

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19737

研究課題名(和文)なぜ高脂肪食摂取により認知機能が低下するのか？

研究課題名(英文)Why does high-fat diet induce decline in cognitive function?

研究代表者

大日向 耕作 (Kousaku, Ohinata)

京都大学・農学研究科・准教授

研究者番号：00361147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：脳は独立性の高い臓器であるが、一方で、末梢環境に少なからず影響を受ける。実際、疫学調査により糖尿病は認知症の危険因子であることが判明し、末梢環境が脳機能に影響を及ぼすことが明らかになっている。そこで、糖尿病を誘発する高脂肪食をマウスに与えたところ、認知機能が低下することが明らかとなった。しかも、絶食時血糖の上昇が認められない短期間の高脂肪食摂取で認知機能が低下することが判明した。さらに、疫学調査から認知機能低下の有意な防御因子であることが判明している牛乳成分に着目し、認知機能の低下を抑制するペプチドを見出した(Nagai et al. FASEB J 2019)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疫学調査により判明した危険因子と防御因子に基づいて認知機能に影響を及ぼす外的要因を検討した。マウスに高脂肪食を1週間与えたところ、海馬依存的な認知機能低下が認められ、さらに、牛乳ペプチドの経口投与により、この機能低下が改善された。したがって、脳機能が末梢環境に強く影響されるとともに、末梢シグナルにより改善することが判明した。認知症予防では、神経細胞死が誘発される前の対策が重要であり、食品から機能分子を日常的に摂取できれば理想的である。したがって、これらの結果は、末梢環境に注目した食による新しい認知症予防の可能性を示しているといえる。加えて、新しい作用機構を解明し基礎科学の発展に寄与した。

研究成果の概要(英文)：The brain is known to be highly independent from the peripheral but is often affected by peripheral environment. Epidemiological studies have revealed that diabetes is a risk factor for dementia, and that the peripheral environment affects brain function. We demonstrated that intake of high-fat diet, which induces diabetes, declined cognitive function in mice, even after short-term administration.

It is important to prevent dementia before the induction of nerve cell death. It might be ideal if functional molecules to prevent dementia can be taken as general foods. We then focused on components of milk, which was reported to be a protective factor for cognitive decline from an epidemiological study, and found milk peptides to suppress cognitive decline induced by high-fat diet intake.

研究分野：食品生理機能学

キーワード：認知機能 脳 海馬 神経新生 ペプチド 糖尿病 認知症 神経疾患

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳は体全体の2%の体積であるにも関わらず、全エネルギーの1/4を使用するとされ、末梢に強い負荷を強い利己的な臓器であるといえる。このことが精緻な情報処理を可能にし、ヒトを他の動物から差別化しているものと推察される。また、脳は血液脳関門(BBB)が存在し独立性の強い臓器として知られるが、一方で、末梢環境の影響も少なからず受け、脆弱性も垣間見ることができる。例えば、わずか3日間の亜鉛欠乏食で食欲調節に異常が認められる(Ohinata K et al., J Nutr., 2009)。また、通常食では摂食促進作用を示す緑葉ペプチドは、1週間の高脂肪食摂取により、逆に摂食抑制作用を示す(Kaneko K et al., Am J Physiol., 2014)。すなわち、脳は短期間であっても摂取する食の影響を強く受けると考えられる。

2. 研究の目的

海馬は短期記憶に関する脳部位として知られる。従来、胎生期から幼年期において認められる神経新生は成体期では起こらないとされていたが、海馬歯状回では生涯を通じて新しくニューロンが生成していることが判明した。高脂肪食摂取により海馬神経新生が低下するとともに認知機能が低下することが報告されているが、高脂肪食の長期投与により得られた実験結果であり、その低下の過程の詳細は不明であった。

そこで、我々は、ラードを主成分とする高脂肪食で短期間飼育した場合に、海馬神経新生と海馬依存的記憶が低下するか否かを検討した。加えて、認知症予防では、神経細胞死が誘発される前の対策が重要であり、予防効果を示す機能分子を安全性の高い食品から日常的に摂取できれば理想的である。そこで本研究では、久山町研究から認知機能低下の有意な防御因子であることが判明した牛乳から、認知機能の低下を抑制する機能分子を探索した。

3. 研究の方法

(1)

雄性マウスに普通食(D12450J、10 kcal%脂質、リサーチダイエツト社)と高脂肪食(D12492、60 kcal%脂質)を自由摂取させ、行動試験により認知機能を評価した。海馬に依存する記憶の評価系として知られる物体認識試験(Object recognition test, ORT)と位置認識試験(Object location test, OLT)を用いた。なお、牛乳由来ペプチド投与群には、消化管を想定した酵素条件で効率的に生成することが判明しているトリペプチドYLG(10 mg/kg/day)を経口投与した。

