

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	脳神経科学領域 神経病理学分野 氏名 成田 秀美
(論文題目) Trehalose intake and exercise upregulate a glucose transporter, GLUT8, in the brain (トレハロース摂取と運動は脳内グルコーストランスポーターGLUT8を増加させる)	
(内容の要旨：和文で 2,000 字程度) 【緒言】 運動は脳の健康を増進し、認知能力の改善を促すことが知られている。また、運動は糖尿病、心血管疾患および炎症性疾患などの生活習慣病の予防に有益な効果を有するが、その細胞機構は完全には解明されていない。オートファジーは、細胞内のリサイクルシステムであり飢餓や運動などの多くのエネルギーを必要とする状況で活性化する。我々は以前、天然二糖類の一つであるトレハロースが、マウスの脳内でオートファジーを誘導することを報告した。本研究では、トレハロース摂取と運動の併用が、マウスのオートファジーに与える影響を検討した。	
【材料と方法】 正常マウスおよびオートファゴソームを緑色蛍光タンパク質 (GFP-LC3) で可視化できるトランスジェニックマウス (n = 36) に、2%トレハロース (n = 10)、2%マルトース (n = 10)、2%スクロース (n = 8)、水 (n = 8) を経口投与した。正常マウスを各々4群に分け、各群はさらに運動群と非運動群とした。トランスジェニックマウスは、トレハロースとマルトース各々について運動群と非運動群に分けた。運動群はトレッドミル運動を最後の 3 日間 (5, 6, 7 日目) で実施、7 日目の運動直後にマウスを解剖し、組織学的観察および生化学的分析 (ウエスタンブロッティング) を行った。また、運動による生体の代謝反応 (グリコーゲン含有量) を検討する目的で、肝臓の Periodic acid-Schiff (PAS) 染色を実施した。GFP-LC3 マウスの脳および肝臓を SCALE 法で透明化し、光学顕微鏡 (Zeiss Light-sheet Z.1 顕微鏡, Carl Zeiss 社) で蛍光 GFP ドットを確認した。ウエスタンブロッティングは NIH (National Institutes of Health) によって提供されている Image J ソフトウェアを使用し定量化後、統計処理の有意水準は 5%未満とした。	
【結果】 トレハロースを単独で摂取したマウスの脳および肝臓では LC3-II の増加を認めたが、運動を併用することで LC3-II は減少した。しかし、オートファジーの活性化因子とされるリン酸化 AMP-activated protein kinase (P-AMPK) は運動後、トレハロース摂取マウスでは対照と比較し有意に高かった。PAS 染色にて肝臓のグリコーゲンを運動前後で比較したところ、運動後マルトースおよびスクロース摂取マウスの PAS 陽性構造物は消失した。一方、興味深いことにトレハロース摂取マウスの肝臓では、PAS 陽性構造物は運動後も保存されていた。これらの PAS 陽性構造物はアミラーゼ処理により消失したことから、グリコーゲンと判断した。近年、トレハローストランスポーターとして Glucose transporter 8 (GLUT8) が報告された。ウエスタンブロッティングにおいて、運動後のトレ	

ハロース摂取マウスの脳では GLUT8 レベルが有意に増加したが、一般臓器のグルコース代謝を調節する GLUT4 は、すべてのグループで変化しなかった。トレハロース摂取マウスの肝臓においても GLUT8 は有意に増加していた。GLUT8 のより強い染色パターンは、トレハロース摂取マウスの脳と肝臓で発現されており、特に脳の海馬と線条体で染色の広がりを認めた。脳 GLUT8 の局在を明らかにするために、抗 GFAP 抗体および抗シナプトフィジン、抗 CNPase 抗体による免疫標識を行った結果、GLUT8 の発現は神経細胞ではなくアストロサイトとの局在が確認された。

【考察】

本研究においても、我々の以前の報告と同様に、トレハロースはマウスの肝臓および脳においてオートファジーを活性化させた。しかし、本研究の目的である運動との併用による効果的なオートファジーの活性化は認められず、逆に LC3-II は脳と肝臓で減少した。一方、オートファジーの活性化因子とされる P-AMPK については併用効果が肝臓と脳で確認された。最近、Mayer らは、GLUT8 がトレハローストランスポーターであることを報告し、トレハロースが GLUT8 を介してオートファジーを誘導するとしている。本研究では、トレハロース摂取と運動の併用で脳内の GLUT8 が有意に増加、PAS 染色においてトレハロース摂取マウスの肝臓ではグリコーゲンが運動後も消費されず維持された。これらのことから、トレハロースと運動の併用は脳内の代謝反応に変化を与え、運動時のエネルギー源をトレハロース優位な環境にしている可能性がある。運動時の脳機能を維持するためには、より多くのエネルギー源が神経細胞に必要であるが、それをトレハロースがアストロサイトの発現する GLUT8 を通して供給している可能性がある。

【結論】

トレハロースと GLUT8 が協調的に脳内のエネルギー供給に寄与していることが示唆された。その代謝反応は二糖類で違いがあり、特にトレハロースと運動の併用で効果が高まる可能性がある。今後は、どの程度の運動が脳内の GLUT8 を効果的に活性化させ得るのかを明らかにすることで、異常なタンパク質が凝集する疾患に対する効率的な治療戦略に結びつく可能性がある。