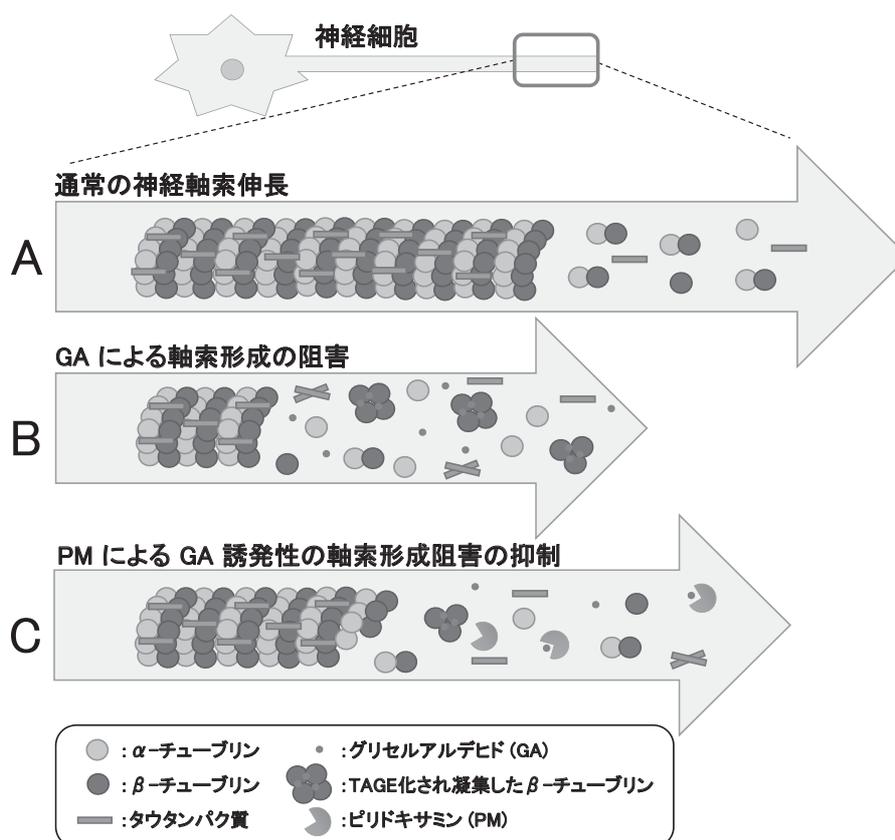

トピックス

**毒性終末糖化産物 (TAGE) による中枢神経軸索形成阻害に対する
ピリドキサミンの抑制効果****Inhibitory effects of pyridoxamine against toxic advanced glycation end-products (TAGE)-induced axonal degeneration**

我が国は超高齢社会を迎えており、それに伴い認知症患者数は急増している。特に認知症の半数以上を占めるアルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) 患者数は急増の一途を辿っている。AD の病因として、細胞外において老人斑が形成される β アミロイド仮説、細胞内において神経原線維変化が引き起こされるタウ仮説の2つの仮説が提唱されている。現在の医療において、薬物治療などにより、認知機能障害を一時的に改善する対症療法は存在するものの、アミロイド β の蓄積による老人斑の形成や、タウタンパク質のリン酸化による神経原線維変化を標的とした根本的な治療法は存在しない。一方、2型糖尿病 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM) は AD 発症のリスク因子のひとつとして知られており¹⁾²⁾、T2DM 患者での糖代謝異常は、AD 発症リスクの上昇を引き起こすとされている³⁾。実際、健常人と比較して T2DM 患者では、AD の発症の相対危険度が約2倍上昇することが報告されている⁴⁾。一方で、T2DM 起因性の AD 発症に関する詳細なメカニズムは明らかになっていない。T2DM 患者の血液中には、様々な糖とタンパク質の非酵素的反応物である終末糖化産物 (advanced glycation end-products, AGEs) が健常人より多く存在することが知られている⁵⁾⁶⁾。AGEs の形成と蓄積は、老化や生活習慣の悪化によって様々な組織で引き起こされるため、T2DM と AD の発症や進行に対して重要な役割を果たしていると考えられている。我々は、糖尿病性腎症の患者血清から、多種の AGEs を特定してきた⁶⁾⁷⁾。AGEs には、グルコース由来のものをはじめとした多くの種類が存在するが、特に、グルコースやフルクトースの代謝中間体であるグリセルアルデヒド (glyceraldehyde, GA) 由来の AGEs が、中枢神経細胞に対して特に強い障害性を示したことを我々は報告している⁸⁾¹⁰⁾。また、GA 由来の AGEs は非アルコール性肝障害や T2DM のリスク因子で

