

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861077

研究課題名(和文) 正常及び加齢・認知症における  $\omega$ -3系不飽和脂肪酸の生体内分子イメージングの検討

研究課題名(英文) Biodistribution of omega-3 fatty acid in normal and aged rodents

研究代表者

稲木 杏吏 (Inaki, Anri)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：40645131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：成年相当ラット及び必須脂肪酸である  $\omega$ -3系脂肪酸欠乏ラットにおける docosahexaenoic acid (DHA) の生体内分布を検討した。8週齢 Winster ラット及び  $\omega$ -3系脂肪酸非含有の特殊食にて飼育した8週齢 Winster ラットに対し、放射性同位元素 C-14 標識 DHA (1-[14C]-DHA) を投与し、その生体内分布を検討した。 $\omega$ -3系脂肪酸欠乏群は、対照群と比較して肝への取り込みはやや増加した一方、脳への取り込みはわずかに遅延することが判明した。

研究成果の概要(英文)：We assessed biodistribution of docosahexaenoic acid (DHA) in normal condition rat and omega-3 fatty acid deficiency rat. We administered C-14-radiolabelled DHA (1-[14C]-DHA) to 8-week-old normal rats and experimental rats which had been fed a non-omega-3 fatty acid diet for 4 weeks, and then sacrificed them to investigate the biodistribution of 1-[14C]-DHA. In experimental groups, 1-[14C]-DHA uptake ratio of liver increased, and on the other hand, peak time of 1-[14C]-DHA uptake was delayed, compared with control groups.

研究分野：分子イメージング

キーワード： $\omega$ -3脂肪酸

## 1. 研究開始当初の背景

-3 系脂肪酸とは -3 位に二重結合を持つ多価不飽和脂肪酸であり、生体内で de novo 合成出来ない必須脂肪酸である。人体内においては -リノレン酸(  $\omega$ -linolenic acid: ALA)を起点として、エイコサテトラエン酸 (eicosatetraenoic acid)、エイコサペンタエン酸(eicosapentaenoic acid: EPA)、ドコサペンタエン酸 ( docosapentaenoic acid: DPA )、ドコサヘキサエン酸 (docosahexaenoic acid: DHA)の順に生成される。狭義には -3 系脂肪酸においては -リノレン酸のみが必須脂肪酸であると言えるが、これらの変換に必要な酵素は人体内にも存在するものの、加齢とともに活性の低下が認められる (Nutrition. 2003; 19: 62-5)。さらに、細胞間シグナル伝達に必要なプロスタグランジン類、トロンボキサン類などの前駆物質である -6 系脂肪酸のアラキドン酸 (arachidonic acid)は、リノール酸を起点として同様の酵素で生成されるため、 -3 系脂肪酸と -6 系脂肪酸は両者とも必須脂肪酸でありかつ、その変換において競合する関係にある。そのため、2010 年度版日本人の食事摂取基準 (厚生労働省)においては、ALA、EPA、DHA それぞれにおいて摂取量の検討・提示がなされている。さらに、ALA、EPA から DHA への変換に必要な酵素 (エロンガーゼ、デサチュラーゼ)は神経細胞内での活性が低く、主に肝細胞にてドコサヘキサエン酸への変換された後に神経細胞内へ移行するとされる。しかしながら、ラットの動物実験では、EPA などの DHA 前駆体の投与によっても脳内 DHA 濃度の上昇が見られなかったとの研究報告があり、DHA の生体内での代謝については未だに議論の余地があるのが現状である。

DHA は、中枢神経のリン脂質に含まれる多価不飽和脂肪酸では最も多い成分であり、ヒトにおいては中枢神経の脂肪酸の 10%を占める (J. Mol. Neurosci. 2001; 16: 159-165)。精神科領域においてその摂取不足は多動性障害、うつ病のリスク因子になることが報告されている。また、統合失調症患者を対象としたメタアナリシスでは、赤血球の細胞膜の多価不飽和脂肪酸が有意に減少していることが報告されている (Schizophr Res. 2012; 141: 153-61)。また、注意欠陥/多動性障害 (ADHD) の患児に対して EPA、DHA の投与を行ったランダム化二重盲検試験では、ADHD 患児の症状を有意に改善した (Nutrition. 2012; 28: 670-7)。また、認知症患者を対象とするメタアナリシスでは、末梢血における DHA 含有量の有意な減少が報告されている (J Clin Psychiatry. 2012; 73: 1245-54)。さらに、軽度認知障害を対象としたランダム化二重盲検試験では、DHA 投与が有意に認知機能を改善している (Psychopharmacology 2012)。以上より、DHA の不足が精神疾患、気分障害等の症状

