

トピックス

ピロロキノリンキノンの認知機能への影響

The effects of pyrroloquinoline quinone on cognitive function

はじめに

ピロロキノリンキノン (pyrroloquinoline quinone : PQQ) は水溶性のキノン化合物であり、微生物の酸化還元酵素の補酵素として単離、同定された。自然界に広く分布し、様々な食品 (特に発酵食品や緑色植物) に含まれていることから¹⁾⁴⁾、ヒトは常に食事から摂取しているといえる。ヒトにおける PQQ の摂取量は、誘導体である imidazole pyrroloquinoline (IPQ)、oxazole pyrroloquinoline (OPQ) などの量も含めると 0.1-1.0 mg/日と推測されているが⁵⁾、その正確な量はよくわかっていない。またヒトの体液や臓器を含めて動物の体内からは PQQ が検出されているが⁶⁾、栄養学的な役割についてはまだ明らかとなっていない。一時期、マウスのリシン代謝における α -amino adipic semialdehyde (AAS) dehydrogenase の補酵素が PQQ であると提案された⁷⁾。リシン代謝異常は神経障害を引き起こすが、現時点では PQQ の関与は明らかとなっていない。しかし最近になって、担子菌 *Coprinopsis cinerea* の PQQ 依存性 pyranose dehydrogenase が発見された⁸⁾ ことから、真核生物体内における PQQ の意義についても徐々に明らかとなっている。

一方で、これまでに PQQ にはいくつかの機能性が報告されている。動物あるいは培養細胞を用いた実験において PGC-1 α や AMPK 経路を活性化すること⁹⁾¹⁰⁾、さらに乳酸脱水素酵素の活性中心で NADH を酸化し、それにより乳酸からピルビン酸への酸化が促進されること¹¹⁾ などから、PQQ が動物体内でエネルギー産生を促進すると推測される。また線虫 (*Caenorhabditis elegans*) では PQQ により dual oxidase (DUOX) が活性化され、その結果ペルオキシダーゼの作用で生成した低レベルの ROS が寿命を延伸すると報告された¹²⁾。これらの PQQ の示す作用の一因は、キノン部位の酸化還元能によると考えられており、実際 PQQ には組織や細胞、あるいはミトコンドリアを酸化障害から保護する作用が多く報告されている。さらに PQQ の作用として、以前から神経成長因子 (NGF) の増加¹³⁾¹⁴⁾、

記憶や学習に関わる NMDA (N-methyl-D-aspartate) 受容体の保護¹⁵⁾¹⁶⁾、神経変性疾患 (パーキンソン病やアルツハイマー病) と関連するアミロイド原線維形成阻害、 α -シヌクレイン凝集の阻害¹⁷⁾¹⁸⁾ など、脳機能や脳・神経系関連疾患に効果が期待される結果が示されている。その中で PQQ の認知機能 (cognitive function) といった脳へ及ぼす影響について、動物を用いた実験結果だけでなく、ヒトの認知機能やワーキングメモリー (短期記憶能力) に関する試験結果が報告されるようになった。

動物における PQQ 投与の脳機能への影響

PQQ の脳機能に及ぼす効果について、げっ歯類を用いた動物実験ではモリス水迷路 (Morris water maze test)、Y-迷路試験 (Y-maze test)、受動的回避試験 (passive avoidance test) といった学習・記憶行動実験での結果が報告されている。まず脳への酸化ストレスに対する PQQ の防御的作用については、Ohwada らが高酸素条件下に暴露したラットに PQQ 単独もしくは CoQ₁₀ と同時に投与することで記憶機能が維持されること、またこの効果は高酸素下においたビタミン E 欠乏ラットに PQQ を投与することでもみられることを示した¹⁹⁾。また Zhou らは D-ガラクトース誘発老化モデルマウスにおいて、PQQ の投与で空間作業記憶と学習能力に改善がみられたことを報告している²⁰⁾。次に加齢に対する PQQ の脳機能維持作用について、Takatsu らは 25 ヶ月齢ラットに PQQ を含む飼料を投与し、加齢による学習能力と記憶保持の欠如が改善したことを報告し²¹⁾、Yamada らは PQQ を腹腔内投与した 48 週齢マウスにおいて記憶学習能力が向上することと、IPQ (IPQNa₃) でも同様の効果が認められたことを報告している²²⁾。そしていくつかの疾患モデル動物を用いて PQQ 投与による認知機能に対する影響が調べられている。Sawmiller らは 5XFAD アルツハイマーモデルマウスに PQQ を含むカプセル剤の成分を添加した飼料を投与し、複数のテストでの行動学的解析を行った結果、通常アルツハ

