

## 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 6月 8日現在

機関番号：24201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22780123

研究課題名（和文）アミノ酸摂取によるトリプトファン代謝制御を介したドーパミン機能調節

研究課題名（英文）Regulation of dopamine function by amino acid intake via modulation of tryptophan metabolism

研究代表者

福渡 努（FUKUWATARI TSUTOMU）

滋賀県立大学 人間文化学部・准教授

研究者番号：50295630

研究成果の概要（和文）：食事によって高次脳機能を維持するための知見を得ることを目的とした。組織レベル、動物実験により、分岐鎖アミノ酸であるロイシンとイソロイシンの摂取によって脳におけるトリプトファン代謝産物キヌレン酸の産生が抑制され、神経伝達物質ドーパミンの放出が亢進することを見出した。この結果は、食事を介してキヌレン酸産生を調節することによってドーパミン放出を正常な範囲に調整できる可能性を示すものである。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to obtain findings for maintain brain function by diet. *In vivo* and *in vitro*, intake of branched chain amino acids, leucine or isoleucine suppressed production of tryptophan metabolite kynurenic acid, and enhanced release of neurotransmitter dopamine in rat brain. These results suggest that dietary manipulation of kynurenic production can modulate dopamine release in normal range.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

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：栄養学，脳・神経，食品

## 1. 研究開始当初の背景

キヌレン酸はトリプトファン異化代謝経路であるキヌレニン経路の代謝産物の一つであり、近年、脳神経科学者の注目を集めている化合物である。というのは、キヌレン酸は生理的濃度で  $\alpha 7$  ニコチン作動性アセチルコリン受容体 ( $\alpha 7nAChR$ ) のアンタゴニストとして作用し、キヌレン酸濃度の増減によって神経伝達物質の放出、高次脳機能が影響を受けることが明となったためである。さらには、アルツハイマー病および統合失調症患者の脳におけるキヌレン酸濃度が高いことが

報告されている。このように、キヌレン酸と脳神経系疾患との関与が示唆されることから、キヌレン酸代謝異常が脳神経系疾患を誘発するというキヌレン酸仮説が提唱されている。したがって、キヌレン酸代謝を正常に保つことによって、脳環境を適切に維持できる可能性が考えられる。

我々は、これまでに食品栄養学的見地からアミノ酸摂取による脳内キヌレン酸産生調節の可能性について検討してきた。その結果、高トリプトファン食の摂取がキヌレン酸濃度の増加およびドーパミン放出の低下を招

くことを明らかにした。さらには、高リジン食の摂取がリジン代謝産物 $\alpha$ アミノアジピン酸産生を介することによってキヌレン酸産生増大とドーパミン代謝回転低下を抑制することを明らかにした。

キヌレン酸の産生を抑制する作用点として、血中からアストロサイトへのキヌレニンの取込み、キヌレニンからキヌレン酸への合成反応が挙げられる。本研究では、アストロサイトへのキヌレニンの取込みに着目した。キヌレニンは中性アミノ酸輸送体によってアストロサイトへ取込まれる。中性アミノ酸輸送体は分岐鎖アミノ酸も基質とするため、分岐鎖アミノ酸の摂取によって血中分岐鎖アミノ酸濃度が高まることにより、キヌレニンの取込みを競合阻害し、キヌレン酸産生を抑制する可能性が考えられる。

## 2. 研究の目的

分岐鎖アミノ酸およびリジンの摂取がキヌレン酸産生を介したドーパミン機能におよぼす影響とその機構について明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 動物飼育

本実験は滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた。飼育室の温度は22°C前後、湿度は50%前後に維持し、明暗サイクルは、午前6時～午後6時を明、午後6時～午前6時を暗とした。

