

## 神経発達期におけるキヌレニン代謝産物増加が胎児へ及ぼす影響

村上由希<sup>1)†</sup>, 今村行雄<sup>1,2)</sup>, 笠原好之<sup>3)</sup>, 吉田千尋<sup>3)</sup>, 桃野友太<sup>3)</sup>,  
方 軻<sup>1)</sup>, 酒井大輔<sup>4)</sup>, 小西行郎<sup>5,6)</sup>, 西山利正<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>関西医科大学医学部衛生・公衆衛生学講座\*, (<sup>2)</sup>京都大学大学院工学研究科\*\*

<sup>3)</sup>東北大学大学院医学系研究科産科学・胎児病態学分野\*\*\*, (<sup>4)</sup>金沢医科大学医学部\*\*\*\*

<sup>5)</sup>同志社大学赤ちゃん学研究センター\*\*\*\*\*

<sup>6)</sup>理化学研究所医科学イノベーション推進プログラム発達障害データ多層統合ユニット\*\*\*\*\*)

(受付 2023 年 8 月 8 日, 受理 2023 年 10 月 4 日)

### Altered metabolites of Kynurenine Pathway are relevant to the risk of neurodevelopmental disorders.

Yuki MURAKAMI<sup>1) †</sup>, Yukio IMAMURA<sup>1,2)</sup>, Yoshiyuki KASAHARA<sup>3)</sup>, Chihiro YOSHIDA<sup>3)</sup>, Yuta MOMONO<sup>3)</sup>,  
Ke FANG<sup>1)</sup>, Daisuke SAKAI<sup>4)</sup>, Yukuo KONISHI<sup>5,6)</sup>, Toshimasa NISHIYAMA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Department of Hygiene and Public Health, Kansai Medical University.*

<sup>2)</sup> *Department of Architecture and Architectural Systems Engineering,  
Graduate School of Engineering, Kyoto University*

<sup>3)</sup> *Department of Maternal and Fetal Therapeutics, Tohoku University Graduate School of Medicine*

<sup>4)</sup> *Department of Biology, Kanazawa Medical University*

<sup>5)</sup> *Center for Baby Science, Doshisha University*

<sup>6)</sup> *Healthcare and Medical Data Multi-Level Integration Platform Group,  
RIKEN Medical Sciences Innovation Hub Program*

#### Summary

The kynurenine pathway (KP) is a major route for the metabolism of the essential amino acid L-tryptophan (Trp) in mammalian cells. Activation of the KP during neuro-inflammation can lead to the production of various endogenous neuroactive metabolites that may impact brain functions and behaviors. Furthermore, neurotoxic metabolites and excitotoxicity resulting from KP activation can induce long-term changes in nutritional support, the glutamatergic system, and synaptic function. Therefore, investigating the role of KP metabolites during neurodevelopment is likely to enhance our understanding the pathophysiology of neurodevelopmental disorders, including autism spectrum disorder (ASD). In this review, we elucidate alterations in KP metabolism during pregnancy and represent how KP metabolites during neurodevelopment period influence behavioral impairments in later stages of life.

必須アミノ酸の1つであるトリプトファン (Trp) を代謝するキヌレニン経路 (KP) では、脳で様々な生理活性をもつ代謝産物が産生される。近年、妊娠期の炎症と、炎症によって代謝が惹起される母体の Trp 代謝産物の一つであるキヌレン酸 (kynurenic acid; Kyna) が胎児脳の発

達に影響を及ぼし、その後の児の精神疾患発症に関わることが明らかになりつつある。本総説では、妊娠中の母体における Trp 代謝産物変動がどのように胎児脳の発達に影響し、その後の児の行動障害に影響するのかを論じる。

\*大阪府枚方市新町2-5-1 (〒573-1010)

\*\*京都市西京区京都大学桂 (〒615-8530)

\*\*\*仙台市青葉区星陵町2-1 (〒980-8575)

\*\*\*\*石川県河北郡内灘町大学1-1 (〒920-0293)

\*\*\*\*\*京都府木津川市木津川台4-1-1 (〒619-0225)

