

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：32403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350120

研究課題名(和文) 不飽和脂肪酸摂取によるうつ病の予防と改善 - オリゴデンドロサイトの新生・分化の促進

研究課題名(英文) Prevention and recovery of depression by unsaturated fatty acids intake

研究代表者

片倉 賢紀 (Masanori, Katakura)

城西大学・薬学部・准教授

研究者番号：40383179

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では不飽和脂肪酸の摂取によるうつ病の予防と治療の可能性を検証した。うつ病患者の脳内では多価不飽和脂肪酸量が低下していることやオリゴデンドロサイトが欠落しているという報告がある。本研究では、オリゴデンドロサイトに着目し、不飽和脂肪酸がオリゴデンドロサイトの分化に与える影響を検討した。また、ヒトの赤血球膜脂肪酸とうつ症状との関連を検討した。オリゴデンドロサイト前駆細胞の成熟は多価不飽和脂肪酸により濃度依存的に促進された。ストレス負荷ラットに多価不飽和脂肪酸を投与すると、ストレスが軽減された。以上のことから、不飽和脂肪酸の摂取は、うつ病の重症化を予防する効果が認められた。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we assessed possibility of unsaturated fatty acid to treat depression. Polyunsaturated fatty acids and oligodendrocyte have been reported that were decreased in patients brain of depression. In the present study, we focused on oligodendrocyte and assessed how unsaturated fatty acids affects oligodendrocyte differentiation; we analyzed relationships between red blood cell membrane fatty acids levels and score for depression (Zung Self-rating Depression Scale). Unsaturated fatty acids dose-dependently enhanced oligodendrocyte differentiation from both neural stem cells and oligodendrocyte progenitor cells. Polyunsaturated fatty acids diminished depressive symptoms by assessed forced-swim tests. Decreased Red blood cell membrane mono-unsaturated fatty acids and n-3 polyunsaturated fatty acids were related with SDS scale. These results were indicated that unsaturated fatty acids may prevent and treat depression by affecting oligodendrocyte differentiation.

研究分野：脂質栄養学

キーワード：多価不飽和脂肪酸 精神疾患 脂質栄養

1. 研究開始当初の背景

(1) うつ病患者脳内オリゴデンドロサイトの減少

オリゴデンドロサイトはグリア細胞の一つで、健常状態の中樞神経系においてはニューロンの軸索突起を被覆するミエリンを形成し活動電位の伝達速度を高める機能がある。近年、大うつ病患者の前頭極灰白質のオリゴデンドロサイト系譜の細胞数は減少していることがヒト凍結死後脳の研究により明らかにされた (Mol Psychiatry, 2011)。そのため、うつ病の改善にはニューロンと共にオリゴデンドロサイトの再生も必須であると考えられる。

(2) 脳内不飽和脂肪酸量不足とうつ病
大うつ病患者死後脳中のドコサヘキサエン酸 (DHA)濃度は、対照群と比較して有意に低いと報告されている (Biol Psychiatry, 2007)。同様に、不飽和脂肪酸合成に關与する不飽和化酵素および鎖長延長酵素 mRNA 量の低下も報告されている (J Affect Disord, 2011)。これは脳内の不飽和脂肪酸合成能の低下がうつ病と關連していることを示唆する。さらに、三環系抗うつ薬や選択的セロトニン再取り込み阻害剤はこれら酵素の発現量を転写レベルで増加することも報告されている (Neurosci Lett, 2006)。これらの報告は、脳内不飽和脂肪酸量の回復がうつ病を改善させることを示唆する。

