

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：33905

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700929

研究課題名(和文) 胎児、乳児の神経新生における多価不飽和脂肪酸の機能

研究課題名(英文) Effect of polyunsaturated fatty acids on neurogenesis of fetus and infancy.

## 研究代表者

宮澤 大介 (MIYAZAWA, Daisuke)

金城学院大学・薬学部・准教授

研究者番号：70434553

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円、(間接経費) 750,000円

研究成果の概要(和文)：神経栄養因子には神経成長因子(NGF)や脳由来神経栄養因子(BDNF)があり、これらは神経の新生、分化、維持に重要な因子である。申請者は出産直後の親マウス(雌)にn-3系脂肪酸制限食を2週間与え、その親の母乳で育てられた仔マウスの脳を大脳皮質、線条体、海馬に分けて摘出した。脂肪酸組成を測定したところ、n-3系脂肪酸制限食群でドコサヘキサエン酸(DHA)量が減少していた。逆にアラキドン酸量が増加していた。n-6/n-3系比はn-3系脂肪酸欠乏食群で有意に増加した。また、領域によってはBDNF量が群間で有意に変化していたが、これは領域によって異なる結果となり、その詳細をさらに検討したい。

研究成果の概要(英文)：Nerve growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF), which are important factors in the neurogenesis, differentiation and maintenance. Postnatal mice were fed n-3 fatty acids restricted diet in two weeks. The cerebral cortex, striatum, hippocampus were collected from pups raised in breast milk of those parents. On fatty acid profile, docosahexaenoic acid (DHA) content was decreased in n-3 fatty acids restricted diet group. Arachidonic acid content was increased conversely. n-6/n-3 system ratio was significantly increased in n-3 fatty acid deficient diet group. Further, BDNF content was significantly altered between the dietary groups by the region, which produces different results depending on regions, it is important to further examine its details.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：必須脂肪酸 神経栄養因子

## 1. 研究開始当初の背景

神経栄養因子は神経の新生、分化、維持に必要であり、神経成長因子 (nerve growth factor, NGF)、脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 等が知られている。必須脂肪酸にはリノール酸 (LA, 18:2n-6)、 $\alpha$ -リノレン酸 (ALA, 18:3n-3) があり、動物体内に取り込まれると、LA はアラキドン酸 (AA, 20:4n-6) に、ALA はエイコサペンタエン酸 (EPA, 20:5n-3)、ドコサヘキサエン酸 (DHA, 22:6n-3) に変換される。

申請者はこれまでにマウスにおいて離乳後 n-3 系列脂肪酸制限 (SAF) 食で PKC 活性 (大脳皮質、線条体)、p38 MAPK 活性 (大脳皮質、線条体、海馬) BDNF 含量 (大脳皮質、線条体) を明らかにした。(Miyazawa D. et al. Life Sci., 2010; Miyazawa D. et al. Biomed. Res., 2011)。行動としても n-3 系脂肪酸欠乏食でラットの学習脳が低下することが明らかとなっている。このように食餌の n-3 系列脂肪酸は脳神経系において重要な役割を担っていることが示唆されている。しかし、脂肪酸の脳機能への作用機序は不明な点も多い。

胎児期、乳児期は脳神経系の重要な形成期であり、この時期は親の食餌の脂肪酸が仔 (子) の発育に影響することが想定されている。n-3 系列脂肪酸が胎児期、乳児期の脳神経系の形成に果たす役割は重要であると考えられる。脂肪酸組成、神経栄養因子量、プロテインキナーゼ活性等に注目して親の食餌脂肪酸が仔の脳機能に及ぼす影響を検討する。

## 2. 研究の目的

胎児期、乳児期は脳神経系の重要な形成期であり、親の摂取した脂肪酸は胎盤や母乳を介して仔の発育に影響し、神経新生を始めとし脳機能に影響を及ぼすと考えられる。本研究では親の摂取する n-3 系、n-6 系脂肪酸の組成を変化させ、仔の脳の脂肪酸組成、神経新生の組織化学評価、神経栄養因子量、各種プロテインキナーゼ活性に注目して乳仔マウスの脳機能における多価不飽和脂肪酸の機能を明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) 動物

普通食 (CE-2) を摂取していた ICR マウスの餌を出産直後に 5% の高 LA ベニバナ油 (SAF, ALA-restricted, LA-adequate) 或いはシソ油 (PER, ALA and LA-adequate) を添加した精製飼料に切り替えこれを 2 週間与え、仔マウスに授乳させた。2 週間後、仔の大脳皮質、線条体、海馬を摘出した。

