

## 二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月3日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]  
九州大学・大学院医学研究院  
[職・氏名]  
教授・小野 悦郎  
[課題番号]  
JPJSBP120203803

1. 事業名 相手国: ハンガリー (振興会対応機関: HAS)との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 遺伝子改変マウスによるキヌレニン経路制御システムの構築と病態モデルの比較解析

---

(英文) Investigating the effect of single and multiple gene knockout of enzymes of the kynurenine catabolic pathway in mice and in their various disease models

---

3. 共同研究実施期間 令和2年 4月 1日 ~ 令和5年 3月31日 (3年 0ヶ月)【延長前】 令和2年 4月 1日 ~ 令和4年 3月31日 (2年 0ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

University of Szeged・Professor・Laszlo Vecsei

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		4,750,000 円
内訳	1年度目執行経費	2,375,000 円
	2年度目執行経費	2,375,000 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	6名
相手国側参加者等	16名

\* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	0	0	0(0)
2年度目	1	0	2(2)
3年度目			( )

\* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

## 8. 研究交流の概要・成果等

### (1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

トリプトファン代謝の主要経路であるキヌレニン経路において産生されるキヌレニン代謝物(キノリン酸、3-ヒドロキシキノレニン、キノレニン酸等)のバランス異常は、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、うつ病、統合失調症等の神経変性疾患や神経精神疾患の他、腫瘍やウイルス感染症の発病病理機序に関係している。キノレニン酸は、キヌレニン経路において、キノレニンの不可逆的アミノ基転移反応によって産生される。ヒト、ラット及びマウスの脳では、キノレニン酸は、主要酵素として働くキノレニンアミノトランスフェラーゼ II(KATII)を含む4種類のキノレニンアミノトランスフェラーゼ アイソザイム(KATI、KATII、KATIII、KATIV)によって合成される。しかし、KATII 以外の KATI、KATIII 及び KATIV の脳における役割については、殆ど研究されていない。また、キノレニン経路には、もう一つキノリン酸を合成する経路があり、これはキノレニン-3-ヒドロキシラーゼ(KMO)とキノレニナーゼ(KYNU)が決定的な役割を果たしている。キノレニン酸に神経保護作用があるのに対して、キノリン酸は神経毒性がある。

キノレニン酸量の変動が、神経・精神病態においても重要な役割を果たしていることから、脳におけるキノレニン経路の各酵素の動態解析が必要であると考えられるが、そのための遺伝子改変マウスでのキノレニン経路に関する知見が十分に蓄積されていない。

本研究の目的は、平成 30 年度採択の二国間交流事業(共同研究)で作製した KATI、KATII、KATIII 及び KATIV の他、KMO および KYNU のノックアウトマウスを CRISPR/Cas9 システムを使用して迅速に作製し、キノレニン代謝物の産生を制御する単独、或いは複数遺伝子のノックアウトマウスから構成されるキノレニン経路制御システムを構築し、これらノックアウトマウスを用いた各種病態モデルの解析を通して、各種疾患の発病病理機序におけるキノレニン代謝物のバランス異常の役割について検討し、各種疾患の新規治療法開発へ貢献することである。

これまでに作製した KATI、KATII、KATIII 及び KATIV の他、KMO および KYNU のノックアウトマウスを CRISPR/Cas9 システムを使用して迅速に作製し、キノレニン代謝物の産生を制御する単独、或いは複数遺伝子のノックアウトマウスから構成されるキノレニン経路制御システムを構築し、これらノックアウトマウスの表現型の変化を解析することで、各アイソザイムの脳における役割を明らかにする。

- 1) これまでに作製した KATI、KATII、KATIII 及び KATIV に加えて、KATII の Ex2、KMO 及び KYNU のノックアウトマウスを CRISPR/Cas9 システムを使用して作成し、セグド大学に輸送し、これらマウスの行動学的解析を実施し、各酵素の欠損によるマウス脳への影響及び脳内および血中のキノレニン代謝物の定量について解析した。その結果について、相互訪問によって意見交換を実施した。
- 2) 各種ノックアウトマウスを交配し、複数遺伝子のノックアウトマウスを作製し、セグド大学に輸送した。