あることは多く報告されている¹¹⁾¹²⁾。我々はそれを毒性終末糖化産物 (toxic AGEs, TAGEs) と命名した¹³⁾¹⁴⁾。興味深いことに、AD 患者死後脳の高橋神経細胞における TAGE の免疫染色では、細胞内に強い陽性像が認められている¹⁵⁾。我々は、ヒト神経芽細胞腫である SH-SY5Y 細胞に GA を処理するとタンパク質の TAGE 化が認められると共に細胞障害性を示すことを報告した¹⁶⁾。またその際、アミロイド β の増加やタウのリン酸化といった AD 様の変化が認められた。一方、GA によって TAGE 化されるタンパク質は不明であった。そこで我々は、TAGE 化標的タンパク質の同定を目的として、GA 処理した SH-SY5Y 細胞から抽出したタンパク質を二次元電気泳動により展開し、特異的な抗体を用いて TAGE 化タンパク質を探索した。その後、飛行時間型質量分析装置を用いたアミノ酸配列の解析により、TAGE 化される標的タンパク質のひとつがヒト β -チューブリンであることを突き止めた¹⁷⁾。細胞骨格タンパク質のひとつである β -チューブリンは神経細胞において、 α -チューブリンとヘテロダイマーを形成し、重合と脱重合を繰り返している¹⁸⁾。そのため、 β -チューブリンは、中枢神経軸索を構成する微小管の形成において重要な役割を果たしている (図 A)。興味深いことに、GA 処理した SH-SY5Y 細胞において、 β -チューブリンの TAGE 化が引き起こされると共に、TAGE 化 β -チューブリンの異常凝集が確認された¹⁷⁾。また、その際に、神経軸索の形成が抑制されることが確認された (図 B)。TAGE 化 β -チューブリンの異常凝集により、 α -チューブリンとのヘテロダイマーの形成抑制が引き起こされたと考えられる。これらのことから、GA による β -チューブリンの TAGE 化により、TAGE 化 β -チューブリンの異常凝集が引き起こされた結果、神経軸索の伸長抑制をきたす可能性が示唆された。つまり、我々が報告した GA 処理による、タウタンパク質のリ



ン酸化レベル上昇は、規則正しく配列したチューブリンの留め金としてはたらくタウタンパク質が遊離する割合が増えた結果、リン酸化による修飾を受けやすくなったものと考えている¹⁶⁾。これら一連の結果は、 β -チューブリンの TAGE 化が、AD における神経原線維変化によく似た病理学的変化を引き起こす可能性を示唆している。したがって、T2DM により増加した GA による β -チューブリンの TAGE 化が神経軸索形成を阻害する可能性があり、これらのことが AD の発症や進行に寄与すると考えている。

一方、我々は TAGE 阻害剤に関する研究も進めている。かつて糖尿病性腎症治療薬として開発されたアミノグアニジン (aminoguanidine, AG) は、AGEs 阻害剤である¹⁹⁾²⁰⁾。我々の研究により、GA 処理した SH-SY5Y 細胞に AG を添加することで、TAGE 化 β -チューブリンの凝集に伴う神経軸索伸長阻害とタウタンパク質のリン酸化を有意に抑制することが示された²¹⁾。しかし、AG は、半減期が約 1 時間であることに加え、10 mM 以上の高濃度では、ヒトに対して細胞毒性を示す²²⁾。そのため、安全性の観点から、ヒトに対する臨床試験に AG を用いることには限界がある²²⁾。我々は、新たな AGEs 阻害剤の候補として、ビタミン B₆ の一種で

あるピリドキサミン (pyridoxamine, PM) に注目した²³⁾。

ビタミン B₆ は、水溶性ビタミンの一種であり自然界において、PM の他にピリドキシニン (pyridoxine, PN)、ピリドキサール (pyridoxal, PA) が存在している。我々は、アミノ基をもつ PM が AGEs 阻害剤として、TAGE 化 β -チューブリンの凝集に伴う、神経軸索の伸長阻害及びタウタンパク質のリン酸化を有意に抑制することを発見した (図 C)²¹⁾。PM の AGEs 阻害作用により、 β -チューブリンの TAGE 化とそれに伴う凝集形成を抑制することで、軸索伸長の阻害が軽減された結果であると考えられる。一方で、アミノ基をもたない PN と PA には AGEs 阻害作用は認められなかった。したがって、PM は、T2DM 起因性の AD 発症と進行を防ぐ可能性を示唆している。

生体内に存在する GA による β -チューブリンの TAGE 化は、その異常凝集を引き起こし、神経軸索の形成異常や変性に関連している可能性が示唆された。また、PM の AGEs 阻害作用がそれらを軽減させることが明らかとなった。今後は、TAGE と AD 発症の関連性について、さらなるメカニズムの解明に取り組むと共に、TAGE 形成阻害剤の研究に取り組んでいきたい。

Key words :Alzheimer's disease, Advanced glycation end-products, Toxic AGEs, β -tubulin, Pyridoxamine

Hayahide Ooi, Ayako Furukawa, Yoshiki Koriyama
Graduate School and Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Suzuka University of Medical Science, Suzuka, Japan
鈴鹿医療科学大学 薬学研究科 / 薬学部 中枢神経薬理
大井 勇秀, 古川 絢子, 郡山 恵樹

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2022.8.23 受付)