A. 物体認識試験 (Object recognition test, ORT)

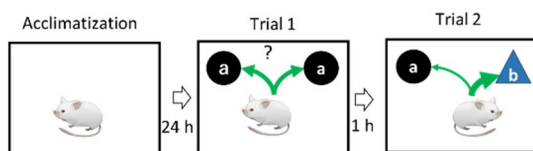
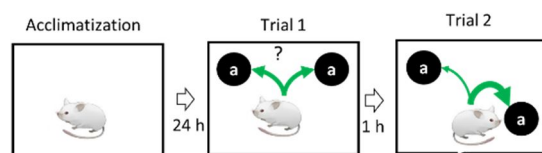


図1. 物体認識試験 (ORT) (A)と位置認識試験 (OLT) (B)。A、マウスを箱に入れ、馴化する。その24時間後に、箱の中に、同じ物体を二つ入れマウスに認識させ (trial 1)、さらに1時間後、aを新奇物体bに変えると (trial 2)、通常はbに対するアプローチが増加する。一方、認知機能が低下するとbに対するアプローチ時間が低下する。アプローチ時間の割合で認知機能低下を評価することができる。B、ORTと同様の行動試験であるが、trial 2でaの位置を変える。通常は位置を変えたaに対するアプローチ時間が増加する。資料[1]を編集し転載。

B. 位置認識試験 (Object location test, OLT)



海馬神経新生は5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)の取り込みで評価した。BrdU投与24時間後に麻醉下にて4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し脳サンプルを得た。抗BrdU抗体を用いて免疫染色し海馬のBrdU陽性細胞を顕微鏡下でカウントした。

4. 研究成果

(1) 高脂肪食と認知機能

雄性マウスに高脂肪食を4週間摂取させ糖尿病モデル動物を作成した。ORTを実施したところ、高脂肪食摂取により新規物体へのアプローチ時間の割合が低下し海馬依存的な認知機能低下が認められた。4週間の高脂肪食摂取では体重や脂肪重量が増加し血糖値が上昇することから、既に糖尿病の病態を呈しているといえる。したがって、食餌誘発肥満(Diet-induced obesity, DIO)による糖尿病により認知機能の低下が認められることを *in vivo* 評価系で確認した。

(2) 短期間の高脂肪食摂取による認知機能低下の発見

次に、成体マウスを用いて、短期間の高脂肪食摂取の認知機能に及ぼす影響を検討した。高脂肪

食を1週間与え認知機能を ORT と OLT で評価した。ORT では、新奇物体へのアプローチ時間の割合が低下し、また、OLT では、新しい場所に置いた物体へのアプローチ時間の割合が低下した(図2)。したがって、一週間の高脂肪食摂取により認知機能が低下することが判明した。高脂肪食群の絶食時血糖は、普通食群と比較し有意な変化は認められず、明らかな高血糖状態ではない。このような発症の初期状態ですでに認知機能が低下していることが明らかとなった。

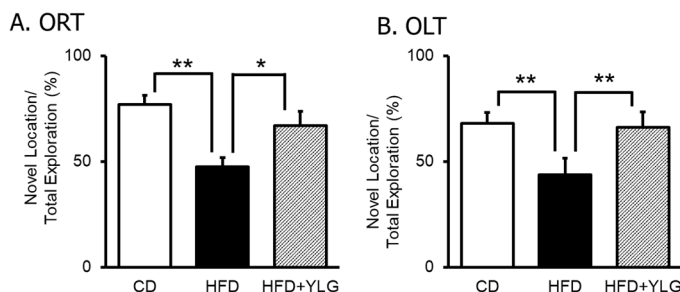


図2. 高脂肪食摂取と牛乳由来ペプチドの認知機能に及ぼす影響。ORT および OLT などの行動試験により認知機能を評価した。いずれの評価系においても、高脂肪食摂取による認知機能低下が認められ、牛乳由来ペプチド YLG は低下した認知機能を改善した。参考文献[2]に基づき修正し転載。

