

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08606

研究課題名(和文) 偏食が情動行動に与える影響：大麻受容体の役割

研究課題名(英文) The effect of meal content on emotional behavior: role of cannabinoid receptor

研究代表者

三島 健一 (Kenichi, Mishima)

福岡大学・薬学部・教授

研究者番号：00320309

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)：大麻受容体のリガンドとして同定された2-アラキドノイルグリセロール(2-AG)は、マウスが脂質を多く含む食(高脂肪食)を摂食し続けたときにみられる嗜好性の制御に関わる。本研究では、偏食が食の好みと大麻受容体の内因性リガンドに与える影響を解析した後、情動に与える影響を検討した。高脂肪食を摂取し続けたマウスに対し、食餌を標準食に切り替えた後、肝臓/体重量や血液の生化学検査値などの身体的変化と脳内2-AG量を測定した。その結果、肝臓/体重量や血液の生化学検査値などの身体的変化は正常値を示し、高脂肪食に対する嗜好性と脳内2-AG量などの脳内環境の変化は維持されていた。

研究成果の概要(英文)：The 2-arachidonoylglycerol (2-AG) is an endocannabinoid that binds to cannabinoid receptor. We previously reported that hypothalamic 2-AG was increased after conditioning to the rewarding properties of HFD. In this study, we investigated the effects of HFD on the 2-AG levels and the biochemical levels. And, we also studied whether observed effects could be reversed upon removal of the HFD. As a results, HFD intake led to hyperlipidemia and liver dysfunction. And these phenotypes reversed upon removal of the HFD. While, the increment of hypothalamic 2-AG level after HFD intake did not reverse upon removal of the HFD.

研究分野：応用薬理学

キーワード：大麻受容体 2-AG カンナビノイド

1. 研究開始当初の背景

生体は摂食することで、体内の栄養を一定に保っている。食物を摂食した際、脳内に報酬性あるいは嫌悪性の情動が起こる。摂食時の情動は、摂食した経験のある食物を選択する場面で食行動に大きな影響を与え、食の好みを形成する情報となる。形成された食の好み(食の嗜好性)は、健康的な食生活を考える上で重要である。しかし、食の好みが形成された後、食を選択する場面の情動と脳内変化に関しては、多くの不明点が残っている。

大麻主要成分(9-tetrahydrocannabinol: THC)は生体内の大麻受容体を刺激することで、精神・神経系を介した情動とそれに伴う行動を引き起こす。THCをラットやマウスに投与すると、高架式十字迷路課題での不安誘発、open-field法による自発運動量の変化、被刺激性反応の増大、感覚運動情報制御機構の障害などの情動行動を起こす(総説, 日薬理誌, 2001)。一方、脂質の高い食物は、生物にとって魅力的であり、摂食時に報酬性の情動を促し、摂食し続けることで、脂肪を多く含む食を好む性質を形成する。脂肪食に対する食の好みは、脂肪食過多による肥満や生活習慣病の危険因子となりうる。よって、脂肪を多く含む食事を摂り続けた場合にみられる食の好みの形成過程に、どのように大麻受容体を介した情動が関わるのかを明らかにしたいと考えた。

2. 研究の目的

偏食が食の好みと大麻受容体の内因性リガンドである2-アラキドノイルグリセロール(2-AG)量に与える影響を解析した後、情動に与える影響を検討した。高脂肪食を摂取し続けたマウスに対し、食餌を標準食に切り替えた後、肝臓/体重量や血液の生化学検査値などの身体的変化と脳内2-AG量を測定した。また、食の嗜好性に対する影響について、条件づけ場所嗜好性試験を用いて評価した。さらに、高脂肪食を摂食し続けた場合の情動を確認するために、ラットの発声する超音波を測定した。

3. 研究の方法

実験動物

実験には、ICR系雄性マウスとWistar系雄性ラット(九動(株))を用いた。動物は室温 23 ± 2 、湿度 $60 \pm 2\%$ 、および12時間の明暗サイクル(点灯7:00-19:00)の動物室で飼育した。餌は、オリエンタル酵母工業(株)より入手したF2HFD1を高脂肪食(HFD)として使用し、日本クレア(株)より入手したCE-2を標準食(SD)として使用した。なお、本研究は福岡大学動物実験委員会(Experimental animal care and use committee)の承認のもと、福岡大学動物実験規定に従って、実施した。

マウスの食餌条件

マウスに高脂肪食摂食後に食餌を標準食に切り替えたとき際に起こる変化を測定するために、マウスに28日間高脂肪食を摂食させた群(28day-HFD)、28日間標準食を摂食させた群(28day-SD)、14日間マウスに高脂肪食を摂取させた後、食餌を切り替え、14日間標準食を与えた群(14day-switch)の3群を製作した。