イマーモデルマウスでみられる運動学習と協調運動、自発運動や探索行動、短期記憶における障害を改善したと報告している²³⁾。Martino Adamiらはアミロイド斑の蓄積や認知障害を発症する McGill-R-Thy1-APP (Tg (+/-)) ラットに PQQ を投与することで不安障害、作業記憶、認知機能の改善作用を示した²⁴⁾。Zhangらは外傷性脳損傷 (traumatic brain injury : TBI) モデルラットを用いた実験で、PQQ が空間記憶と学習能力の回復に効果があったと報告している²⁵⁾。また以前から NMDA 受容体における PQQ の保護効果も報告されているが¹⁵⁾¹⁶⁾、Zhouらが MK-801 (非競合的 NMDA 受容体アンタゴニスト) にて誘導した統合失調症モデル動物を用いた実験で、PQQ と D-セリンとの併用²⁶⁾ やクロザピンの併用²⁷⁾ によって認知機能が強く改善したと報告している。PQQ は酸化物質の抑制や抗酸化酵素の活性化などの酸化障害からの保護、ミトコンドリア機能障害からの保護¹⁰⁾、Akt/GSK3 β の活性化とタウタンパク質の減少²⁰⁾、 α シヌクレインの凝集阻害¹⁷⁾¹⁸⁾ といったいくつかのメカニズムによって、認知機能低下に対して保護・改善作用を示していると考えられる。またこれらの PQQ の認知機能への作用は、抗酸化物質である CoQ₁₀ やビタミン E とはいくらか異なっており¹⁹⁾²¹⁾、アミノ酸との共存で生成する IPQ も作用の一因と示されている²⁰⁾²²⁾。PQQ が脳に直接的な作用を示しているのであれば、どのように血液脳関門を通過して脳へ輸送されるかについても興味深い。

ヒトにおける PQQ 摂取の認知機能に対する影響

ヒトの認知機能に対する試験結果も示されており、Itohらがストループテストとタッチエムテスト (Touch M) により、ヒトの認知機能 (選択的注意力やワーキングメモリー) に対する試験結果を報告している²⁸⁾。ストループテストは、色単語と表示された単語自体の色が不一致のとき、色を認識 (認知) する際に反応が遅くなるストループ効果 (干渉)²⁹⁾ を利用した試験である。前頭葉機能における遂行機能のうち習慣的行動の抑制、すなわち選択的注意力や干渉の抑制機能を測定する³⁰⁾。この試験は発達障害や加齢に伴う認知的障害の性質を明らかとする目的でも使用される³¹⁾。またタッチエムテストはタブレットなどに表示される刺激 (点滅や丸印など) の順番と位置を記憶し、指やタッチペンでその正しい順番と位置を回答する試験である³²⁾。これは視覚空間認知機能、時間順序認知機能を測る試験であり、ワーキングメモリーが評価される。Itohらによれば、プラセボ群 (平均年齢 58.4 \pm 5.2 (SD), 20 名) に対して PQQ 摂取群 (20 mg / 日, 2 週間, 平均年齢