を悪化させ、DHA の補充が気分障害、認知機能の改善をもたらすことは明らかである。

DHA の分子イメージングとしては非エステル化 [ $^{14}\text{C}$ ]DHA を用い、主に齧歯類を対象とした基礎研究が行われているが、飢餓状態等や病態モデルでの研究は乏しいのが実情である。

## 2. 研究の目的

DHA の生体内分布を解明することは精神領域、特に認知症の領域における多価不飽和脂肪酸の役割の解明及び栄養学的な予防・治療の開発の突破口となることが強く期待される。本研究の目的は  $^{14}\text{C}$  標識を用いたドコサヘキサエン酸 (DHA) 生体内分布の解明にある。

## 3. 研究の方法

各実験系において、各測定タイミングにおいて 5 匹ずつ評価し、その平均を用いた ( $n=5$ )。

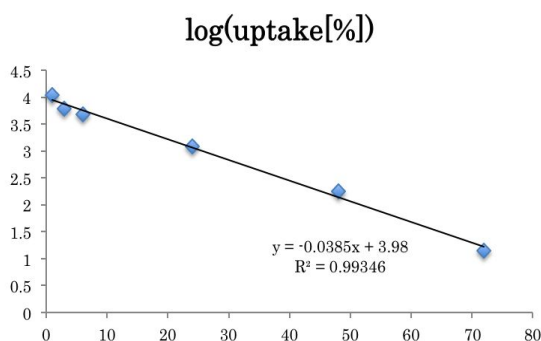
1) 成年相当 Winster ラットを用い、DHA の血中半減期の測定を行った。AIN-93G 純化食投与下の 8 週齢 Winster ラットに 1- [ $^{14}\text{C}$ ] -DHA を 1 回経口投与し、投与後 1 時間、3 時間、6 時間、24 時間、48 時間、72 時間の血中カウントを液体シンチレーションカウンター (LSC-5200、日立アロカメディカル) にて測定し、時間-放射能曲線を作成し、血中半減期を算出した。

2) 成年相当 Winster ラットを用い、DHA の全脳、肝における取り込みの推移を測定した。AIN-93G 純化食投与下の 8 週齢 Winster ラットに 1- [ $^{14}\text{C}$ ] -DHA を 1 回経口投与し、投与後 1 時間、3 時間、6 時間、24 時間、48 時間、72 時間において屠殺し、全脳、肝を摘出した。臓器重量を測定後、脳、肝を切除して 5 切片を作成し生理食塩液下でピーズクラッシャー ( $\mu\text{T-12}$ 、タイテック株式会社) にて組織を粉砕した。粉砕後の溶液を液体シンチレーションカウンターにて測定し、取り込み率を算出した。

3) -3 脂肪酸欠乏状態における DHA の全脳、肝における取り込みの推移を測定した。4 週齢 Winster ラットに対し、前処置として、AIN-93G 純化食をベースとして熱量を同等としたまま -3 系脂肪酸含有油脂をその他の脂肪酸 (-6 系脂肪酸など) 含有油脂に置換した特殊食 (米国 Research Diets, Inc., D03052304C) を投与した。4 週間この条件下で飼育後に、1- [ $^{14}\text{C}$ ] -DHA を 1 回経口投与し、投与後 1 時間、3 時間、6 時間、24 時間、48 時間、72 時間において屠殺し、全脳、肝を摘出した。臓器重量を測定後、脳、肝を切除して 5 切片を作成し生理食塩液下でピーズクラッシャーにて組織を粉砕した。粉砕後の溶液を液体シンチレーションカウンターにて測定し、取り込み率を算出した。

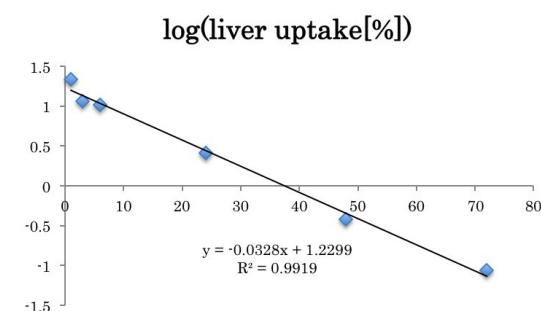
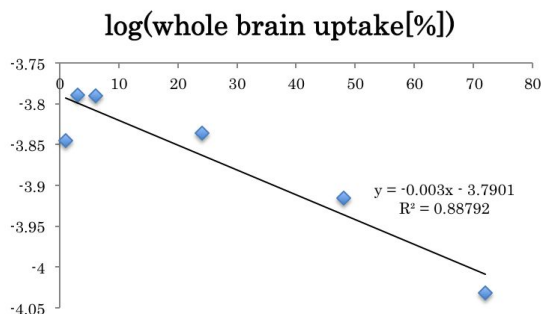
## 4. 研究成果