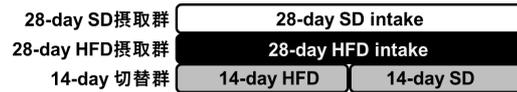


図1 食餌切り替えのスケジュール

血液中の化学成分測定

食餌条件がマウスに与える影響を確認するために、血液中の化学成分を測定した。測定した化学成分は、アスパラギン酸アミノ基転移酵素(AST)、アラニンアミノ基転移酵素(ALT)、トリアシルグリセロール(TG)、総コレステロール(T-Cho)とした。マウスに麻酔した後、腹大動脈より、採血した。得られた血漿を小型遠心機CF-9520(アークレイマーケティング(株))を用い、遠心分離した後、上清を採取した。採取した上清の化学成分を臨床化学自動分析装置スポットケムEZ SP-4430(アークレイマーケティング(株))を用いて測定した。また、採血したマウスの体重量と肝重量を測定・記録した。

脳内2-AG量の測定

食餌条件の異なる環境でマウスを飼育した後、脳を摘出し、視床下部を切り出した。切り出した視床下部より、Folch法を用いて、脂質を抽出した。抽出した脂質は逆相カラムSep-Pak C-18 cartridges(日本ウォーターズ(株))を用い、2-AGを精製し、サンプルとした。サンプル中に含まれる2-AG量は、ガスクロマトグラフ質量分析計GCMS-QP2010(島津製作所(株))にて定量した。

条件づけ場所嗜好性試験(Conditioned Place Preference test, CPP test)

食餌条件の異なる環境下でマウスを飼育した後、マウスがHFDに対し示す嗜好性を評価するため、条件づけ場所嗜好性試験(CPP test)を行った。実験には同じ大きさで、それぞれ内壁の色の異なる(白, 黒)2つの箱をつなげた装置を用いた。マウスを装置に入れ、2箱の往来が自由にできる状態で装置内の各箱の滞在時間を15分間測定(pre-test)し、このときの値をpre-test値とした。条件づけは2箱の往来が不可能な状態で4日間行い、その後、pre-test時と同様の条件下で、各箱における滞在時間を測定(test)し、このときの値をtest値とした。測定した滞在時間から、Preference score = (test値) - (pre-test

値)として Preference score を算出し、嗜好性を評価した。

ラットの超音波発声の測定

HFD を 6 週間摂食し続けたラットが発声する超音波について、小動物用超音波測定・解析装置(超音波検出マイク: Sono Track ultrasonic microphones, METRIS, B.V., 超音波解析ソフト: Sono Track, METRIS, B.V.)を用いて 5 分間記録した。記録した超音波を解析して、50kHz 帯の発声回数を算出した。

4. 研究成果

(1) 食餌条件が血液中の化学成分に及ぼす影響

高脂肪食を 28 日間摂食させた(28day-HFD)群の肝重量/体重、AST、ALT、T-Cho 量は、標準食を 28 日間摂食させた(28day-SD)群と比べ、有意に高い値を示し、TG 量は有意に低い値を示した。また、14 日間高脂肪食を摂食させた後、食餌を切り替え、14 日標準食に切り替えた(14day-switch)群の肝重量/体重、AST、ALT、T-Cho、TG 量は、いずれも 28day-SD 群と同等であった。このとき、各群間に有意な体重の差は認められなかった(表 1)。

表 1 食餌切り替え後の血液中の化学成分

	28-day SD	28-day HFD	14-day switch
Body weight (g)	39.2±0.9	40.9±1.0	41.3±1.0
Liver weight (g)	2.0±0.1	3.2±0.2 [#]	2.4±0.1
Liver weight/Body weight (%)	5.19±0.2	7.8±0.5 [#]	5.9±0.2
AST (IU/L)	26.3±4.7	99.6±19.2 [#]	43.6±3.0
ALT (IU/L)	11.3±1.8	117.5±21.5 [#]	42.1±4.9
Serum-cholesterol (mg/dL)	95.4±5.3	214.3±19.8 [#]	122.8±6.5
TG (mg/dL)	102.3±20.3	23.2±3.5 [#]	101.3±7.9

[#]P < 0.05 vs SD (Tukey's test)

(2) 食餌条件が高脂肪食嗜好性に及ぼす影響

28day-HFD 群の高脂肪食に対する preference score は、28day-SD 群に比べて、有意に高い値を示した。また、14day-switch 群の高脂肪食に対する preference score は、28day-SD に比べて、有意に高い値を示した(図 2)。