58.6 \pm 5.1 (SD), 21 名) において、両試験を行ったが、ストループ干渉比 (SIs)・逆ストループ干渉比 (RIs)、タッチエムテストの成績に差はみられなかった。そこでストループテストでは結果の一部を外れ値として処理し、ストループ干渉比 (SIs) の変化として解析を行ったところ PQQ 投与群とプラセボ群間に有意差が認められ ($p < 0.05$)、タッチエムテストでは PQQ の摂取前のスコアについて 70 点を境に層別解析を行った場合、PQQ 摂取群の下位グループ (10 名) で有意な差 ($p < 0.01$) が認められたと報告している。以上から彼らは、予想された結果が示されなかった部分や PQQ の作用メカニズムについて明らかにする必要があるものの、PQQ が中高齢者の脳機能 (注意力やワーキングメモリー) の低下を抑制すると結論付けている。また Yamada らは MoCA (Montreal Cognitive Assessment) により PQQ の軽度認知障害 (mild cognitive impairment : MCI) への効果について調べた²²⁾。MoCA (MoCA-J) は MCI をスクリーニングする検査であり、多領域の認知機能 (視空間、遂行、注意、記憶、言語、見当識) について評価される³³⁾。試験はランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較にて、健康な男女 (50-71 歳, 40 名) において実施され、PQQ 摂取群 (20 mg / 日, 12 週間) ではプラセボ群と比較して全体のスコアには有意な差はみられなかったが、言語課題のスコアは有意に増加 ($p < 0.05$) したことを報告している。

おわりに

PQQ は強い抗酸化作用を示すことから、脳機能の維持、改善に対する効果も活性酸素の除去・捕捉による直接的な作用がその一端を担っていると考えられる。加えていくつかの細胞内シグナル伝達経路の活性化が認知機能の改善作用を示していると予想される。先に示した AAS dehydrogenase 遺伝子 (ALDH7A1) の変異や欠損は AAS の増加をもたらし、新生児における神経伝達物質障害を引き起こす³⁴⁾³⁵⁾。いまのところ哺乳動物において PQQ の必須性は示されていないが、脳内での PQQ の作用が明らかとなれば、脳機能への影響についてアミノ酸代謝の観点から説明されるかもしれない。2020 年現在、「注意力やワーキングメモリーの維持に役立つ」として PQQ (二ナトリウム塩) を含む 2 商品の機能性表示食品が届出されており、今後ヒトにおける PQQ の臨床試験結果がより多く示されれば、食事での PQQ だけでなく、PQQ 二ナトリウム塩あるいは IPQ などの誘導體として保健機能食品などへの利用もさらに期待されるだろう。

Key words : pyrroloquinoline quinone, PQQ, cognitive function, rodents, human clinical trial

¹School of Health Science, Gifu University of Medical Science

²Faculty of Home Economics, Gifu Women's University
Tomoyuki Mishima¹, Yasuka Isa²

¹ 岐阜医療科学大学保健科学部臨床検査学科

² 岐阜女子大学家政学部健康栄養学科

三嶋 智之¹, 伊佐 保香²

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2020.12.21 受付)

