

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17965

研究課題名（和文）mTORシグナル抑制を介した認知機能改善戦略 モデルマウスを用いての検討

研究課題名（英文）Improvement of cognitive function through the inhibition of mTOR signal

研究代表者

住吉 愛里（Sumiyoshi, Eri）

島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教

研究者番号：40782404

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：これまで私の研究グループは、カカオに多く含まれるテオブロミンの摂取が、正常マウスの記憶・学習行動を促進することを報告した。本研究は、記憶・学習障害を有する老化促進モデルマウス（SAMP8）を用いて、テオブロミン摂取が認知機能に与える影響を行動学的・生化学的に検討した。その結果、SAMP8マウスのテオブロミン摂取は、通常飼料摂取と比較して、短期記憶を改善させ、大脳皮質および海馬の脳由来神経栄養因子（BDNF）の発現量を増加させた。このことから、SAMP8マウスにおいてもテオブロミン摂取が認知機能改善に有効である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2025年には、日本の高齢者の5人に1人（約700万人）が認知症を発症すると見込まれる。認知症の約60%がアルツハイマー型である。アルツハイマー病は脳にアミロイド やタウタンパク質が蓄積し神経細胞が死ぬことで発症すると考えられているが、近年アルツハイマー病による認知機能低下にはmTORシグナルの過剰な活性化の関与が指摘されている。私の研究グループは培養細胞を用いたin vitro研究で、テオブロミンがmTORシグナルを抑制することを報告した。このことから、テオブロミンを含む食品の摂取は、アルツハイマー病などの認知機能低下を予防・治療することが期待できる。

研究成果の概要（英文）：Theobromine is the primary methylxanthine found in products made from cacao. We previously reported that theobromine intake performed better on learning tasks with enhanced cAMP responsive element binding protein (CREB) / brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in normal mice. However, the effect of theobromine intake on cognitive function in age-related learning and memory disorders, such as in senescence-accelerated mouse-prone 8 (SAMP8) mice, is unknown; therefore, we investigated the effects of theobromine intake on learning and memory in a SAMP8 mouse model. As a result, theobromine intake in SAMP8 mice improved short-term learning memory and increased expression of BDNF in the cerebral cortex and hippocampus as compared with the standard diet intake mice. These results suggest that theobromine intake may be effective in improving brain function in SAMP8 mice.

研究分野：健康・スポーツ科学

キーワード：テオブロミン 老化促進モデルマウス 認知機能 BDNF

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

65歳以上の高齢者の日本総人口に占める割合は27.7%(2017年9月18日敬老の日現在)であり、日本は世界一の高齢社会を実現した。しかし、平成24年(2012年)度では65歳以上の高齢者の7人に1人に当たる462万人(有病率15.0%)が認知症であり、令和7年(2025年)度には約700万人、高齢者の5人に1人が認知症を発症すると見込まれる(平成28年度版高齢社会白書(内閣府))。認知症の約60%がアルツハイマー型である。アルツハイマー病は脳にアミロイドやタウタンパク質が蓄積し神経細胞が死ぬことで発症すると考えられているが、近年アルツハイマー病による認知機能低下にはmTORシグナルの過剰な活性化の関与が指摘されている。

カカオに含まれるポリフェノールは、認知機能維持に働くことが報告されている。しかしながら、ポリフェノール以外の成分の有効性についてはあまり報告されていない。そこで、我々の研究グループは、カカオに高濃度で存在する「テオプロミン」に注目した。テオプロミンはチョコレートの主原料であるカカオから抽出されたアルカロイドで、カフェインやテオフィリンと似た構造のメチルキサンチン誘導体である。

これまで、テオプロミンが正常マウスの記憶・学習行動を促進し、脳内の転写因子 CREB の活性化や脳由来神経栄養因子(Brain-derived neurotrophic factor; BDNF)を増加させることを報告した(J Nutr Biochem. 39, 110-116, 2017)。さらに、テオプロミンがアルツハイマー病などの認知機能低下の原因とされる mTOR シグナルを抑制することをラット in vivo 実験で見出した(Basic Clin Pharmacol Toxicol. 124, 575-581, 2018)。このことから、テオプロミンの摂取が、mTOR 過剰活性化に起因した認知機能低下の改善や予防に効果がある可能性がある。しかしながら、テオプロミンが、脳機能障害をすでに有しているマウスにも効果があるか否かは不明であった。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、記憶・学習障害を有する老化促進モデルマウス(senescence accelerated mouse prone; SAMP8)マウスおよびそのコントロールである正常老化マウス(senescence accelerated mouse resistant; SAMR1)を用いて、テオプロミン投与が、通常飼料を投与した群と比較し、記憶・学習行動を改善できるか否かを明らかにする。さらに mTOR シグナルを含む分子メカニズム解析を行い、総合的にテオプロミンの効果を検討する。