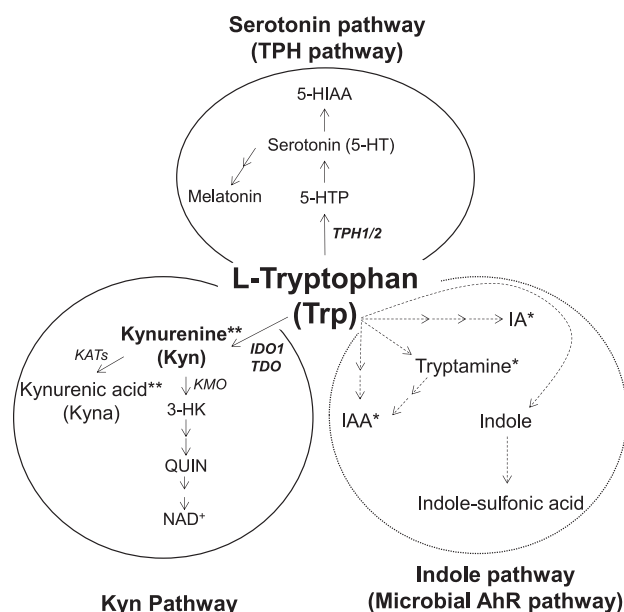
\*\*\*\*\*神奈川県横浜市鶴見区末広町1-7-22 (〒230-0045)

† Corresponding author, Tel: 072-804-2402, E-mail: murakamy@hirakata.kmu.ac.jp

## キヌレニン経路 (KP)

必須アミノ酸である Trp はその 90% 以上が新たなタンパク質の合成に使われる。生体内で代謝される Trp のうち、約 95% は肝臓で発現している Tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) によりキヌレニン経路 (KP) で代謝され、キノリン酸 (quinolic acid; QUIN) 合成を経て、補酵素として働くニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (nicotinamide adenine dinucleotide; NAD) 合成に使われている。またおよそ 3% はセロトニン (5-hydroxytryptamine; 5HT) 合成に使われ、そのうち 1% 未満の Trp が脳へ取り込まれ、脳内で神経伝達物質として作用する 5-HT が産生される<sup>1,2)</sup>。さらにこの2つの合成経路で代謝されなかった Trp (約 2%) が腸内細菌のインドール経路で代謝される (Fig. 1)。Trp 分解の第一律速酵素として、TDO 以外に肝臓以外のほとんどの臓器で発現している indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) がある。古くから TDO はストレスホルモンであるグルココルチコイドに、IDO1 はインターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) によって酵素活性が誘導されていることが知られていた<sup>2)</sup>が、近年、腫瘍壊死因子 (Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; TNF- $\alpha$ ) を含めた様々な炎症サイトカインが TDO/IDO1 を活性化することが報

告されている<sup>3)</sup>。KP 代謝産物のうち、キヌレニン (Kyn) が増加すると、脳内で Kyna が増加することが分かっており、Kyna は  $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体 ( $\alpha 7$ nAChR) やイオンチャンネル型グルタミン酸受容体 (NMDA-R) に脳内で作用する。低濃度 Kyna は  $\alpha 7$ nAChR のアゴニストとして結合し、高濃度では NMDA-R にアンタゴニストとして作用し、細胞外のグルタミン酸、ドーパミン、アセチルコリンなどの神経伝達物質の濃度を下げることによって、認知機能に影響する可能性が示唆されている<sup>4,5)</sup>。一方で、腸内細菌によって Trp は直接的に代謝される。腸内細菌のインドール経路ではインドール、インドール-3-酢酸 (indole-3-acetic acid; IAA)、トリプタミンなどが産生される<sup>6)</sup>。これらの微生物 Trp 代謝物の多くは、ダイオキシシン類を認識する受容体である芳香族炭化水素受容体 (Aryl hydrocarbon receptor; AhR) のリガンドとして作用することが報告されており<sup>7,8)</sup>、AhR を介して様々な生理活性を示す。また AhR は神経発達時に、神経細胞の分化、軸索の成長、シナプスの形成に関与している<sup>9)</sup>。神経発達症児、特に自閉スペクトラム症 (Autism spectrum disorder; ASD) 児では腸内細菌叢が変化し、腸内細菌の多様性が低下していることが報告されている<sup>11)</sup>。腸内細菌叢の多様性が低下すると、腸管バリア機能が低下し、腸内細菌や毒素、有害な代謝産物が血管内で増加するため、炎症が惹起される。また ASD 児では IDO1 活性が高く、血中および尿での Trp 濃度の低下や高 5-HT 血症が報告されている<sup>11)</sup>。これらの結果から、健常児では3つの経路がバランスよく Trp を代謝し相互に影響し合っているが、ASD 児では KP と 5-HT 経路のバランスが崩れていると考えられる。