(3) 魚介類の摂取低下によるうつ病発症率の増加
魚介類摂取量とうつ病発症率とは負の相関関係があり、かつて日本人は魚介類摂取量が多く、うつ病発症率は低かった (Lancet, 1998)。一人あたりの魚介類摂取量は 1999 年では 94.3 g/日であったが、2011 年では 72.7 g/日と 20%以上も減少した (国民健康・栄養調査)。一方、双極性障害を含む気分障害の総患者数は 1998 年では約 40 万人であったが、2011 年では 95.8 万人と、2 倍以上に増加した。これらの結果から魚介類摂取減少と気分障害患者増加とは因果関係があるとされる。魚介類は、DHA やエイコサペンタエン酸などの n-3 多価不飽和脂肪酸を多く含有する。そのためうつ病と n-3 多価不飽和脂肪酸との関係が盛んに研究されている。

以上のことから申請者は、DHA を含む不飽和脂肪酸による神経幹細胞からオリゴデンドロサイトへの分化促進は、ミエリンを健常状態へと回復させ、うつ病の予防・改善に有効であると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、(1) 不飽和脂肪酸による神経幹細胞からオリゴデンドロサイトへの分化促進機構について、特に不飽和化酵素、鎖長延長酵素の役割に着目し、全容解明を目指す。(2) うつ病モデル動物のオリゴデンド

ロサイト欠落に対する不飽和脂肪酸の効果を検討する。不飽和脂肪酸により生体内でもオリゴデンドロサイトが再生するかを検討する。(3) ヒトのうつと脂肪酸不飽和化酵素遺伝子多型の関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 神経幹細胞の培養

神経幹細胞はラット胎児 (E14.5) 脳から回収し、線維芽細胞増殖因子 (bFGF2) 存在下ニューロスフェア法により培養した。ニューロスフェアを分散後、bFGF2 を含まない培地で培養し、神経幹細胞を分化させた。培地に不飽和脂肪酸 (オレイン酸、n-3, n-6 多価不飽和脂肪酸) を添加した培養した。培養後の分化状態はリアルタイム PCR 法、ウエスタンブロット法、免疫染色法により評価した。免疫染色にはニューロン (NeuN, Tuj-1)、アストロサイト (GFAP, CD-44)、オリゴデンドロサイト (olig2, CNPase) をそれぞれの分化マーカーとして使用し、全細胞数に対する各マーカー陽性細胞数から分化率を算出した。

(2) うつ病動物モデル

ラットは社会的敗北ストレスを与えるために週齢のことなる体格が大きなたラットと同居させた。1日1時間両ラットを直接接触させ、残りの時間は金網で隔てた同じケージで飼育した。オープンフィールド試験と強制水泳試験を実施し、うつの程度を確認した。うつの程度により2群に分け、一方には大豆油をもう一方には魚油を8週間投与した。投与7週目から再度行動実験を実施し、うつの程度を確認した。行動実験終了後、ラットは3種混合麻酔下で、心臓から4%パラホルムアルデヒドを還流し固定した後、脳を摘出した。脳は厚さ40 μmの凍結切片を作成した。白質、灰白質のオリゴデンドロサイトは特異的なマーカーを用いて免疫染色し、前駆細胞 (A2B5+/olig2+) 成熟細胞 (CNP+/olig2+, MBP+/olig2+) を区別して計数した。

(3) ヒトの赤血球膜脂肪酸の解析

島根大学疾病予知予防研究拠点で行われている前向きコホート研究参加者853名(男性349名 66.9±0.4歳、女性504名 66.6±0.3歳)の赤血球から膜画分を精製した。膜画分中の脂肪酸は、塩化アセチルを用いて脂肪酸メチルエステルとし、ガスクロマトグラフィーを用いて分離・分析した。別に測定したタンパク定量値から赤血球膜中各脂肪酸量、モル%を算出した。赤血球膜脂肪酸と青魚の摂取頻度やうつの指標との関連を脂肪酸の分析を行った被験者の自己評価式抑うつ性尺度 (Zung Self-rating Depression Scale) を利用して統計学的な解析をした。ヒトの検体を用いた研究では匿名化された検体・データを島根大学疾病予知予防研究拠点から供与され、島根大学医の倫理委員会の承認を得て実施した。