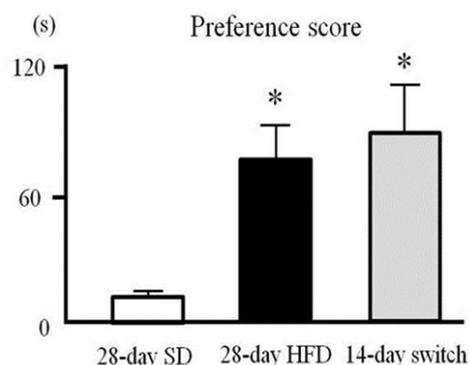


図 2 食餌切り替え後の高脂肪食嗜好性

(3) 食餌条件が脳内 2-AG 量に及ぼす影響

28day-HFD 群の視床下部 2-AG 量は、28day-SD 群に比べて、有意に高い値を示した。また、14day-switch 群の視床下部 2-AG 量は、28day-SD に比べて、有意に高い値を示した(図 3)。

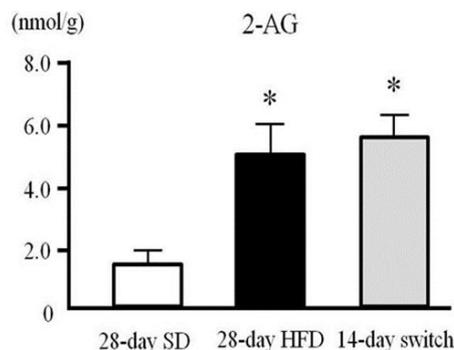


図 3 食餌切り替え後の視床下部 2-AG 量

(4) 高脂肪食摂食がラットの超音波発声に与える影響

HFD を 6 週間摂食し続けたラットの発声した超音波を測定した結果、有意な変化は認められなかった。

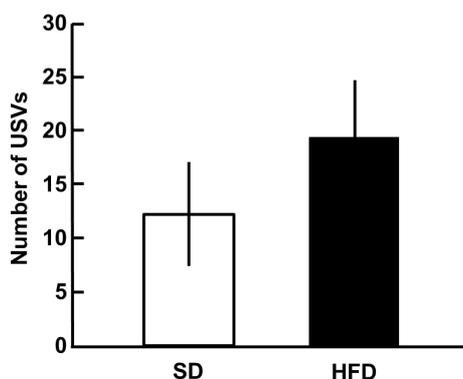


図 4 高脂肪食摂食後の超音波発声数

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 1 件)

Nobuaki Egashira, Emi Koushi, Takayuki Myose, Akito Tanoue, Kenichi Mishima, Ryota Tsuchihashi, Junei Kinjo, Hiroyuki Tanaka, Satoshi Morimoto, Katsunori Iwasaki

Role of vasopressin V1a receptor in $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol-induced cataleptic immobilization in mice

Psychopharmacology (Berl) 234(23-24):
3475-3483 (2017), 査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

赤木麻里, 明瀬孝之, 入江圭一, 近藤布由美, 伊賀歩実, 山下郁太, 松尾宏一, 林稔展, 佐藤朝光, 土橋良太, 金城順英, 森本聡, 田中宏幸, 佐野和憲, 三島健一
白金系抗がん剤 oxaliplatin 誘発性末梢神経障害ラットに対する大麻成分 9-tetrahydrocannabinol による治療効果
日本薬学会第 138 年会 (金沢市 2018 年 3 月 25-28 日)

明瀬孝之, 入江圭一, 山下郁太, 土橋良太, 金城順英, 佐藤朝光, 森本聡, 田中宏幸, 松山清, 三島健一
大麻含有成分 9-tetrahydrocannabinol によるラット超音波発声への影響とカンナビノイド受容体の関与
第 34 回 和漢医薬学会学術大会 (福岡 2017 年 8 月 26, 27 日)

明瀬孝之, 入江圭一, 山下郁太, 中嶋亜梨紗, 田中まりの, 土橋良太, 金城順英, 佐藤朝光, 佐野和憲, 本多健治, 森元聡, 田中宏幸, 松山清, 三島健一
大麻活性成分 9-tetrahydrocannabinol が生体外刺激に対するラットの情動反応に与える影響
第 33 回日本薬学会九州支部大会 (鹿児島 2016 年 12 月 3, 4 日)

明瀬孝之, 入江圭一, 山下郁太, 寺前祐樹, 平野真梨, 中嶋亜梨紗, 田中まりの, 土橋良太, 金城順英, 佐藤朝光, 佐野和憲, 本多健治, 三島健一
9-Tetrahydrocannabinol と Methamphetamine が誘発するラットの超音波発声の比較
日本薬学会第 136 年会 (横浜市 2016 年 3 月 26-29 日)

〔図書〕(計 0 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
三島 健一 (MISHIMA, Kenichi)
福岡大学・薬学部・教授
研究者番号 : 00320309

(2) 研究分担者
入江 圭一 (IRIE, Keiichi)
福岡大学・薬学部・助教
研究者番号 : 50509669

佐野 和憲 (SANO, Kazunori)
福岡大学・薬学部・准教授
研究者番号 : 50534343

佐藤 朝光 (SATHO, Tomomistu)
福岡大学・薬学部・准教授
研究者番号 : 90369025

(3) 連携研究者 ()

研究者番号 :

(4) 研究協力者 ()