**Fig. 1** Simplified diagram of Tryptophan (Trp) metabolism. There are three major pathways for Trp metabolism, serotonin (5-HT) pathway, kynurenine (Kyn) pathway and direct metabolism by microorganisms. The solid lines represent Trp catabolism in host, and dashed lines show direct catabolism by microbiota. Words in italics indicate representative enzymes of Trp metabolism. TPH, tryptophan hydroxylase; 5-HTP, 5-hydroxytryptophan; 5-HIAA, 5-hydroxyindoleacetic acid; IDO1, indoleamine 2,3-dioxygenase 1, TDO; tryptophan 2,3-dioxygenase; KATs, kynurenine aminotransferases; KMO, kynurenine monooxygenase; 3-HK, 3-hydroxykynurenine; QUIN, quinolic acid; NAD<sup>+</sup>, nicotinamide adenine dinucleotide; IAA, indole acetic acid; IA, indole acrylic acid. \* Aryl hydrocarbon receptor (AhR) ligands, \*\* potential AhR ligand.

## 神経発達期における 脳の重要な受容体と KP 代謝産物

KP 代謝産物である Kyna は、脳において NMDA-R,  $\alpha 7$ nAChR, AhR の3つの受容体のリガンドとして作用する。成人脳において、Kyna は血液脳関門を通過できないため、血液から取り込まれた Kyn がアストロサイトで代謝され、産生される。成人の脳では Kyna 濃度が高いとグリシンサイトに結合し、NMDA-R の過活性を阻害することで神経保護作用を示す。しかし、Kyna による NMDA-R の制御は非常に複雑で、線条体で Kyna が高値を示すと精神病様の行動障害を引き起こす可能性も指摘されている<sup>12)</sup>。そのため、NMDA-R の阻害と刺激のバランスが重要であると考えられる。一方で、生理的な濃度の Kyna は  $\alpha 7$ nAChR の負の調節因子として作用し、特に神経発達期の脳において内因性の Kyna は  $\alpha 7$ nAChR の選択的リガンドとなる<sup>13)</sup>。

胎児脳において NMDA-R は神経細胞の移動、神経新生、軸索ガイダンス、シナプス形成に重要であり、ASD の臨床検体を用いた研究において NMDA-R サブユニット遺伝

子の変異が同定されている<sup>14)</sup>。WinkらはNMDA-Rの作動薬であるD-シクロセリン投与がASD児における社会性向上に効果的であることを示した<sup>15)</sup>。SooryaらはNMDA-Rの拮抗薬であるメマンチン投与がASD児における認知障害を改善することを示した<sup>16)</sup>。これらの結果は、NMDA-Rの適切な機能調節が重要であり、過活性もしくは過阻害のようにどちらかの方向へ極端にNMDA-R活性が逸脱することがASD児の行動障害につながる可能性を示唆している。

$\alpha 7nAChR$ は中枢神経系だけでなく、末梢組織に広く発現している。また発達期のマウス胚において $\alpha 7nAChR$ 発現が高いことが示されている<sup>17)</sup>。 $\alpha 7nAChR$ については、ASD児の前脳基底核においてコリン作動性神経細胞数が増加し、逆に成人期のASD脳では減少しており、コリン作動性神経の機能障害が示唆されている<sup>18)</sup>。Wuらは選択的 $\alpha 7nAChR$ 作動薬の投与がASDの行動障害を軽減することを示している<sup>19)</sup>。またASD様行動を示すことが知られているBTBR T+ Itpr3tf/J (BTBR)マウスでは前頭皮質において、アセチルコリン濃度が低値を示し、Kyna濃度が増加していることが示されている<sup>20)</sup>。