4. 研究成果

(1) 神経幹細胞からオリゴデンドロサイトへの分化に対する不飽和脂肪酸の影響

オレイン酸、n-3 多価不飽和脂肪酸のドコサヘキサエン酸 (DHA) は濃度依存的にオリゴデンドロサイトへの分化を促進させた。一方 n-6 多価不飽和脂肪酸のアラキドン酸 (ARA) はオリゴデンドロサイトへの分化に影響しなかった。

神経幹細胞から派生させたオリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPCs) から成熟オリゴデンドロサイトへの分化はオレイン酸や DHA により濃度依存的に増加した。

以上のことから、オレイン酸や DHA は神経幹細胞からオリゴデンドロサイトへの分化促進をするだけでなく、OPCs から成熟オリゴデンドロサイトへの促進もすることが明らかとなった。

(2) うつ病動物モデルを用いた検討

社会的敗北ストレス後に行った強制水泳試験では、ストレス負荷群で有意に無働時間の延長が認められた。結果は個体差が大きかったため、結果により 2 群に分け大豆油と魚油をそれぞれ投与した。投与後の強制水泳試験では、魚油投与群では大豆油投与群と比較して無働時間が短縮した。このことから、魚油は社会的敗北ストレス後のうつ症状を改善する効果がある可能性が示唆された。

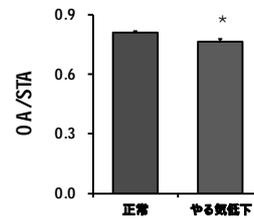
行動実験後の脳を免疫染色した結果、海馬のオリゴデンドロサイト特異的なマーカーを用いた検討では、前駆細胞 (A2B5+/olig2+) 成熟細胞 (CNP+/olig2+, MBP+/olig2+) 数は両群間で大きな差は認められなかった。今後海馬だけでなく、大脳皮質などほかの脳領域でも解析を進めなければならない。

(3) ヒトの赤血球膜脂肪酸の解析

やる気スコアは男性 10.02 ± 0.43 女性 9.91 ± 0.33 , $P = 0.903$ と男女間に有意な差はなかったのに対して、うつの指標となる SDS スコアは男性 31.41 ± 0.44 女性 33.29 ± 0.36 , $P = 0.007$ と男女間に有意差が認められた。このことから被験者集団は女性の方が男性よりもうつの傾向が認められた。

赤血球膜脂肪酸とやる気やうつの指標との間の関連を統計学的に検討した。やる気スコアのカットオフ値 16 以上のやる気低下群と 16 未満の正常群の 2 群間で分析した脂肪酸の量を比較した。同様に SDS 値 40 をカットオフ値として 40 以上の抑うつあり群と 40 未満の抑うつなし群の 2 群で赤血球膜脂肪酸組成を比較した (図 1)。その結果、女性においてやる気低下群および抑うつあり群で正常群よりも有意にオレイン酸量とオレイン酸/ステアリン酸比が低下していた。この結果から女性では、赤血球膜のオレイン酸量の低下がやる気の低下やうつ症状の悪化と関連があることが明らかとなった。

やる気スコア



SDSスコア

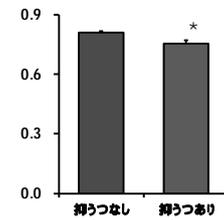


図 1 やる気とうつの指標とオレイン酸/ステアリン酸比の関係

次に多価不飽和脂肪酸とやる気やうつの関連を検討した。赤血球膜脂肪酸 (n-3 リノレン酸、DHA、エイコサペンタエン酸) 量により被験者を三分位し SDS スコア、やる気スコアを比較した (図 2)。男性では赤血球膜中 n-3 リノレン酸量が多くなるとやる気スコアが低下した。同様の傾向が DHA、ドコサペンタエン酸 (DPA n-3) でも認められた。SDS スコアにおいても DHA や DPA n-3 量の増加に伴いスコアが低下した。この結果から、赤血球中の n-3 系多価不飽和脂肪酸の増加はうつややる気を改善することが示唆された。

