

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 5月 12日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580160

研究課題名（和文）ビタミンEの不安制御機能の解明

研究課題名（英文）Mechanism of the anxiolytic effect of dietary vitamin E.

研究代表者

竹中 麻子（TAKENAKA ASAKO）

明治大学・農学部・准教授

研究者番号：40231401

研究成果の概要（和文）：ビタミンEによる不安行動制御機構の解析と、ビタミンE摂取による不安抑制効果の検討を行った。一連の結果から、ビタミンE欠乏により酸化ストレスが増加して脳内の神経伝達が阻害され、これが副腎からのグルココルチコイド分泌を増加させることで、不安行動が増加する可能性を示した。さらに、ビタミンEを通常より多く摂取することにより、不安行動を軽減できる可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：Mechanism of the anxiolytic effect of dietary vitamin E was investigated. The results demonstrated that elevated oxidative stress disturbed the neurotransmission in the brain and increased glucocorticoid secretion from adrenal under stress, that may cause increased anxiety-like behavior. The results also showed that excess intake of dietary vitamin E could suppress anxiety-like behavior of rats.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：栄養生化学

## 1. 研究開始当初の背景

申請者らは、抗酸化食品成分の摂取による生体内酸化ストレス制御がどのような生体調節機能をもつかについて研究を行ってきた。特に本研究で研究対象とするビタミンEは、われわれにとって最も重要な食品中の抗酸化成分であり、欠乏により不妊や運動失調などの欠乏症を生じることが古くから知られている。近年になって、ビタミンE輸送に関わる遺伝子を欠失したマウ

ス（ビタミンE欠乏状態になる）で不安行動が増加することが報告された[Free Radical Biology and Medicine, 35, 11343-1354, 2003.、The FASEB Journal, 19, 296-297, 2005.]。これらのマウスは生来ビタミンE欠乏であることに加え、不安行動の増加は長期間（数ヶ月～1年）のビタミンE欠乏の後に観察されたものであった。しかし、もし食餌から摂取するビタミンEの欠乏によっても過度な不安が生じるとすると、栄養バランス

の悪化が不安障害の要因となる可能性がある。そこで申請者らは食餌由来のビタミン E の欠乏が不安行動を引き起こすかを検討し、顕著な不安行動の増加がラットで観察されることを初めて明らかにした [J. Clin. Biochem. Nutr., 43S1: 445-448, 2008.]。さらに、ビタミン E 欠乏期間が 2 週間の軽微な欠乏状態でも不安行動が増加すること、またビタミン E 欠乏が起こりにくいとされる成熟ラットへのビタミン E 欠乏食の給餌でも短期間でラットの不安行動が増加することも見いだした。一連の結果は、ビタミン E 欠乏食の摂取によって、他の欠乏症状よりはるかに早く、不安行動の増加という症状が現れることを示していた。さらに興味深いことに、個別飼育による社会ストレス下で不安行動が増加したラットにビタミン E を与えると、不安行動が抑制されることも明らかとなった。個々のラットの不安行動指標と血中や脳内のビタミン E 濃度が相関するというデータも併せ、申請者はビタミン E 摂取で不安行動を抑制できるとの着想を持つに至った。特定の原因がない不安が持続する全般性不安障害は日本でも約 6% の人が経験すると言われており、食品成分であるビタミン E による不安制御は社会的要請の高い研究テーマである。

不安の発生には  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) 神経系やセロトニン神経系が関与することが知られており、一般的に GABA 作動薬やセロトニン作用薬が不安障害の治療に用いられている。しかしながら、不安障害を引き起こす要因とメカニズムが詳細に明らかにされた事例は少なく、不安誘発機構の全体像は未解明な部分が多い。一方、ビタミン E は抗酸化作用を有する物質であるため、不安行動はビタミン E 不足による酸化ストレスレベルの上昇にตอบสนองして増加するのではないかと考えられる。ビタミン E 摂取が神経細胞を酸化障害から保護する [Molecular Aspects of Medicine, 28: 591-606, 2007] 等の近年の報告は、脳に到達したビタミン E が不安制御に関わる神経細胞の機能維持に寄与する可能性を示している。