AhRはリガンド活性型転写因子として作用する。成人では様々な組織や脳に広く発現しているが、胎児におけるAhR発現は胎盤・胎児の上皮細胞と非常に限られた組織のみである。Kimuraらは、恒常的にAhRを活性化させるVectorを*in utero*エレクトロポレーション法によって胎生14日のマウスの神経細胞に遺伝子導入し、AhRの過活性が発達中の神経細胞の移動を阻害することを示した<sup>21)</sup>。またGarcia-Laraらは、遺伝的にAhRを欠損したマウスでは、脳の特定の領域においてKynaが高値を示し、神経毒性物質の投与による侵襲から脳を保護することを示した<sup>22)</sup>。これらの結果は、神経発達期における $\alpha 7nAChR$ やAhRの活性調節が重要であり、内因性のKynaがこれらの受容体活性を調節する可能性を示唆する。

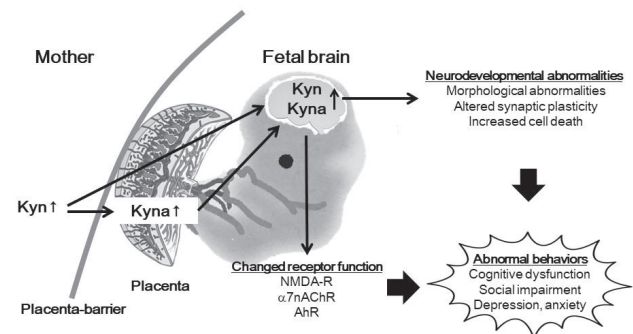
### 神経発達症におけるKP

胎児脳内のKP代謝産物のレベルは高く、出産直後に減少し、生理的条件下の成人期においては低値を示す<sup>23)</sup>。また最近のシステムティックレビューによるメタ解析により、妊娠期におけるKP代謝物のバランスは厳密に制御されていることが示されている<sup>24)</sup>。Pocivavsekらは、妊娠したげっ歯類に高濃度のKynを長期間投与すると、成長した仔で認知機能に異常を示すことを報告した<sup>25)</sup>。またPisarらは、KynをQUINの中間代謝産物である3-ヒドロキシキヌレニン(3-hydroxykynurenine; 3-HK)に代謝する酵素、kynurenine monoxygenase (KMO)の阻害剤を妊娠期のラットに投与する実験を行った<sup>26)</sup>。その結果、KMO阻害によって、一過的に母獣血と胎児脳でKynaが有意に増加し、胎児脳の形態的異状と、シナプス可塑性が変化したことを示した。さらに、遺伝的にKMOを欠損し

た動物ではKyna濃度が異常に高値を示し、抑うつ様行動や不安様行動の増加、社会性行動の異常など様々な行動異常を示すことが報告されている<sup>27,28)</sup>。そこで、われわれの研究室では、妊娠期の母獣にKynを投与した際に、胎児脳におけるKP代謝産物の変化と成長後の様々な行動に及ぼす影響を検討した<sup>29)</sup>。その結果、胎児脳の特定の領域でKynとKyna濃度が増加し、成長した仔マウスが認知機能や社会認知の低下、抑うつ様行動を示すことを明らかにした。さらに、神経回路を形成するために重要な脳領域である前脳側坐核において、細胞死が誘導されていることを見出した(未発表データ)。しかしながら、細胞死を引き起こしている細胞の同定には至っていない。これらの結果はいずれも胎生期においてKynあるいはKynaが高値を示すことによって、胎児脳の発達に影響を及ぼしていることを示唆している (Fig. 2)。

### 結語

妊娠期の母体の栄養状態が胎児の発達に影響を与えることは周知の事実である。その中でも必須アミノ酸であるTrpとその代謝産物であるKynとKynaが異常値を示すことが、児の将来の抑うつ、不安症などの精神疾患やASDをはじめとする神経発達症の発症に関与していることは明確に示されつつある。しかしながら、KynやKynaが神経発達期における神経細胞の増殖異常や、マクログリアの過活性、血液脳関門の破綻に関与しているのかは、詳細な検討がまだ必要である。妊娠期のKP活性化による生理活性をもったTrp代謝産物の変動と神経疾患に関する最近の知見は、神経発達症だけでなく、精神疾患やその他