動物実験には Wistar 系雄ラットを用いた。7週齢のラットに20%カゼイン食を7日間与えて予備飼育したのち、1%トリプトファン・3%分岐鎖アミノ酸添加食を与えて7日間飼育した。分岐鎖アミノ酸としてバリン、ロイシン、イソロイシンのいずれかを添加した。ロイシンとリジンの相乗効果の有無について検討した実験では、3%ロイシン、3%リシンのいずれか、あるいは両方を添加した食餌をラットに与えて7日間飼育した後、さらに1%トリプトファンを添加した食餌を1日間与えた。いずれの実験においても、飼育終了後にラットを屠殺し、脳と肝臓を摘出し、採血した。摘出した脳から大脳皮質あるいは線条体を摘出した。

### (2) 組織切片を用いた *in vitro* 実験

Wistar 系8週齢雄ラットから大脳皮質を摘出し、ティッシュチョッパーで1mm角の組織切片を作製した。2 $\mu$ mol/Lキヌレニンおよび10 $\mu$ mol/L～3mmol/Lのバリン、ロイシン、イソロイシンのいずれかを含まるリングル緩衝液中でこの組織切片を2時間培養した。培養後、リングル緩衝液を回収し、キヌレン酸の定量に用いた。また、組織切片を回収し、キヌレニンの定量に用いた。

### (3) 分析

キヌレン酸は HPLC-蛍光検出法により、キヌレニンは HPLC-UV 検出法により、ドーパミン、ドーパミン代謝産物である3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸 (DOPAC) とホモバニリン酸 (HVA) は HPLC-電気化学検出法により測定した。DOPAC と HVA の合計に対するドーパミンの比をドーパミン代謝産物/ドーパミン比とした。

## 4. 研究成果

### (1) 組織切片における分岐鎖アミノ酸がキヌレン酸産生におよぼす影響

大脳皮質切片を用いた *in vitro* 実験により、分岐鎖アミノ酸がキヌレニン取込みおよびキヌレン酸産生におよぼす影響について検討した。バリン、ロイシン、イソロイシンといったいずれの分岐鎖アミノ酸によっても組織中のキヌレニン濃度および緩衝液中のキヌレン酸量が減少した (図1)。特に、ロイシンとイソロイシンには30 $\mu$ mol/L以上で阻害作用が認められた。キヌレニン取込みに対する IC<sub>50</sub> 値は、バリンでは1.2mmol/L、ロイシンでは0.14mmol/L、イソロイシンでは0.25mmol/Lであった。キヌレン酸産生量に対する IC<sub>50</sub> 値は、バリンでは3mmol/L以上、ロイシンでは0.11mmol/L、イソロイシンでは0.27mmol/Lであった。以上の結果は、分岐鎖アミノ酸、特にロイシンとイソロイシンはアストロサイトへのキヌレニン取込みを抑制し、それによってキヌレン酸産生抑制作用を持つことが示唆された。また、ラット血清における各分岐鎖アミノ酸濃度は0.1mmol/L程度であることから、ロイシンとイソロイシンは生理的濃度において部分的にキヌレニン取込みを抑制することが示唆された。

### (2) 分岐鎖アミノ酸の摂取がキヌレン酸産生におよぼす影響

8週齢のラットにバリン、ロイシン、イソロイシンのいずれかを添加したトリプトファン添加食を与え、トリプトファン添加による脳キヌレン酸含量および脳キヌレン酸産生におよぼす分岐鎖アミノ酸摂取の影響について検討した。大脳皮質のキヌレニン濃度の増加はいずれの分岐鎖アミノ酸添加食によっても1.8倍に抑制され、キヌレン酸濃度の増加はロイシンおよびイソロイシン添加食によって1.3倍に抑制された。バリン添加食によるキヌレン酸濃度の増加抑制は認められなかった (図2)。血清キヌレニン濃度は分岐鎖アミノ酸摂取の影響を受けなかった。以上の結果は、高ロイシン食、高イソロイシン食の摂取によって脳へのキヌレニン取込みが抑制され、そのためにキヌレン酸産生量が低下したことを示唆している。