文 献

- 1) Smith MA, Taneda S, Richey PL, Miyata S, Yan SD, Stern D, Sayre LM, Monnier VM, Perry G (1994) Advanced Maillard reaction end products are associated with Alzheimer disease pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 5710-5714
- 2) Yan SD, Yan SF, Chen X, Fu J, Chen M, Kuppusamy P, Smith MA, Perry G, Godman GC, Nawroth P (1995) Non-enzymatically glycosylated tau in Alzheimer's disease induces neuronal oxidant stress resulting in cytokine gene expression and release of amyloid beta-peptide. *Nat Med* **1**, 693-699
- 3) Arvanitakis Z, Wilson RS, Bienias JL, Evans DA, Bennett DA (2004) Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. *Arch Neurol* **61**, 661-666
- 4) Ott A, Stolk RP, Harskamp FV, Pols HA, Hofman A, Breteler MM (1999) Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology* **53**, 1937-1942
- 5) Brownlee M (1995) Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu Rev Med* **46**, 223-234
- 6) Takeuchi M, Makita Z (2001) Alternative routes for the formation of immunochemically distinct advanced glycation end-products *in vivo*. *Curr Mol Med* **1**, 305-315
- 7) Takeuchi M, Iwaki M, Takino J, Shirai H, Kawakami M, Bucala R, Yamagishi S (2010) Immunological detection of fructose-derived advanced glycation end-products. *Lab Invest* **90**, 1117-1127
- 8) Takeuchi M, Bucala R, Suzuki T, Ohkubo T, Yamazaki M, Koike T, Kameda Y, Makita Z (2000) Neurotoxicity of advanced glycation end-products for cultured cortical neurons. *J Neuropathol Exp Neurol* **59**, 1094-1105
- 9) Takeuchi M, Watai T, Sasaki N, Choei H, Iwaki M, Ashizawa T, Inagaki Y, Yamagishi S, Kikuchi S, Riederer P, Saito T, Bucala R, Kameda Y (2003) Neurotoxicity of acetaldehyde-derived advanced glycation end products for cultured cortical neurons. *J Neuropathol Exp Neurol* **62**, 486-496
- 10) Takeuchi M, Kikuchi S, Sasaki N, Suzuki T, Watai T, Iwaki M, Bucala R, Yamagishi S (2004) Involvement of advanced glycation end-products (AGEs) in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* **1**, 39-46
- 11) Takeuchi M, Sakasai-Sakai A, Takata T, Takino JI, Koriyama Y, Kikuchi C, Furukawa A, Nagamine K, Hori T, Matsunaga T (2021) Intracellular toxic AGEs (TAGE) triggers numerous types of cell damage. *Biomolecules* **11**, 387
- 12) Takeuchi M, Sakasai-Sakai A, Takata T, Takino JI, Koriyama Y (2022) Effects of toxic AGEs (TAGE) on human health. *Cells* **11**, 2178
- 13) Takeuchi M, Takino J, Yamagishi S (2010) Involvement of the toxic AGEs (TAGE)-RAGE system in the pathogenesis of diabetic vascular complications: a novel therapeutic strategy. *Curr Drug Targets* **11**, 1468-1482
- 14) Takeuchi M, Sato T, Takino J, Kobayashi Y, Furuno S, Kikuchi S, Yamagishi S (2007) Diagnostic utility of serum or cerebrospinal fluid levels of toxic advanced glycation end-products (TAGE) in early detection of Alzheimer's disease. *Med Hypotheses* **69**, 1358-1366
- 15) Choei H, Sasaki N, Takeuchi M, Yoshida T, Ukai W, Yamagishi S, Kikuchi S, Saito T (2004) Glyceraldehyde-derived advanced glycation end products in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* **108**, 189-193
- 16) Koriyama Y, Furukawa A, Muramatsu M, Takino J, Takeuchi M (2015) Glyceraldehyde caused Alzheimer's disease-like alterations in diagnostic marker levels in SH-SY5Y human neuroblastoma cell. *Sci Rep* **5**, 13313
- 17) Nasu R, Furukawa A, Suzuki K, Takeuchi M, Koriyama Y (2020) The effect of glyceraldehyde-derived advanced glycation end products on β -tubulin-inhibited neurite outgrowth in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Nutrients* **12**, 2958
- 18) Kirschner M, Mitchison T (1986) Beyond self-assembly: from microtubules to morphogenesis. *Cell* **9**, 329-342
- 19) Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, Ulrich P, Cerami A (1986) Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science* **232**, 1629-1632
- 20) Nilsson BO (1999) Biological effects of aminoguanidine: an update. *Inflamm Res* **48**, 509-515
- 21) Ooi H, Nasu R, Furukawa A, Takeuchi M, Koriyama Y (2022) Pyridoxamine and aminoguanidine attenuate the abnormal aggregation of β -tubulin and suppression of neurite outgrowth by glyceraldehyde-derived toxic advanced glycation end-products. *Front Pharmacol* **13**, 921611
- 22) Ahmed N (2005) Advanced glycation endproducts-rrole in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* **67**, 3-21
- 23) Khalifah RG, Baynes JW, Hudson BG (1999) Amadorins: novel post-Amadori inhibitors of advanced glycation reactions. *Biochem Biophys Res Commun* **257**, 251-258