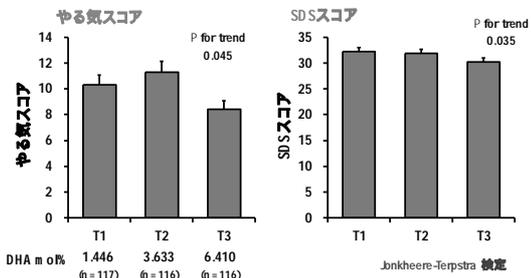


図 2 赤血球膜ドコサヘキサエン酸とやる気とうつの指標の関係

n-3 系多価不飽和脂肪酸の摂取源である魚油の摂取頻度と赤血球膜脂肪酸の脂肪酸組成との関連を調べた。魚の摂取頻度が増加するほど赤血球膜脂肪酸中の n-3 系多価不飽和脂肪酸量は増加した。特にエイコサペンタエン酸 (EPA) や DHA は有意に増加した。この結果から本研究で採用した食事摂取頻度調査は有効なものであったと判断した。青魚摂取頻度と SDS スコアややる気スコアとの関連を検討した。魚の摂取頻度が多くなると、やる気スコアは有意に減少した。また SDS スコアでは低下する傾向にあった。

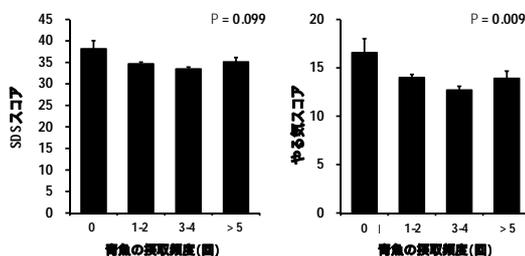


図 3 青魚の摂取頻度とやる気やうつの指標との関係

< 引用文献 >

- Hayashi et al., Mol Psychiatry. 2011 16(12):1155-8. doi: 10.1038/mp.2011.16
McNamara et al., Biol Psychiatry.

2007;62(1):17-24. doi:
10.1016/j.biopsycho.2006.08.026
McNamara et al., *J Affect Disord.*
2011;129(1-3):359-63. doi: 10.1016/j.jad.
2010.08.021.
Raeder et al., *Neurosci Lett.* 2006;
13;395(3):185-90. doi: 10.1016/j.neulet.
2005.10.096
Hibbelen et. Al., *Lancet.* 1998;351
(9110):1213. doi:10.1016/S0140-6736(05)
79168-6

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 3 件)

片倉賢紀、多価不飽和脂肪酸による神経幹細胞分化調節機構の解明、脂質栄養学 2016; 25(1):7-13. doi: doi.org/10.4010/jln.25.7

M Hashimoto, T Inoue, M Katakura, S Hossain, AA Mamun, K Matsuzaki, H Arai, O Shido. Differential effects of docosahexaenoic and arachidonic acid on fatty acid composition and myosin heavy chain-related genes of slow- and fast-twitch skeletal muscle tissues. *Mol Cell Biochem.* 2016;415 (1-2):169-81. doi: 10.1007/s11010-016-2689-y.

M Hashimoto, S Kato, Y Tanabe, M Katakura, AA Mamun, M Ohno, S Hossain, K Onoda, S Yamaguchi, O Shido. Beneficial effects of dietary docosahexaenoic acid intervention on cognitive function and mental health of the oldest elderly in Japanese care facilities and nursing homes. *Geriatr Gerontol Int.* 2017;17(2):330-337. doi: 10.1111/ggi.12691.