### (2) 脂肪酸組成

これまでの背景や研究成果をもとに乳仔マウスにおける親の食餌の脂肪酸の影響について検討した。親の食餌は乳児には母乳を

介して仔 (子) に供給される。大脳皮質、海馬、線条体の脂肪酸組成をガスクロマトグラフにより測定した。親の食餌と仔の脳の脂肪酸組成の相関について検討した。

### (3) 神経栄養因子

胎児期や乳児期においても神経栄養因子の量が変化していることが想定される。仔の大脳皮質、海馬、線条体の神経栄養因子量を ELISA 法により定量し、乳児期の親の食餌脂肪酸との関係について検討した。

## 4. 研究成果

(1) 大脳皮質、海馬、線条体の脂肪酸組成を測定 n-3 系脂肪酸制限食群でドコサヘキサエン酸 (DHA, 22:6n-3) が有意に減少していた。また、アラキドン酸量が増加していた。総 n-6 系脂肪酸、総 n-3 系脂肪酸、n-6/n-3 比も親の食餌の脂肪酸組成を反映したものであった。この結果から授乳期の親の食餌脂肪酸が、母乳を介して仔の脳の脂肪酸組成に影響を与えることが明らかとなった。

(2) 大脳皮質、海馬、線条体の BDNF 量を定量したところ、海馬では SAF 食で減少していたが、大脳皮質では増加していた。線条体では差が見られなかった。解析した領域によって異なる結果であった。脳の領域によって食餌脂肪酸に対する反応性が異なることが示唆された。

(3) SAF 食での海馬の BDNF 量の減少はこれまでの結果から親の n-3 系脂肪酸制限食により仔の海馬の DHA が減少したことによるものと考察される。しかし、大脳皮質においては反対に BDNF 量が SAF 食で増加していた。これらのメカニズムについて詳細を解析中である。

## 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 5 件)

Hashimoto Y., Yamada K., Tsushima H., Miyazawa D., Mori M., Nishio K., Ohkubo T., Hibino H., Ohara N., Okuyama H., Three dissimilar high fat diets differentially regulate lipid and glucose metabolism in obesity-resistant Slc:Wistar/ST rats., Lipids, 48 (8), 803-15 (2013). 査読有り。

Yasui Y., Miyazawa D., Ueda H., Sato K., Kitade Y., Yamada K., PMA-induced GCMA phosphorylation stimulates its transcriptional activity and degradation., Biomed. Res., 33 (4), 217-224 (2012). 査読有り。

Kitamori K., Naito H., Tamada H., Kobayashi M., Miyazawa D., Yasui Y., Sonoda K., Tsuchikura S., Yasui N., Ikeda K., Moriya T., Yamori Y.,

Nakajima T., Development of novel rat model for high-fat and high-cholesterol diet-induced steatohepatitis and severe fibrosis progression in SHRSP5/Dmcr., Environ. Health Prev. Med., 17 (3), 173-182 (2012). 査読有り。

Yasui Y., Yamada K., Takahashi S., Sugiura-Ogasawara M., Sato K., Miyazawa D., Sugiyama T., Kitade Y., Ueda H., PMA induces GCMa phosphorylation and alters its stability via the PKC- and ERK-dependent pathway., Biochem. Biophys. Res. Commun., 417 (4), 1127-1132 (2012). 査読有り。

Miyazawa D., Yasui Y., Yamada K., Ohara N., Okuyama H., Biochemical responses to dietary  $\alpha$ -linolenic acid restriction proceed differently among brain regions in mice., Biomed. Res., 32 (4), 237-245 (2011). 査読有り。

〔学会発表〕(計17件)

北森一哉、宮澤大介、内藤久雄、玉田葉月、土倉覚、安井菜穂美、池田克巳、家森幸男、那須民江 非アルコール性脂肪性肝疾患に関する脂肪酸とコレステロールの影響 日本食品化学学会第19回総会・学術大会 2013年8月30日(名古屋); B-12

内藤由紀子、遠恒介、紀旭、馬嘯、立花滋博、安藤栄里子、青木聡子、永田伴子、宮澤大介、岩井直温 DSS誘導ラット大腸炎に対するアラキドン酸補給の影響 日本脂質栄養学会 第21回大会 2012年9月7日(相模原); P-14

立花滋博、鈴木絵梨、西谷清華、斉藤義明、臼見憲司、永田伴子、内藤由紀子、大原直樹、宮澤大介、奥山治美 アラキドン酸摂取が脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)の病態進行に及ぼす影響の検討 日本脂質栄養学会 第21回大会 2012年9月7日(相模原); P-17

山田英里、津島宏美、森(河辺)真由美、宮澤大介、安井裕子、奥山治美、山田和代 異なる種類の高脂肪食がラット褐色脂肪組織の生化学指標に及ぼす影響 日本脂質栄養学会 第21回大会 2012年9月7日(相模原); P-21

小野田早恵、内藤由紀子、立花滋博、河村さやか、大原直樹、吉川真衣、新美まどか、川口真帆、宮澤大介、安井裕子、山田和代、奥山治美 菜種(カノーラ)油摂取が脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)の病態悪化を促進する機序 第39回日本毒性学会学術年会 2012年7月18日(仙台); P-121