## 2. 研究の目的

こうした背景のもと、本研究では食餌から摂取するビタミン E が不安行動を制御する機構を解明することを目的とする。特にビタミン E の有する抗酸化作用が不安制御にどのように寄与するかについて、焦点をあて研究を推進する。

まず、ビタミン E が不安行動を制御するメカニズムの解析を行なう。これまでに提案されている不安制御機構の中で、①ストレスホルモンレベルの変化、②不安制御に関与する神経系、

③脳内の不安行動に関わる遺伝子発現量の変化、について検討を行う。さらに、ビタミン E の不安制御作用が抗酸化作用によるものかどうかを検討する目的で、不安モデル動物の脳内の酸化ストレス状態の解析や、酸化ストレスレベルと不安行動抑制効果を解析する。次に、さまざまな不安モデル動物を用い、不安症状がビタミン E の経口摂取でどの程度軽減できるのかを検討する。

## 3. 研究の方法

(1) ビタミン E 欠乏により不安行動が増加する機構の解析

①不安行動増加に要するビタミン E 欠乏期間 通常食あるいはビタミン E 欠乏食を種々の期間 (3日~4週間) ラットに給餌し、高架型十字迷路試験により不安行動を評価した。

②不安行動への神経伝達系の関与

ビタミン E 欠乏食をラットに 4 週間給餌し、GABA あるいはセロトニン作動性抗不安薬の投与による不安行動への影響を評価した。

③不安行動への内分泌系 (グルココルチコイド) の関与

グルココルチコイドの分泌期間である副腎を除去したラットにビタミン E 欠乏食を 4 週間給餌し、不安行動が増加するかどうかを検討した。さらに、副腎除去ラットに通常食およびビタミン E 欠乏食を 4 週間給仕し、グルココルチコイドの注射による投与で生じる不安行動量に違いがあるかどうかを検討した。

④酸化ストレスの関与

アスコルビン酸合成能欠如ラット (ODS ラット) をビタミン C 添加食あるいはビタミン C 欠乏食を与えて離乳期から飼育し、不安行動解析を行った。また、通常ラットに抗酸化物質である  $\alpha$ -リポ酸を含む飼料を与えて不安行動への影響を評価した。

⑤不安行動増加に関わる遺伝子発現変動

通常食あるいはビタミン E 欠乏食を種々の期間 4 週間ラットに給餌し、マイクロアレイ解析により脳内の遺伝子発現量の変化を網羅的に解析した。

⑥メスラットの不安行動への影響

性成熟後のメスラットに通常食あるいはビタミン E 欠乏食を 4 週間給餌し、不安行動を評価した。

(2) ビタミン E の不安抑制作用の解析

#### ①ビタミンC欠乏ラットに対する作用

アスコルビン酸合成能欠如ラット (ODSラット) をビタミンC添加食あるいはビタミンC欠乏食、ビタミンC欠乏食に通常食の50倍量のビタミンEを含む食餌を与えて離乳期から飼育し、不安行動解析を行った。

#### ②早期離乳モデルラットに対する作用

離乳期 (生後4週間) まで親と同居させる対照群に対し、生後16日齢で親から隔離する早期離乳群を設定した。早期離乳群に通常食あるいは通常食の50倍量のビタミンEを含む食餌を与えて離乳期から飼育し、不安行動解析を行った。

#### ③通常ラットに対する作用

Wistar系雄ラットにビタミンE欠乏食、通常食、あるいは通常食の50倍量のビタミンEを含む食餌を与えて離乳期から飼育し、不安行動解析を行った。

### 4. 研究成果

(1) ビタミンE欠乏により不安行動が増加する機構の解析

#### ①不安行動増加に要するビタミンE欠乏期間

3日間のビタミンE欠乏食摂取で体内ビタミンE濃度が有意に低下したが、不安行動は増加しなかった。7日間の欠乏食摂取で不安を示す行動指標 (stretch-out, head dipping) が変化し、14日間の欠乏で迷路上のopen armでの活動量が有意に低下した。したがって、ビタミンE欠乏による不安行動は、体内ビタミンE濃度の低下から1~2週間かけて徐々に増加することが明らかとなった。

