指導教員（主）： Academic Supervisor(main)	一瀬 宏	
			指導教員（副）： Academic Supervisor(sub)		

要旨（和文 2000 字程度）

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

プテリジン化合物はプテリジン環を持った化合物の総称であり、中でもテトラヒドロピオプテリン (BH4) はアミノ酸代謝や神経伝達物質であるモノアミンの合成、血管拡張に関わる一酸化窒素 (NO) の生合成など様々な生体内酵素反応に必要な補因子である。モノアミンや NO は生体機能の調節に重要な働きを担っているため、BH4 代謝が変化してモノアミン量や NO 量に変化が生じると、正常な生体機能の維持に支障が生じる。また、ネオプテリン (NP) は BH4 生合成中間体の代謝産物であり、NP の生理的な機能については十分明らかになっていないが、炎症性サイトカインによりマクロファージからの産生が増強されることから、炎症性疾患のマーカーとして利用が可能と考えられる。

しかし、BH4 は不安定で速やかに酸化されてジヒドロピオプテリン (BH2) となるため、BH4 と BH2 を分別定量するためには試料を採取する際や、測定中に特別な操作が必要となる。そのため、これまで BH4 の酸化還元状態が疾患に伴いどのように変化するかについて、詳細な分析はなされていない。また、従来のプテリジン分析の多くは血漿が用いられてきたが、経時的かつ簡便に採取できる生体試料として尿にも着目した。本研究では、BH4 の酸化還元状態の変化を分別定量することのできる HPLC-ポストカラム酸化法を用いて、種々の病態に伴うプテリジン代謝の変化を、疾患モデル動物を用いて検討した。

うつ病モデルマウス、糖尿病モデルマウス、リポ多糖(LPS)による炎症モデルマウス、アスコルビン酸 (AsA) 欠乏ラットの 4 種類のモデル動物について臓器中および尿中のプテリジン化合物の変化を調べた。AsA 欠乏ラットは、脳中のモノアミン量の変化との関連についても調べた。

うつ病モデルマウスは 50 ml チューブ内にて 3 時間水への浸漬負荷を 2 週間行い、強制水泳試験にて無動時間が増えていることを確認して、マウスがストレス負荷によりうつ状態（無気力状態）となっていると判断した。うつ状態になってから、尿中のプテリジン量を測定したが、ストレス負荷を行っていない対照群と差は認められなかった。

糖尿病モデルマウスは 50 mg/kg のストレプトゾトシン腹腔内投与を 5 日間連続して行い、2 週間後に血糖値から糖尿病の発症を判断した。糖尿病モデルでは 2 か月後の段階で脾臓および膵臓において BH4/BH2 比の減少からピオプテリンの有意な酸化的偏りが確認された。この時、血漿中においても BH4/BH2 の酸化的偏りが認められ、尿中にも有意ではなかったがピオプテリンの酸化的傾向が認められた。これらの結果は、ストレプトゾトシン投与により引き起こされた糖尿病は、尿中プテリジンの酸化状態の変化として現れることを示した。

LPS による炎症モデルマウスは、2.5 mg/kg の LPS 腹腔内投与により炎症状態を引き起こした。炎症モデルマウスでは、LPS 投与から 3 時間後から尿中の NP およびピオプテリンの上昇が認められ、24 時間後をピークに尿中の NP およびピオプテリンの増加がみられた。尿中のプテリジンの上昇は 48 時間後には正常値付近にまで減少し、外見的にも活動量が増し、回復している様子が観察された。これらのことから、LPS 投与による炎症状態は尿中のプテリジン変化として観測できることが明らかとなった。

AsA 欠乏ラットは、AsA 合成酵素である L-グロノラクトンオキシダーゼを遺伝的に欠損しているラット (ODS ラット) に対して AsA 欠乏食を 2 週間与えることにより作成した。AsA を添加した餌を与えられている ODS ラットを対照群とした。AsA 欠乏モデルラットでは肝臓および脳にて著明な AsA の減少、および、BH4 の有意な減少が認められた。両者とも肝臓に比べて脳での減少量は緩やかであった。AsA 欠乏餌で飼育した ODS ラットの脳では、ドーパミンおよびノルアドレナリンが、対照群の約 90%および 85%に有意に低下していた。また、AsA の欠乏状態は尿中ピオプテリンレベルの減少として観測されることが明らかとなった。AsA 欠乏は心血管障害や精神疾患との関連も報告されており、本研究から AsA 欠乏が BH4 代謝に影響を及ぼすことを初めて示した。

備考：論文要旨、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	竹下 直輝		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	一瀬 宏	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Tetrahydrobiopterin (BH4) is a cofactor for aromatic amino acid hydroxylases and nitric oxide synthase, which synthesize monoamine neurotransmitters and nitric oxide. Due to their important physiological function, alterations in the BH4 metabolism can be involved in pathophysiology of many disorders. Neopterin (NP) is a metabolite of an intermediate of the BH4-biosynthesis, and its physiological function has not been fully elucidated. It is known that NP can be used as a biomarker for activation of cellular immunity. As BH4 is a fragile and easily oxidized substance, it is difficult to measure the BH4 levels in biological samples precisely. In this study, I examined alterations in the BH4 and related pteridine compounds in animal models of several diseases using a HPLC post-column oxidation method.

Diabetic mouse model was made by administration of streptozotocin to C57BL/6J mice, and found that the ratio of dihydrobiopterin to BH4 was increased in the tissues and plasma of diabetic mice. Lipopolysaccharide (LPS) was used to make an inflammation mouse model. Urinary NP and BH4 levels were increased as early as 3 hours after the LPS injection. It suggested that the measurements of NP and BH4 in the urine could be a biomarker for inflammation. Next, I evaluated the effect of oxidative stress on the BH4 metabolism in an ascorbic acid (AsA)-deficient rat model. ODS rat is defective in the biosynthesis of AsA due to a mutation in the AsA-synthesizing gene, L-gulonolactone oxidase. AsA-deficient or AsA-supplemented diet was given to ODS rats for two weeks, and the BH4 levels were measured. I found that the BH4 levels were significantly decreased in the liver and brain of ODS rats fed with AsA-deficient diet compared with those fed with AsA-supplemented diet. This is the first report to show the effect of AsA-deficiency to the BH4 levels in vivo.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).