

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：有 菌 生 吹

専攻分野：分子神経科学

指導教授：北岡 康史

主論文の題目：

Axonal Protection by Oral Nicotinamide Riboside Treatment with Upregulated AMPK Phosphorylation in a Rat Glaucomatous Degeneration Model

(緑内障モデルラットにおけるニコチンアミドリボシド内服によるリン酸化 AMPK 上昇を介した軸索保護効果)

共著者：

Naoki Fujita, Chihiro Tsukahara, Kana Sase, Reio Sekine, Tatsuya Jujo, Mizuki Otsubo, Naoto Tokuda, Yasushi Kitaoka

緒言

ニコチンアミドリボシド (Nicotinamide Riboside: NR) は、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (Nicotinamide Adenine Dinucleotide: NAD⁺) の前駆体であり、サプリメントとして入手でき、内服でヒトの血清 NAD⁺濃度を上昇させることが報告されている。近年 NR と同様、NAD⁺の前駆体であるニコチンアミド (Nicotinamide: Nam) の摂取が緑内障に対する軸索保護効果の報告があり、非神経細胞における Nam と AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated Protein Kinase: AMPK) 経路の関与が示唆される報告もある。また多くの NAD⁺調節因子が AMPK 経路に影響を及ぼし、神経変性疾患や心疾患、2 型糖尿病など様々な疾患の治療に有用である可能性が示唆されているが、この

関係は網膜神経節細胞 (Retinal Ganglion Cell: RGC) 軸索では検討されていなかった。本研究では、高眼圧モデルラットにおいて、NR 経口投与による軸索保護効果と視神経のリン酸化 AMPK (p-AMPK) 変化を検討した。

方法・対象

8 週齢雄性ラットに対してインディアインクを前房内注射した後、染色された線維柱帯にレーザー照射を行い、高眼圧モデルラットを作成した。レーザー照射後から NR 1000mg/kg を毎日経口投与した高眼圧+NR 内服群 (n=6) と高眼圧群 (n=6)、NR 内服コントロール群 (n=4)、コントロール群 (n=4) の 4 群を作成し、レーザー照射後 7, 14, 21 日後に眼圧を測定し、照射から 21 日後に視神経と網膜を摘出した。高眼圧+NR 内服群と高眼圧群、コントロール群の視神経軸索数と網膜神経線維の定量解析を行った。また NR を 7 日間内服したラットの網膜内 NAD⁺量を測定した。ウェスタンブロットにて視神経の p-AMPK の発現量を測定し、発現部位を免疫染色にて同定した。また NR を単回投与し 6、24、48 時間後の p-AMPK の発現量も定量した。

なお本研究は、聖マリアンナ医科大学動物実験委員会 (承認番号 2108012 号、2208007 号) の承認を得たものである。統計は ANOVA 後 Tukey's HSD 検定または Student's t 検定を用いた。

結果

レーザー照射後、高眼圧+NR 内服群、高眼圧群いずれにおいても有意な眼圧上昇が得られた ($p < 0.05$)。視神経軸索数は高眼圧群ではコントロール群と比較して有意な減少 ($p < 0.0001$) を認めたが、高眼圧+NR 内服群では高眼圧群と比較して有意な軸索保護効果を示した ($p < 0.0001$)。また網膜神経線維においても同様に、高眼圧群ではコントロール群と比較して有意な減少 ($p < 0.05$) を認めたが、高眼圧+NR 内服群

では高眼圧群と比較して有意な保護効果を示した($p<0.05$)。1週間のNR内服で網膜内のNAD+量の有意な上昇($p<0.05$)が示された。またウェスタンブロットで1週間のNR内服が、高眼圧群、コントロール群いずれにおいても視神経のp-AMPKのレベルを有意に増大させることが示され($p<0.05$)、免疫染色ではコントロール群と比較してNR内服群ではp-AMPKの発現が増強し、また発現部位はneurofilamentと一致していることがわかった。NRを単回投与し、投与前と比較して24時間後のみ有意なp-AMPKの上昇($p<0.05$)が確認されたが、6時間、48時間後では有意差は認めなかった。

考察

本研究により、NRの経口投与が慢性の高眼圧性視神経障害において軸索保護作用を発揮することが明らかになった。またこのモデルでは網膜神経線維でも明らかな保護作用が認められた。NRの腹腔内注射が緑内障モデルマウスのRGC死を防いだ報告もあり、NRの全身投与は、RGC細胞体と軸索の両方を保護すると考えられた。緑内障では軸索変性がRGC死に先行して起こるため、NRは軸索変性を抑制することで更なるRGC死を防ぐのに有効であると考えられる。

NRとAMPKの関連はこれまで報告されていないが、Namをニコチンアミドモノヌクレオチドに変換するニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼがAMPKを上昇させることでオートファジーを誘導し、急性脳梗塞を改善した報告がある。またAMPK活性化剤A769662がTNF誘発視神経障害モデルにおいてオートファジーの活性化を伴う軸索保護を示した報告があり、高眼圧モデルにおいてもp-AMPKの上昇がオートファジーの活性化につながる可能性が示唆される。

結論

NRの経口投与がp-AMPKの上昇を介して緑内障性軸索変性に対する保

護作用を発揮することが示唆された。