[学会発表](計 9 件)

片倉賢紀、橋本道男、井上隆之、田邊洋子、Abdullah Al Mamun、有田誠、紫藤治、n-3 多価不飽和脂肪酸による腎臓保護作用 - メタボリックシンドロームモデルラットを用いた検討 -、日本脂質栄養学会第 23 回大会、2014 年 8 月 29-30 日、東京国際交流会館 (東京都江東区)

橋本道男、加藤節司、山口修平、田邊洋子、片倉賢紀、大野美穂、椎名康彦、大倉 英久、佐々木 祐輔、松井禮子、岩野智栄美、下田友子、笠井宏美、紫藤治、高齢者向け居住系介護施設等入居者の認知機能と介護者負担におよぼす n-3 系脂肪酸と運動の影響 その 2 12ヶ月間の介入試験結果、日本脂質栄養学会第 23 回大会、2014 年 8 月 29-30 日、東京国際交流会館 (東京都江東区)

片倉賢紀、橋本道男、奥井俊之、松崎健太郎、杉本直俊、紫藤治、ラット培養神経幹細胞の分化に対する多価不飽和脂肪酸合成酵素の役割、第 66 回日本生理学会中

国四国地方会、2014 年 11 月 1 日 2 日、e とぴあ・かがわ (香川県高松市)

片倉賢紀、橋本道男、紫藤治、n-3 多価不飽和脂肪酸による糖尿病性腎障害の予防効果、第二回「食と環境、そして高齢化を考える研究会」、2014 年 11 月 15 日、一般財団法人 アジア太平洋研究所 (大阪府大阪市)

M Katakura, M Hashimoto, Abdullah Al Mamun, M Arita, O Shido. Omega-3 fatty acids prevent from renal dysfunctions by increasing docosahexaenoic acid-derived metabolite levels in SHR.Cg-Leprcp/NDmcr rats, a Metabolic Syndrome Model. The 3rd International Conference on Nutraceutical and Cosmetic Sciences (2014)、2014 年 11 月 11 日、京王プラザホテル (東京都新宿区)

M Hashimoto, M Katakura, Y Tanabe, A Mamun, T Inoue, M Arita, and O Shido. Improvement of age-related cognitive decline by prescription n-3 fatty acids, but not EPA alone, is associated with increases of DHA-derived docosanoids and decreases of ARA-derived eicosanoids in rat brain. 第 11 回国際脂肪酸・脂質学会議 (ISSFAL 2014)、2014 年 6 月 28 日、Stockholm (Sweden)

M Katakura, M Hashimoto, K Matsuzaki, T Okui, N Sugimoto, O Shido. The roles of fatty acid desaturase in the differentiation of cultured neural stem cells. 第 92 回日本生理学会、2015 年 3 月 21 日、神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)

片倉賢紀、橋本道男、田邊洋子、山口修平、並河徹、塩飽邦憲、紫藤治、島根県隠岐在住高齢者の精神神経機能と赤血球膜脂肪酸組成との関連: Shimane CoHRE Study、日本脂質栄養学会第 24 回大会、2015 年 8 月 28-29 日、ホテルグランデはがくれ (佐賀県佐賀市)

橋本道男、片倉賢紀、田邊洋子、Abdullah Al Mamun、有田誠、紫藤治、加齢ラットにおける n-3 系脂肪酸による空間認知機能改善効果と脳内多価不飽和脂肪酸代謝物との関連性、日本脂質栄養学会第 24 回大会、2015 年 8 月 28-29 日、ホテルグランデはがくれ (佐賀県佐賀市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

http://researcher.josai.ac.jp/html/100000423_ja.html?k=%E7%89%87%E5%80%89%E8%B3%A2%E7%B4%80

学会賞

日本脂質栄養学会ランズ賞奨励賞 多価不飽和脂肪酸による神経幹細胞の分化制御機構の解明 2015年9月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片倉 賢紀 (KATAKURA, Masanori)
城西大学・薬学部・薬科学科・准教授
研究者番号：40383179

(2) 研究分担者

紫藤 治 (SHIDO, Osamu)
島根大学・医学部・教授
研究者番号：40175386

橋本 道男 (HASHIMOTO, Michio)
島根大学・医学部・特任教授
研究者番号：70112133

松崎 健太郎 (MATSUZAKI, Kentaro)
島根大学・医学部・助教
研究者番号：90457185

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

奥井 俊之 (OKUI, Toshiyuki)