#### ②不安行動への神経伝達系の関与

GABA、セロトニン作動性抗不安薬の投与はいずれも不安行動を抑制した。ビタミンE欠乏による不安行動増加にはこれらの神経伝達が関与する可能性を示した。

#### ③不安行動への内分泌系 (グルココルチコイド) の関与

副腎除去によってビタミンE欠乏時の不安行動は見られなくなった。一方人為的に投与したグルココルチコイドに反応した不安行動の増加はビタミンE欠乏の影響を受けなかった。この結果から、ビタミンE欠乏による不安行動の増加には副腎からのグルココルチコイド分泌の増加が重要であることを明らかにした。

#### ④酸化ストレスの関与

7日間のビタミンC欠乏でも不安行動が増加した。また、抗酸化物質である $\alpha$ -リポ酸は通常飼育時のラットの不安行動を一部の行動指標で抑制した。酸化ストレスの増加や抑制が不安行動の増減を引き起こす可能性を示した。

#### ⑤不安行動増加に関わる遺伝子発現変動

複数の動物実験で繰り返し検討した結果、ビタミンE欠乏によって再現性良く発現変動する遺伝子はみとめられなかった。

#### ⑥メスラットの不安行動への影響

メスラットではビタミンE欠乏により不安行動が増加しなかった。メスではオスと比較して脳内ビタミンE濃度の低下が起こりにくい可能性を示した。

### (2) ビタミンEの不安抑制作用の解析

#### ①ビタミンC欠乏ラットに対する作用

ビタミンE ( $\alpha$ -トコフェロール) には、ビタミンC欠乏による不安行動を抑制する作用がみとめられた。

#### ②早期離乳モデルラットに対する作用

ビタミンE ( $\alpha$ -トコフェロール) には、早期離乳による不安行動を抑制する作用はみとめられなかった。

#### ③通常ラットに対する作用

ビタミンE添加食の摂取は、通常飼育下のWistar系雄ラットの不安行動を低下させる作用があった。

①~③の結果より、ビタミンEには不安抑制作用がある可能性を示した。しかし、不安行動の発症要因によって有効性が異なると考えられた。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

①Terada Y., Okura Y., Kikusui T., and Takenaka A. (2011) Dietary Vitamin E Deficiency Increases Anxiety-Like Behavior in Juvenile and Adult Rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75**, 1894-1899.

②Kimura K., Katsumata Y., Ozawa T., Tawara S., Igarashi K., Cho Y., Shibata N., Hakuno F., Takahashi S.-I., and Takenaka A. (2010) Effect of paraquat-induced oxidative stress on insulin regulation of insulin-like growth factor-binding

protein-1 gene expression. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **46**, 157-167.

- ③ Okura Y., Tawara S, Kikusui T., and Takenaka A. (2009) Dietary vitamin E deficiency increases anxiety-related behavior in rats under stress of social isolation. *BioFactors*, **35**, 273-278.
- ④ Takenaka A (2009) Vitamin E deficiency indreases anxiety-related behavior in rodents. *Vitamins*, **83**, 477-478.
- ⑤ 竹中麻子 (2010) 栄養摂取と動物の情動行動 化学と生物 48(4)、224-225.
- ⑥ 寺田裕紀、大橋広弥、橋本理恵子、野村征司、竹中麻子 (2010) ビタミンE欠乏が不安行動におよぼす影響、ビタミンE研究の進歩 XIV、63-66.