(3) 牛乳ペプチドの認知機能改善作用

疫学調査に基づき、認知機能低下の有意な防御因子であることが判明している牛乳成分に着目した。Tyr-Leu-Gly(YLG)は、牛乳の主要なタンパク質、カゼイン由来のトリペプチドであり、消化管内で効率的に生成すると考えられる(FASEB J 2013)。本研究では、この YLG の経口投与が、高脂肪食摂取による認知機能の低下を抑制するか否かを検討した。その結果、ORT および OLT のいずれの行動試験においても、YLG (10 mg/kg/day) の経口投与により、対象となる物体へのアプローチ時間の割合が増加することが明らかとなった(図2)。したがって、YLG は高脂肪食摂取により低下した認知機能を改善することが判明した。

(4) 認知機能改善メカニズムの解明

記憶に重要な海馬の神経新生に及ぼす影響を検討した。高脂肪食群では、普通食群と比較して、BrdU 陽性細胞数が低下し、認知機能が低下するとともに、神経新生が低下するものと考えられた。さらに、海馬における種々の神経栄養因子の mRNA 発現量を測定したところ、NGF(nerve growth factor) や GDNF(glial cell line-derived growth factor)などの mRNA 発現が低下した。この結果は、高脂肪食摂取により神経新生が低下する結果と一致している。

さらに、YLG 投与の影響を検討した。高脂肪食摂取により低下した BrdU の取り込みは、YLG 投与により顕著に増加し、普通食と同じレベルにまで回復することを見出した。加えて、YLG 投与により NGF や CNTF(ciliary neurotropic factor) などの神経栄養因子の発現が上昇することが明らかとなった。したがって、海馬における神経栄養因子の mRNA 発現の変動は、神経新生と一致する結果が得られたといえる。

最後に、糖代謝に及ぼす影響を検討した。1週間という短期間の高脂肪食摂取では絶食時血糖は変化しない。しかしながら、耐糖能の低下が認知機能の低下につながるという報告があることから、グルコース負荷試験を実施した。その結果、高脂肪食摂取により血糖値が上昇し、耐糖能が低下していることが明らかとなった。したがって、高脂肪食を与えてから 1 週間では、絶食時血糖は正常であるが、耐糖能低下が観察され、糖尿病発症の初期状態であることが明らかとなった。また、牛乳ペプチド YLG の投与により、低下した耐糖能の一部が改善した。さらに、インスリン負荷試験を実施したところ、YLG 投与によりインスリンの血糖低下作用が増強された。したがって、YLG にはインスリン感受性を改善する作用があることが判明した。このインスリン感受性の改善が認知機能の改善に寄与している可能性がある。

以上、短期間の高脂肪食摂取により認知機能が低下する一方、牛乳ペプチドの経口投与により認知機能低下が改善することを見出した。

参考資料

- [1] 大日向、食による新しい脳機能改善戦略、FoodStyle21、2020
- [2] Nagai A et al. Orally administered milk-derived tripeptide improved cognitive decline in mice fed a high-fat diet. FASEB J 2019

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Nagai A, Mizushige T, Matsumura S, Inoue K, Ohinata K | 4. 巻 33(12) |
| 2. 論文標題 Orally administered milk-derived tripeptide improved cognitive decline in mice fed a high-fat diet. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 FASEB J | 6. 最初と最後の頁 14095-14102 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.201900621R | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 大日向耕作 |
| 2. 発表標題 末梢からのシグナルに着目した脳機能調節ペプチドの探索と作用機構 |
| 3. 学会等名 ヒト介入試験を活用した食による健康長寿の増進に関するプラットフォーム合同研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大日向耕作 |
| 2. 発表標題 超高齢社会に挑む食の生理化学 -新しい記憶低下改善および動脈弛緩ペプチドの発見- |
| 3. 学会等名 生理化学ユニット第8回シンポジウム（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 大日向耕作 |
| 2. 発表標題 末梢-中枢相互作用の解明による新しい脳機能改善戦略 |
| 3. 学会等名 日本農芸化学会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大日向耕作 |
| 2. 発表標題 ペプチドハンティング ～多彩な機能性を示す食品由来ペプチドの発見とそのメカニズム～ |
| 3. 学会等名 第3回生活習慣病予防研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大日向耕作 |
| 2. 発表標題 神経系と食品成分の相互作用～食品由来の新しい情動調節ペプチド～ |
| 3. 学会等名 日本食品科学工学会関西支部大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 古川太一、永井研迅、水重貴文、松村成暢、井上和生、大日向耕作 |
| 2. 発表標題 高脂肪食摂取による認知機能低下に対する 牛乳由来ペプチドの改善作用 |
| 3. 学会等名 日本アミノ酸学会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|-------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 大日向耕作 | 4. 発行年 2020年 |
| 2. 出版社 Food Style 21 | 5. 総ページ数 4 |
| 3. 書名 食による新しい脳機能改善戦略 | |

〔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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|