奥山治美、大原直樹、山田和代、宮澤大介、安井裕子、野々垣常正、小林身哉、北森一哉、河村典久、渡邊真一、市川祐子、橋本洋子、半谷 朗、本間誠二、大貫洋二、永田洋子、斎藤義明、臼見憲司、斎藤敏樹、片桐公一、Fats to Pigs 研究グループ ミニブタにおける植物油脂の内分泌攪乱作用 第43回日本脂質生化学会 2012年6月8日(福岡); 2-37  
河村典久、白石彩乃、林紋加、長谷博子、宮澤大介、安井裕子、北森一哉、山田和代、大原直樹、奥山治美 植物油脂投与によるミニブタ臓器中の金属評価 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬剤師会東海支部 合同学術大会 2011(第21回日本病院薬剤師会東海ブロック学術大会・平成23年度日本薬学会東海支部例会) 2011年11月23日(名古屋); K-A03

宮澤大介、安井裕子、山田和代、大原直樹、奥山治美  $\alpha$ -リノレン酸制限食を給餌したマウス脳の神経栄養因子産生とプロテインキナーゼ活性 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬剤師会東海支部 合同学術大会 2011(第21回日本病院薬剤師会東海ブロック学術大会・平成23年度日本薬学会東海支部例会) 2011年11月23日(名古屋); K-A08  
加藤裕子、山田和代、水谷友香、宮澤大介、安井裕子、津嶋宏美、大久保剛、奥山治美 異なる種類の高脂肪食餌がラットの生活習慣病関連パラメータに及ぼす影響 第84回日本生化学会大会 2011年9月24日(京都); 4P-0544, 4T15p-12

宮澤大介、大原直樹、桜井杏、安井裕子、北森一哉、斉藤義明、臼見憲司、山田和代、今井唯、山田英里、大橋彩乃、水谷友香、野々垣常正、小林身哉、奥山治美 植物油脂長期投与によるミニブタ組織のステロイドホルモンへの影響 第84回日本生化学会大会 2011年9月24日(京都); 4P-0577

安井裕子、山田和代、宮澤大介、大橋彩乃、北出幸夫、上田 浩 胎盤特異的転写因子 GCMa/1 の PMA による発現調節機構 - リン酸化部位の同定 - 第84回日本生化学会大会 2011年9月22日(京都); 2P-0449

宮澤大介、大原直樹、桜井杏、安井裕子、北森一哉、斉藤義明、臼見憲司、山田和代、今井唯、山田英里、大橋彩乃、水谷友香、野々垣常正、小林身哉、奥山治美 ミニブタ組織のステロイドホルモンに対する植物油脂長期投与の影響 日本脂質栄養学会 第20回大会 2011年9月3日(埼玉・坂戸); P-4

加藤裕子、山田和代、水谷友香、宮澤大介、安井裕子、津嶋宏美、大久保剛、奥山治美 ミニブタ組織のステロイド

ホルモンに対する植物油脂長期投与の影響 日本脂質栄養学会 第 20 回大会  
2011 年 9 月 2 日 (埼玉・坂戸); 0-3

安井裕子、山田和代、宮澤大介、大橋彩乃、北出幸夫、上田浩 胎盤特異的転写因子 GCMA/1 の発現調節機構における新規リン酸化部位の同定 第 57 回日本薬学会東海支部総会・大会 2011 年 7 月 9 日 (名古屋); B1600

山田英里、山田和代、今井唯、宮澤大介、安井裕子、津島宏美、大久保剛、奥山治美 異なる種類の高脂肪食餌のラット褐色脂肪組織に及ぼす影響 第 57 回日本薬学会東海支部総会・大会 2011 年 7 月 9 日 (名古屋); C1600

加藤裕子、山田和代、水谷友香、宮澤大介、安井裕子、津島宏美、大久保剛、奥山治美 異なる種類の高脂肪食餌がラット血漿パラメータに及ぼす影響 第 57 回日本薬学会東海支部総会・大会 2011 年 7 月 9 日 (名古屋); C1610

今井 唯、宮澤大介、北森一哉、安井裕子、大原直樹、奥山治美、家森幸男、山田和代 高脂肪高コレステロール食が脳の生化学パラメータに及ぼす影響-脳由来神経栄養因子産生とプロテインキナーゼ活性- 第 57 回日本薬学会東海支部総会・大会 2011 年 7 月 9 日 (名古屋); C1630

〔図書〕(計 1 件)

奥山治美、大原直樹、山田和代、宮澤大介、安井裕子、野々垣常正、小林身哉、北森一哉、河村典久、渡邊真一、市川祐子、他 Fats to Pigs 研究グループ ミニブタにおける植物油脂の内分泌攪乱採用 中日出版社 (2011)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮澤 大介 (MIYAZAWA, Daisuke)

金城学院大学・薬学部・准教授

研究者番号：70434553