**Fig. 2** Summary of this review. Elevated maternal levels of kynurenine (Kyn) led to increased levels of kynurenic acid (Kyna) in both placenta and fetal brain. Furthermore, Kyn might be able to cross the placenta-barrier, resulting in a significant increase of Kyn concentration in the fetal brain. Increased levels of Kyna may change the function of important receptors involved in neurodevelopment, such as N-methyl-D-aspartate receptor (NMDA-R),  $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor ( $\alpha 7nAChR$ ), and aryl hydrocarbon receptor (AhR). Moreover, elevated levels of Kyn subsequently caused morphological abnormalities, altered synaptic plasticity and functions, as well as increased cell death in the fetal brain. These neurodevelopmental abnormalities are associated with atypical behaviors, including cognitive dysfunction, social impairment, and depressive- and anxiety-like behaviors.



の中樞神経障害の発症を予防するための新たな治療戦略を導く可能性がある」と期待される。

## 文 献

- 1) Chen Y, Guillemin GJ (2009) Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy States. *Int J Tryptophan Res* 2: 1-19.
- 2) Murakami Y, Saito K (2013) Species and cell types difference in tryptophan metabolism. *Int J Tryptophan Res* 6: 47-54.
- 3) Campbell BM, Charych E, Lee AW, Moller T (2014) Kynurenines in CNS disease: regulation by inflammatory cytokines. *Front Neurosci* 8: 12.
- 4) Simpson EH, Kellendonk C, Kandel E (2010) A possible role for the striatum in the pathogenesis of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuron* 65: 585-596.
- 5) 植村 富, 楯林 義, 持田 政 (2015) 統合失調症のキヌレン酸仮説. *日本生物学的精神医学会誌* 26: 223-234.
- 6) Gao J, Xu K, Liu H, Liu G, Bai M, Peng C, Li T, Yin Y (2018) Impact of the gut microbiota on intestinal immunity mediated by tryptophan metabolism. *Front Cell Infect Microbiol* 8: 13.
- 7) Hubbard TD, Murray IA, Perdew GH (2015) Indole and tryptophan metabolism: endogenous and dietary routes to Ah receptor activation. *Drug Metab Dispos* 43: 1522-1535.
- 8) 青木 玲, 青木 綾 (2022) 腸内細菌のトリプトファン代謝物の腸管への影響 芳香族炭化水素受容体を介した作用. *化学と生物* 60: 189-198.
- 9) Dhulkifle H, Agouni A, Zeidan A, Al-Kuwari MS, Parray A, Tolefat M, Korashy HM (2021) Influence of the aryl hydrocarbon receptor activating environmental pollutants on autism spectrum disorder. *Int J Mol Sci* 22(17): 9258.
- 10) Agus A, Planchais J, Sokol H (2018) Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease. *Cell Host Microbe* 23: 716-724.
- 11) Kang DW, Ilhan ZE, Isern NG, Hoyt DW, Howsmon DP, Shaffer M, Lozupone CA, Hahn J, Adams JB, Krajmalnik-Brown R (2018) Differences in fecal microbial metabolites and microbiota of children with autism spectrum disorders. *Anaerobe* 49: 121-131.
- 12) Olsson SK, Andersson AS, Lindderholm KR, Holtze M, Nilsson-Todd LK, Schwieler L, Olsson E, Larsson K, Engberg G, Erhardt S (2009) Elevated levels of kynurenine acid change the dopaminergic response to amphetamine: implications for schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 12: 501-512.
- 13) Albuquerque EX, Schwarcz R (2013) Kynurenine acid as an antagonist of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the brain: facts and challenges. *Biochem Pharmacol* 85: 1027-1032.
- 14) Lee EJ, Choi SY, Kim E (2015) NMDA receptor dysfunction in autism spectrum disorders. *Curr Opin Pharmacol* 20: 8-13.
- 15) Wink LK, Minshawi NF, Shaffer RC, Plawecki MH, Posey DJ, Horn PS, Adams R, Pedapati EV, Schaefer TL, McDougle CJ, Swiezy NB, Erickson CA (2017) d-Cycloserine enhances durability of social skills training in autism spectrum disorder. *Mol Autism* 8: 2.
- 16) Soorya LV, Fogg L, Ocampo E, Printen M, Youngkin S, Halpern D, Kolevzon A, Lee S, Grodberg D, Anagnostou E (2021) Neurocognitive outcomes from memantine: a pilot, double-blind, placebo-controlled trial in children with autism spectrum disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 31: 475-484.
- 17) Broide RS, Winzer-Serhan UH, Chen Y, Leslie FM (2019) Distribution of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit mRNA in the developing mouse. *Front Neuroanat* 13: 76.
- 18) Eissa N, Al-Houqani M, Sadeq A, Ojha SK, Sasse A, Sadek B (2018) Current enlightenment about etiology and pharmacological treatment of autism spectrum disorder. *Front Neurosci* 12: 304.
- 19) Wu WL, Adams CE, Stevens KE, Chow KH, Freedman R, Patterson PH (2015) The interaction between maternal immune activation and alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor in regulating behaviors in the offspring. *Brain Behav Immun* 46: 192-202.
- 20) McTighe SM, Neal SJ, Lin Q, Hughes ZA, Smith DG (2013) The BTBR mouse model of autism spectrum disorders has learning and attentional impairments and alterations in acetylcholine and kynurenine acid in prefrontal cortex. *PLoS One* 8: e62189.
- 21) Kimura E, Kubo KI, Endo T, Nakajima K, Kakeyama M, Tohyama C (2017) Excessive activation of AhR signaling disrupts neuronal migration in the hippocampal CA1 region in the developing mouse. *J Toxicol Sci* 42: 25-30.
- 22) Garcia-Lara L, Perez-Severiano F, Gonzalez-Esquivel D, Elizondo G, Segovia J (2015) Absence of aryl