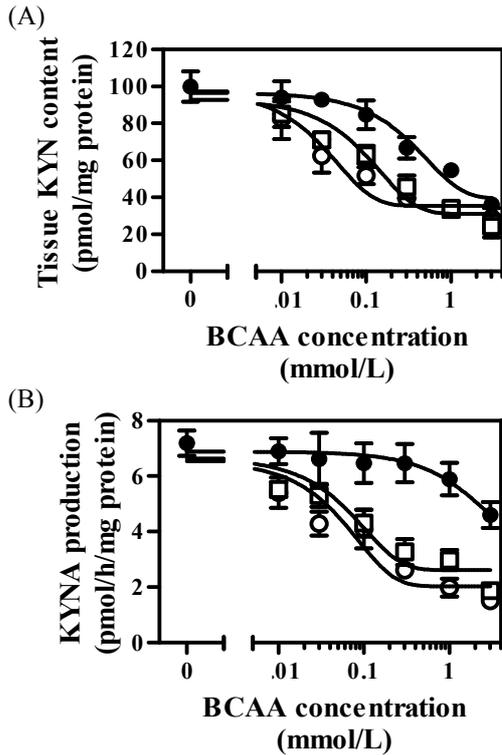


図1 組織切片における分岐鎖アミノ酸が組織キヌレニン濃度 (A) およびキヌレニン産生量 (B) におよぼす影響。値は平均 ± 標準誤差 (n=3) として示した。●: バリン, ○: ロイシン, □: イソロイシンとして示した。

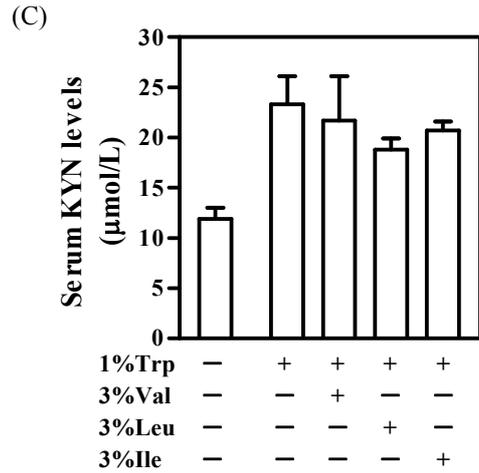
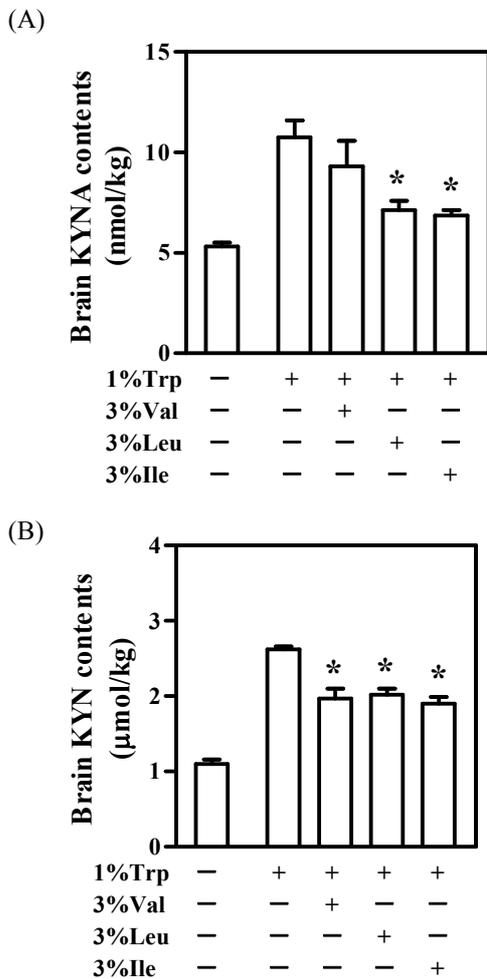
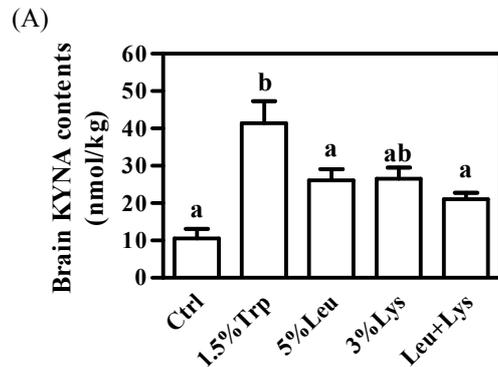