[学会発表] (計 30 件)

- ① 寺田裕紀、野村征司、菊水健史、加藤久典、趙 治磊、斉藤憲司、竹中麻子 「ビタミンE欠乏食摂取がラットの不安様行動に及ぼす影響」 2009年 日本栄養・食糧学会大会
- ② 竹中麻子 「ビタミン研究に関する最近の話題-ビタミンE欠乏と動物の不安行動-(シンポジウム)」 2009年 日本栄養・食糧学会関東支部シンポジウム
- ③ 寺田裕紀、大橋広弥、橋本理恵子、菊水健史、竹中麻子 「ビタミンE欠乏がラットの不安行動におよぼす影響」 2010年 ビタミンE研究会(日本ビタミン学会専門研究会)
- ④ 大橋広弥、寺田裕紀、橋本理恵子、菊水健史、竹中麻子 「ビタミンE欠乏食摂取がラットの不安行動に及ぼす影響」 2010年 日本農芸化学学会大会
- ⑤ 竹中麻子、菊水健史 「ビタミンE欠乏と不安行動(シンポジウム)」 2010年 日本農芸化学学会大会
- ⑥ 寺田裕紀、菊水健史、大橋広弥、橋本理恵子、竹中麻子 「ビタミンE欠乏食摂取がラットの不安行動に及ぼす影響の解析」 2010年 日本栄養・食糧学会大会
- ⑦ 竹中麻子 「ビタミンE欠乏と不安行動(シンポジウム)」 2010年 日本栄養・食糧学会大会
- ⑧ 竹中麻子 「ビタミンE欠乏と動物の不安行動」 2010年 第13回Vitamin E Update Forum
- ⑨ 竹中麻子 「IGF-I その多彩な役割: 成長を司るホルモン、インスリン様成長因子I (シンポジウム)」 2011年 第20回臨床内分泌代謝 Update
- ⑩ 寺田裕紀、菊水健史、竹中麻子 「ビタミンE欠乏食摂取がラットの不安様行動におよぼす影響」 2011年 ビタミンE研究会(日本ビ

タミン学会専門研究会)

- ⑪ 原菜津美、依包智行、佐藤道夫、竹中麻子 「 $\alpha$ -トコフェロール輸送タンパク質の細胞内局在の観察」 2011年 日本農芸化学学会大会
- ⑫ 松本康志、寺田裕紀、竹中麻子 「抗不安薬がビタミンE欠乏時の不安行動に与える影響の解析」 2011年 日本農芸化学学会大会
- ⑬ 寺田裕紀、菊水健史、竹中麻子 「ビタミンE再摂取がビタミンE欠乏時の不安行動に及ぼす影響」 2011年 日本農芸化学学会大会
- ⑭ 藤田尚子、岩城彩香、原菜津美、竹中麻子 「 $\alpha$ -トコフェロールがシトクロム P450 遺伝子発現に与える影響」 2011年 日本栄養・食糧学会大会
- ⑮ 橋本理恵子、寺田裕紀、竹中麻子 「アスコルビン酸欠乏がラットの不安行動に及ぼす影響」 2011年 日本栄養・食糧学会大会
- ⑯ 依包智行、原菜津美、矢崎麻友美、佐藤道夫、竹中麻子 「免疫電顕による $\alpha$ -TTPの肝細胞内局在の解析」 2012年 ビタミンE研究会(日本ビタミン学会専門研究会)
- ⑰ 橋本理恵子、大谷裕貴、徳永香南子、竹中麻子 「摂取ビタミンE量の違いがラットの不安行動に及ぼす影響の解析」 2012年 ビタミンE研究会(日本ビタミン学会専門研究会)
- ⑱ 橋本理恵子、寺田裕紀、竹中麻子 「アスコルビン酸欠乏がラットの不安行動に及ぼす影響」 2012年 日本農芸化学学会大会

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

竹中 麻子 (TAKENAKA ASAKO)  
明治大学・農学部・教授  
研究者番号: 40231401

### (3) 連携研究者

菊水健史 (KIKUSUI TAKEFUMI)  
麻布大学・獣医学部・教授  
研究者番号: 90302596