3. 研究の方法

SAMP8 および SAMR1 マウス(全て 18 週齢、雄性)を明暗周期 12:12 時間、自由摂食・飲水下で飼育した。SAMP8 および SAMR1 マウスはそれぞれ、テオプロミン含有飼料(0.05% W/W)摂取群(テオプロミン群)または通常飼料摂取群(対照群)に分け、単独飼育を行った。

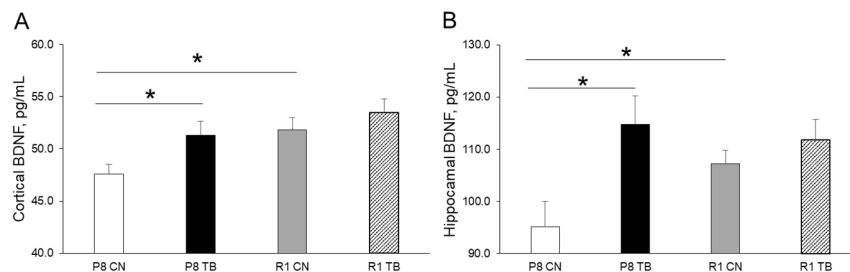
介入期間中、体重、摂食量、飲水量は 10 日間毎に測定した。テオプロミン飼料摂取開始 30 日、40 日および 50 日後に Y 迷路、新規物体認識試験を行い、マウスの認知機能を行動学的に検討した。

さらに、行動実験終了後にマウスを安楽死させ、脳(大脳皮質、海馬)血液を採取した。その後、大脳皮質、海馬を用いて、脳由来神経栄養因子(BDNF)量や mTOR シグナル(リン酸化 mTOR 下流分子であるリン酸化 4E-BP1)の発現量を ELISA 法、ウエスタンブロット法で測定し、血液を用いて、血漿テオプロミン量(LC-MS 法)および血液一般生化学検査を行った。

4. 研究成果

体重、摂食量、飲水量ともに介入前、介入期間中を通して、SAMP8、SAMR1 とともに、テオプロミン群、対照群で有意差は認めなかった。行動実験では、テオプロミン含有飼料摂取開始 50 日後に行った新規物体認識試験において、SAMP8 のテオプロミン群は、対照群と比較して、短期記憶が有意に改善していた($P < 0.05$)。

さらに、大脳皮質および海馬の BDNF 発現量は、SAMP8 マウスで、対照群と比較してテオプロミン群で有意に増加していた($P < 0.05$)(下図)。



大脳皮質(A)および海馬(B)における脳由来神経栄養因子(BDNF)の発現量
SAMP8マウスにおいて対照群(P8 CN, N=8)と比較してテオプロミン群(P8 TB, N=8)
で有意に発現量が高いことに注目。 平均値±標準誤差 * , vs. P8 CN $P < 0.05$.

血漿テオプロミン量測定において、テオプロミン含有飼料を摂取した SAMP8 および SAMR1 マウスの血漿からテオプロミンの検出を認めた。さらに、血液一般生化学検査において、SAMP8 および SAMR1 のテオプロミン群、対照群で有意差は認めなかった。

以上の結果より、テオプロミンの摂取は、記憶・学習障害を有する老化促進モデルマウス (SAMP8) においても、一定の認知機能改善効果を有することが示唆される。

現在、mTORシグナル(リン酸化mTOR量、mTORの下流分子であるリン酸化4E-BP1量など)などを検証しているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Islam Rafiad, Matsuzaki Kentaro, Sumiyoshi Eri, Hossain Md Emon, Hashimoto Michio, Katakura Masanori, Sugimoto Naotoshi, Shido Osamu	4. 巻 11
2. 論文標題 Theobromine Improves Working Memory by Activating the CaMKII/CREB/BDNF Pathway in Rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 888 ~ 888
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu11040888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sumiyoshi Eri, Matsuzaki Kentaro, Sugimoto Naotoshi, Tanabe Yoko, Hara Toshiko, Katakura Masanori, Miyamoto Mayumi, Mishima Seiji, Shido Osamu	4. 巻 11
2. 論文標題 Sub-Chronic Consumption of Dark Chocolate Enhances Cognitive Function and Releases Nerve Growth Factors: A Parallel-Group Randomized Trial	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2800 ~ 2800
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu11112800	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Sumiyoshi Eri, Matsuzaki Kentaro, Sugimoto Naotoshi, Tanabe Yoko, Hara Toshiko, Katakura Masanori, Miyamoto Mayumi, Shido Osamu
2. 発表標題 Effects of long-term dark chocolate intake on cognitive function in healthy young subjects.
3. 学会等名 Europhysiology 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sumiyoshi Eri, Matsuzaki Kentaro, Sugimoto Naotoshi, Tanabe Yoko, Hara Toshiko, Katakura Masanori, Miyamoto Mayumi, Mishima Seiji, Shido Osamu
2. 発表標題 Possible improvement of cognitive function by long-term dark chocolate ingestion in young subjects
3. 学会等名 The 96th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------