- hydrocarbon receptors increases endogenous kynurenic acid levels and protects mouse brain against excitotoxic insult and oxidative stress. *J Neurosci Res* 93: 1423-1433.
- 23) Notarangelo FM, Pocivavsek A (2017) Elevated kynurenic acid levels and protects mouse brain against excitotoxic insult and oxidative stress. *J Neurosci Res* 93: 1423-1433.
- 24) van Zundert SK, Broekhuizen M, Smit AJ, van Rossem L, Mirzaian M, Willemsen SP, Danser AJ, De Rijke YB, Reiss IK, Merkus D, Steegers-Theunissen RP (2022) The Role of the Kynurenic acid pathway in the (patho) physiology of maternal pregnancy and fetal outcomes: A systematic review. *Int J Tryptophan Res* 15: 11786469221135545.
- 25) Pocivavsek A, Thomas MA, Elmer GI, Bruno JP, Schwarcz R (2014) Continuous kynurenic acid administration during the prenatal period, but not during adolescence, causes learning and memory deficits in adult rats. *Psychopharmacology (Berl)* 231: 2799-2809.
- 26) Pizarro M, Forrest CM, Khalil OS, McNair K, Vincenten MC, Qasem S, Darlington LG, Stone TW (2014) Modified neocortical and cerebellar protein expression and morphology in adult rats following prenatal inhibition of the kynurenic acid pathway. *Brain Res* 1576: 1-17.
- 27) Tashiro T, Murakami Y, Mouri A, Imamura Y, Nabeshima T, Yamamoto Y, Saito K (2017) Kynurenic acid 3-monooxygenase is implicated in antidepressant-responsive depressive-like behaviors and monoaminergic dysfunctions. *Behav Brain Res* 317: 279-285.
- 28) Erhardt S, Pocivavsek A, Repici M, Liu XC, Imbeault S, Maddison DC, Thomas MAR, Smalley JL, Larsson MK, Muchowski PJ, Giorgini F, Schwarcz R (2017) Adaptive and behavioral changes in kynurenic acid 3-monooxygenase knockout mice: relevance to psychotic disorders. *Biol Psychiatry* 82: 756-765.
- 29) Murakami Y, Imamura Y, Kasahara Y, Yoshida C, Momono Y, Fang K, Nishiyama T, Sakai D, Konishi Y (2021) The effects of maternal interleukin-17a on social behavior, cognitive function, and depression-like behavior in mice with altered kynurenic acid metabolites. *Int J Tryptophan Res* 14: 11786469211026639.