文 献

- 1) Kumazawa T, Seno H, Suzuki O (1993) Failure to verify high levels of pyrroloquinoline quinone in eggs and skim milk. *Biochem Biophys Res Commun* **193**, 1-5
- 2) Kumazawa T, Sato K, Seno H, Ishii A, Suzuki O (1995) Levels of pyrroloquinoline quinone in various foods. *Biochem J* **307**, 331-333
- 3) Noji N, Nakamura T, Kitahata N, Taguchi K, Kudo T, Yoshida S, Tsujimoto M, Sugiyama T, Asami T (2007) Simple and sensitive method for pyrroloquinoline quinone (PQQ) analysis in various foods using liquid chromatography/electrospray-ionization tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem* **55**, 7258-7263
- 4) Kato C, Kawai E, Shimizu N, Mikekado T, Kimura F, Miyazawa T, Nakagawa K (2018) Determination of pyrroloquinoline quinone by enzymatic and LC-MS/MS methods to clarify its levels in foods. *PLoS One* **13**, e0209700
- 5) Harris CB, Chohanadisai W, Mishchuk DO, Satre MA, Slupsky CM, Rucker RB (2013) Dietary pyrroloquinoline quinone (PQQ) alters indicators of inflammation and mitochondrial-related metabolism in human subjects. *J Nutr Biochem* **24**, 2076-2084
- 6) Kumazawa T, Seno H, Urakami T, Matsumoto T, Suzuki O (1992) Trace levels of pyrroloquinoline quinone in human and rat samples detected by gas chromatography/mass spectrometry. *Biochim Biophys Acta* **1156**, 62-66
- 7) Kasahara T, Kato T (2003) Nutritional biochemistry: A new redox-cofactor vitamin for mammals. *Nature* **422**, 832
- 8) Takeda K, Matsumura H, Ishida T, Samejima M, Ohno H, Yoshida M, Igarashi K, Nakamura N (2015) Characterization of a novel PQQ-dependent quinoxinohemoprotein pyranose dehydrogenase from *Coprinopsis cinerea* classified into auxiliary activities family 12 in carbohydrate-active enzymes. *PLoS one* **10**, e0115722
- 9) Chohanadisai W, Bauerly KA, Tchapanian E, Wong A, Cortopassi GA, Rucker RB (2010) Pyrroloquinoline quinone stimulates mitochondrial biogenesis through cAMP response element-binding protein phosphorylation and increased PGC-1alpha expression. *J Biol Chem* **285**, 142-152
- 10) Cheng Q, Chen J, Guo H, Lu JL, Zhou J, Guo XY, Shi Y, Zhang Y, Yu S, Zhang Q, Ding F (2020) Pyrroloquinoline quinone promotes mitochondrial biogenesis in rotenone-induced Parkinson's disease model via AMPK activation. *Acta Pharmacol Sin* 2020 Aug 28 [Epub ahead of print]
- 11) Akagawa M, Minematsu K, Shibata T, Kondo T, Ishii T, Uchida K (2016) Identification of lactate dehydrogenase as a mammalian pyrroloquinoline quinone (PQQ)-binding protein. *Sci Rep* **6**, 26723
- 12) Sasakura H, Moribe H, Nakano M, Ikemoto K, Takeuchi K, Mori I (2017) Lifespan extension by peroxidase and dual oxidase-mediated ROS signaling through pyrroloquinoline quinone in *C. elegans*. *J Cell Sci* **130**, 2631-2643
- 13) Urakami T, Tanaka A, Yamaguchi K, Tsuji T, Niki E (1995) Synthesis of esters of coenzyme PQQ and IPQ, and stimulation of nerve growth factor production. *Biofactors* **5**, 139-146
- 14) Yamaguchi K, Sasano A, Urakami T, Tsuji T, Kondo K (1993) Stimulation of nerve growth factor production by pyrroloquinoline quinone and its derivatives *in vitro* and *in vivo*. *Biosci Biotechnol Biochem* **57**, 1231-1233
- 15) Aizenman E, Hartnett KA, Zhong C, Gallop PM, Rosenberg PA (1992) Interaction of the putative essential nutrient pyrroloquinoline quinone with the N-methyl-D-aspartate receptor redox modulatory site. *J Neurosci* **12**, 2362-2369
- 16) Aizenman E, Jensen FE, Gallop PM, Rosenberg PA, Tang LH (1994) Further evidence that pyrroloquinoline quinone interacts with the N-methyl-D-aspartate receptor redox site in rat cortical neurons *in vitro*. *Neurosci Lett* **168**, 189-192
- 17) Kobayashi M, Kim J, Kobayashi N, Han S, Nakamura C, Ikebukuro K, Sode K (2006) Pyrroloquinoline quinone (PQQ) prevents fibril formation of alpha-synuclein. *Biochem Biophys Res Commun* **349**, 1139-1144
- 18) Kim J, Kobayashi M, Fukuda M, Ogasawara D, Kobayashi N, Han S, Nakamura C, Inada M, Miyaura C, Ikebukuro K, Sode K (2010) Pyrroloquinoline quinone inhibits the fibrillation of amyloid proteins. *Prion* **4**, 26-31
- 19) Ohwada K, Takeda H, Yamazaki M, Isogai H, Nakano M, Shimomura M, Fukui K, Urano S (2008) Pyrroloquinoline Quinone (PQQ) Prevents Cognitive Deficit Caused by Oxidative Stress in Rats. *J Clin Biochem Nutr* **42**, 29-34
- 20) Zhou XQ, Yao ZW, Peng Y, Mao SS, Xu D, Qin XF, Zhang RJ (2018) PQQ ameliorates D-galactose induced cognitive impairments by reducing glutamate neurotoxicity via the GSK-3beta/Akt signaling pathway in mouse. *Sci Rep* **8**, 8894
- 21) Takatsu H, Owada K, Abe K, Nakano M, Urano S (2009) Effect of vitamin E on learning and memory deficit in aged rats. *J Nutr Sci Vitaminol* **55**, 389-393
- 22) Yamada Y, Nishii K, Kuwata K, Nakamichi M, Nakanishi K, Sugimoto A, Ikemoto K (2020) Effects of pyrroloquinoline quinone