### (2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

本研究において、4種類のキノレニンアミノトランスフェラーゼ アイソザイム(KATI、KATII、KATIII、KATIV)、キノレニン経路の KMO 及び KYNU についても、系統化に成功した。更に、これらノックアウトマウスを交配し、複数遺伝子のノックアウトマウスの系統化にも成功した。今後、これらマウスの解析を通して、中枢神経疾患の発病病理機序におけるキノレニン代謝物のバランス異常の役割について検討することができるようになったことは、学術的価値がある。また、これまでの共同研究で、KATII ノックアウトマウスが、重度のうつ病症状を呈することが明らかになり、うつ病発症における KATII の役割が解明されることが期待される。

### (3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

ハンガリー側研究者は、KATII ノックアウトマウスが、行動解析の結果、重度のうつ病を呈することを明らかにした。

一方、鳥取大学では、早期乳児てんかん脳症の原因遺伝子のひとつである KATIV 遺伝子に着目し、早期乳児てんかん脳症の特異的治療法を検討することを目的とし、KATIV ヘテロノックアウトマウスの解析を行った。その結果、ホモノックアウトマウスは胎生致死であること、ヘテロノックアウトマウスは胎生期に軽度の発育不全が見られ、出生後も代謝に何らかの影響があることが分かった。セリン投与はこれらの発生異常を改善し、ホモノックアウトマウスを少なくとも胎齢 12 日までは生存させ、K ヘテロノックアウトマウスの出生率を向上させることを明らかにした。

今後、ノックアウトマウスを順次解析することで大きな成果が得られることが期待される。

### (4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

キヌレニン経路により産生されるキヌレニン代謝生成物のバランス異常は、HIV 等の感染症、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)等の神経障害、うつ病、統合失調症等の情動障害、多発性硬化症、関節リュウマチ等の自己免疫疾患、循環器疾患やガン等、様々な疾患の発病病理機序に関与しているため、本研究による研究成果は、中枢神経系疾患のみならず、各種疾患における発病メカニズムの解明にも影響し、各種疾患の新規の早期診断法の開発や新規治療薬の開発においても新たな展開が期待されることになる。今回作成した遺伝子改変マウスの解析が進むことにより、キヌレニン代謝生成物のバランス異常に関する影響を直接的に解析することができるようになり、中枢神経系疾患の発病メカニズムの解明や新規の早期診断法や新規治療薬の開発への貢献が期待される。特に、KATII ノックアウトマウスで認められた重度のうつ病症状は、セゲド大学が所有する各種化合物の治療薬としてのスクリーニングに有効であると考えられ、新規治療薬の開発への貢献が期待される。

### (5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

ハンガリー側研究参加者には、セゲド大学の大学院生の Agnes Szabo、若手研究者の Trok Nora および Annamaria Fejes-Szabo、日本側研究参加者には、山口大学の今井 啓之、鹿児島大学の藤本佳万及び鳥取大学農学部富岡幸子がおり、何れも 30 歳代前半から 40 歳代の若手研究者であり、今回マウスの行動学的解析、遺伝子改変マウスの作製で本共同研究の推進にとって重要な役割を果たした。鳥取大学農学部の富岡幸子、セゲド大学の大学院生の Agnes Szabo、若手研究者の Annamaria Fejes-Szabo は、本事業で得られた研究成果について学会発表を行なった。遺伝子改変マウスの解析は継続されており、今後も、更なる共同研究の推進に寄与することが期待される。

### (6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

本事業の支援の下、4つのキヌレニンアミノトランスフェラーゼ アイソザイムである KATI、KATII、KATIII 及び KATIV、キヌレニン経路の KMO 及び KYNU についても、CRISPR/Cas9 システムを使用して作製し、系統化に成功した。更に、これらノックアウトマウスを交配し、複数遺伝子のノックアウトマウスも作製し、系統化に成功した。これらノックアウトマウスの病態解析を実施することで、キヌレニン代謝物のバランス異常による中枢神経疾患の発病病理機序の解明に発展させたいと考えている。その実現のために、令和 6 年度二国間交流事業共同研究への申請計画している。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

なし