1) 1-[<sup>14</sup>C]-DHA の投与全体量に対する取り込み率の推移を図に示す。



血中濃度は1時間後の  $56.77 \pm 4.58$  [%] をピークに漸減し、実効半減期 (<sup>14</sup>C の物理半減期は約 5730 [年] のため、ほぼ生物学的半減期と等しい) は 18.03 [hr] であった。

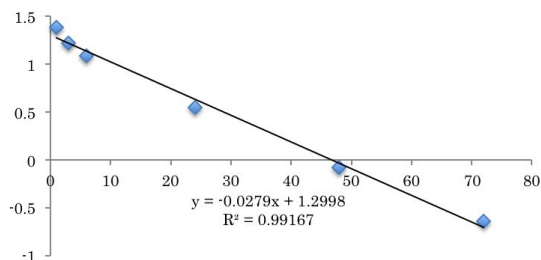
2) AIN-93 純化食投与下における 1-[<sup>14</sup>C]-DHA の全脳、肝の取り込み率の推移を図に示す。



最大取り込み率は全脳で  $0.023 \pm 0.002$  [%] (3 時間後)、肝で  $3.80 \pm 0.24$  [%] (1 時間後) であった。脳における実効半減期は 228.5 [hr] と非常に遅かった。

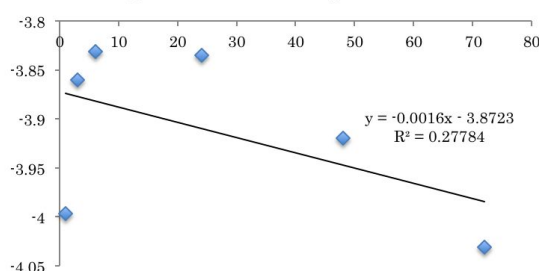
3) -3 系脂肪酸欠乏状態ラットにおける 1-[<sup>14</sup>C]-DHA の肝の取り込み率の推移を図に示す。

log(liver uptake[%])



-3 系脂肪酸欠乏状態ラットにおける 1-[<sup>14</sup>C]-DHA の肝の最大取り込み率は  $3.98 \pm 0.30$  [%] (1 時間後) と、有意差はないものの正常群と比較してやや増加していた。また、脳における取り込み率の推移を図に示す。

log(whole brain uptake[%])



全脳の最大取り込み率は  $0.022 \pm 0.002$  [%]、実効半減期は 444.3 [hr] であった。ただし、図に示した通り、全脳の取り込みはやや遅延しており、より詳細に取り込み率の推移を評価するためには、さらに多点で測定を行いコンパートメント解析が必要であると考えられた。

以上より、-3 系脂肪酸欠乏状態における DHA は、肝への取り込みは増加するが、脳への取り込みは遅延することが予想された。

背景で述べた通り、DHA を含む -3 系脂肪酸は、種々の精神科領域の疾患においてその摂取不足がリスク因子となることが報告されている。しかしながら、これまでの研究結果、脂肪酸の代謝経路等を考慮しても、-3 系脂肪酸の摂取、代謝においては肝における代謝がその律速段階となることが予想され、本研究結果からも単純な -3 系脂肪酸の摂取不足においてさえも脳への脂肪酸への取り込みは亢進しなかった。むしろ、脳への取り込みについては取り込み率は変化がみられなかったものの、取り込み率のピークの遅延が予想された。

< 参考文献 >

1. Picq, M., et al., *DHA metabolism: targeting the brain and lipoxygenation*. Mol Neurobiol, 2010. **42**(1): p. 48-51.
2. Ouellet, M., et al., *Diffusion of docosahexaenoic and eicosapentaenoic*

*acids through the blood-brain barrier: An in situ cerebral perfusion study.*  
Neurochem Int, 2009. **55**(7): p. 476-82.

3. Rapoport, S.I., E. Ramadan, and M. Basselin, *Docosahexaenoic acid (DHA) incorporation into the brain from plasma, as an in vivo biomarker of brain DHA metabolism and neurotransmission.*  
Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2011. **96**(1-4): p. 109-13.

#### 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 0 件 )

[ 図書 ] ( 計 0 件 )

[ 産業財産権 ]

出願状況 ( 計 0 件 )

取得状況 ( 計 0 件 )

#### 6 . 研究組織

(1) 研究代表者

稲木 杏吏 ( INAKI, Anri )  
金沢大学・医学系・助教  
研究者番号 : 40645131