- and imidazole pyrroloquinoline on biological activities and neural functions. *Heliyon* **6**, e03240
- 23) Sawmiller D, Li S, Mori T, Habib A, Rongo D, Delic V, Bradshaw PC, Shytle RD, Sanberg C, Bickford P, Tan J (2017) Beneficial effects of a pyrroloquinolinequinone-containing dietary formulation on motor deficiency, cognitive decline and mitochondrial dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Heliyon* **3**, e00279
- 24) Martino Adami PV, Quijano C, Magnani N, Galeano P, Evelson P, Cassina A, Do Carmo S, Leal MC, Castano EM, Cuello AC, Morrelli L (2017) Synaptosomal bioenergetic defects are associated with cognitive impairment in a transgenic rat model of early Alzheimer's disease. *J Cereb Blood Flow Metab* **37**, 69-84
- 25) Zhang L, Liu J, Cheng C, Yuan Y, Yu B, Shen A, Yan M (2012) The neuroprotective effect of pyrroloquinoline quinone on traumatic brain injury. *J Neurotrauma* **29**, 851-864
- 26) Zhou X, Liu D, Zhang R, Peng Y, Qin X, Mao S (2016) Modulation of glycine sites enhances social memory in rats using PQQ combined with d-serine. *Behav Brain Res* **308**, 217-221
- 27) Zhou X, Cai G, Mao S, Xu D, Xu X, Zhang R, Yao Z (2020) Modulating NMDA receptors to treat MK-801-induced schizophrenic cognition deficit: effects of clozapine combining with PQQ treatment and possible mechanisms of action. *BMC Psychiatry* **20**, 106
- 28) Itoh Y, Hine K, Miura H, Uetake T, Nakano M, Takemura N, Sakatani K (2016) Effect of the Antioxidant Supplement Pyrroloquinoline Quinone Disodium Salt (BioPQQ) on Cognitive Functions. *Adv Exp Med Biol* **876**, 319-325
- 29) Stroop JR (1935) Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology* **18**, 643-662
- 30) 箱田裕司, 佐々木めぐみ (1990) 集団用ストループ・逆ストループテスト. *教育心理学研究* **38**, 389-394
- 31) 永原直子, 伊藤恵美, 岩原昭彦, 堀田千絵 (2012) 認知機能スクリーニング検査としてのストループ検査の有用性の検討. *人間環境学研究* **10**, 29-33
- 32) 林裕子, 木島輝美, 佐藤和彦, 村上新治 (2011) タッチパネルを用いた視空間認知機能の評価方法の検討. *老年精神医学雑誌* **22**, 439-447
- 33) 福田雅子, 中森正博, 今村栄次, 小川加菜美, 西野真佐美, 平田明子, 若林伸一 (2020) 認知機能低下の鑑別における日本語版 Montreal Cognitive Assessment (MoCA-J) の特性. *医学検査* **69**, 527-533
- 34) Plecko B, Paul K, Paschke E, Stoeckler-Ipsiroglu S, Struys E, Jakobs C, Hartmann H, Luecke T, di Capua M, Korenke C, Hikel C, Reutershahn E, Freilinger M, Baumeister F, Bosch F, Erwa W (2007) Biochemical and molecular characterization of 18 patients with pyridoxine-dependent epilepsy and mutations of the aldehyde dehydrogenase 7A1 (ALDH7A1) gene. *Hum Mutat* **28**, 19-26
- 35) Pearl PL, Taylor JL, Trzcinski S, Sokohl A (2007) The pediatric neurotransmitter disorders. *J Child Neurol* **22**, 606-616