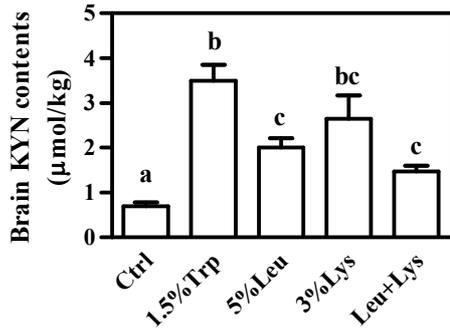
図2 高分岐鎖アミノ酸食の摂取が脳キヌレニン濃度 (A), 脳キヌレニン濃度 (B) および血清キヌレニン濃度 (C) におよぼす影響。値は平均 ± 標準誤差 (n=5) として示した。Student *t* 検定により, \*は  $p < 0.05$  でトリプトファン添加食に対して有意差があることを示す。

(3) 分岐鎖アミノ酸とリジンの同時摂取がキヌレニン産生におよぼす影響

8 週齢のラットにロイシンとリジンを添加したトリプトファン添加食を与え, 脳キヌレニン産生抑制作用をもつロイシンとリジンの相乗効果について検討した。ロイシン・リシン同時投与により, 単独投与よりも脳におけるキヌレニン濃度の上昇およびドーパミン代謝回転の低下が抑制された (図3)。脳キヌレニン濃度の上昇抑制はリシン単独投与では認められず, ロイシン単独投与およびロイシン・リシン同時投与によって認められた。以上の結果より, ロイシン摂取によって脳へのキヌレニン取込みが抑制され, リシン摂取によってキヌレニンからキヌレニン酸への生合成反応が抑制されたために, 相乗効果が表れたことが示唆された。



(B)



(C)

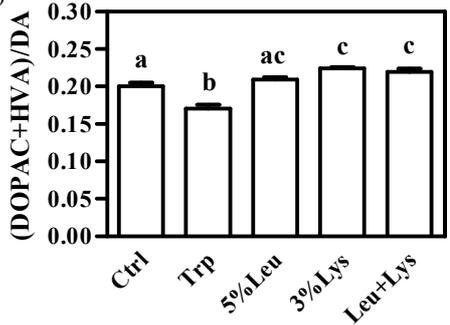


図3 ロイシンとリジンの同時摂取が脳キヌレン酸濃度 (A), 脳キヌレニン濃度 (B) およびドーパミンドーパミン代謝産物比 (C) におよぼす影響.

値は平均 ± 標準誤差 (n=5) として示した。一元配置分散分析および Tukey-Kramer 多重比較検定により, 異なるアルファベット間では有意差 ( $p < 0.05$ )があることを示す。

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

① 福渡努, 丸山明子, 東山沙織, 佐野光枝, 柴田克己. ラット脳における分岐鎖アミノ酸によるトリプトファン代謝産物キヌレン酸産生抑制. 第66回日本栄養・食糧学会大会. 平成24年5月20日. 東北大学(宮城県仙台市).

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:  
 発明者:  
 権利者:  
 種類:  
 番号:  
 出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:  
 発明者:  
 権利者:  
 種類:  
 番号:  
 取得年月日:  
 国内外の別:

[その他]  
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福渡 努 (FUKUWATARI TSUTOMU)  
 滋賀県立大学・人間文化学部・准教授  
 研究者番号: 50295630