

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：33923

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16221

研究課題名(和文)シアリルラクトースの摂取による記憶学習能の維持・改善メカニズム解明に関する研究

研究課題名(英文)Effects of sialyl-lactose on memory in rodents

研究代表者

山田 貴史(Yamada, Takashi)

名古屋経済大学・人間生活科学部管理栄養学科・准教授

研究者番号：50531860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、母乳に多く含まれ神経成長期に摂取するシアリルラクトースを高齢期に摂取することによる脳機能への影響とその作用機序を解明することを目的とした。高齢ラットまたは加齢促進モデルマウスに、シアリルラクトースを含む食餌を14日間摂取させることで、血中のコレステロール濃度の変化および脳組織のドーパミン、セロトニン等の神経伝達物質の増加や神経栄養因子の増加が観察された。また、加齢促進モデルマウスでは、記憶学習に関する行動が改善された。これらの結果は、シアリルラクトースの摂取が脳機能の維持、改善に効果がある事を示唆する。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the effect of sialyl-lactose on memory and elucidated the mechanism in rodents. Sialyl-lactose fed 24 months-old rats and senescence accelerated prone mice were decreased serum cholesterol level and increased brain dopamine, serotonin nerve growth factor levels. In addition, memory related behaviors were improved in sialyl-lactose fed senescence accelerated prone mice. These results suggested sialyl-lactose has the maintenance effect on memory in old age.

研究分野：栄養学

キーワード：シアリルラクトース

1. 研究開始当初の背景

本研究にて注目した成分のシアル酸は N-アセチルノイラミン酸を含有するノイラミン酸のファミリーネームであり、炭素数 9 の酸性単糖である。生体内では糖脂質、糖たんぱく質、糖ペプチド等の糖鎖の一部として存在する。母乳、特に初乳に高濃度で含まれており、脳の成長、病原微生物による感染防御にとっても重要な役割を果たしている。これら成分を含んだ糖脂質の 1 つであるガングリオシドは神経系や脳内に高濃度で存在するため、脳の発達や学習能力に関連していると考えられている。シアル酸の経口投与及び腹腔内投与でラットの脳ガングリオシド中のシアル酸量が増加し、腹腔内投与においては学習機能が上昇したという報告もある。また、ガングリオシドはシアル酸の結合数や構造によって様々な種類が発見されており、脳ガングリオシドは加齢に伴い組成が変化することが報告されている。

上述したようにシアル酸は初乳中に多く含まれ、脳神経の発育に関与していることから、出生直後から若齢期における神経成長をターゲットとした研究が進められてきたため、成熟期に焦点を当てたシアル酸に関する研究はほとんど進められていない。これまでに我々は、成熟ラットを対象にしたシアル酸を飼料に混合し健常成熟ラットに 14 日間自由摂取させることで記憶学習能力が向上することを、行動学的手法を用いて明らかにした。本研究課題では、ガングリオシドの構成成分となるシアル酸の摂取が、記憶学習能力に影響を及ぼすそのメカニズムの解明を目的とする。本申請課題では、成熟期に加え高齢期を対象とした研究に取り組むことで、脳神経成熟期から機能低下期までの、乳中脂質摂取による脳機能の向上・維持効果を段階的に評価する。

本研究課題では、栄養学的見地からシアル酸またはスフィンゴミエリンの作用の解明に取り組む。そこで、シアル酸に関しては主な摂取源のひとつである乳に注目し、乳中に存在するラクトース抱合体であるシアリルラクトースの摂取実験を検討する。

2. 研究の目的

【動物実験】本実験では、シアリルラクトースを栄養学的見地から解析する事を目的とするため、経口摂取した時の効果・影響を調べる事が重要である。したがって、SL・SM を経口的に摂取した時の消化・吸収および組織への取り込みを考慮した実験を行う。

まず始めに、成熟期のラットにシアリルラクトースを単回経口投与した時の、血中のシアリルラクトースの変動およびその他の脂質量の変動を明らかにする。次に、シアリルラクトースを飼料に添加し、ラットに中・長期間自由摂取させた時の血中および脳組織の脂質量、脂質成分の変化を明らかにする。加えて、記憶学習能力を中心とした脳高次機能に関連する項目(ガングリオシド濃度、神経伝達物質濃度、神経栄養因子 mRNA 発現量、神経栄養因子タンパク量等)の変化を明らかにする。

次に、高齢期のラットを対象に実験を行う。上述の実験で使用するラットは成熟期に移行したラットであり、脳神経活動についても盛んな時期である。本検討では、成熟期から高齢期に移行したラット、すなわち脳神経活動の低下期におけるシアリルラクトース摂取の影響を観察する。

以上の実験から、消化・吸収を含めた栄養学的な見地からみるシアリルラクトースの脳神経細胞の形態・機能に与える影響を観察する。加えて、シアリルラクトースが高齢期(脳神経活動の低下期)の脳機能へ与える影響を評価する。

3. 研究の方法

(1) シアリルラクトースの継続摂取による血中脂質代謝への影響と神経栄養因子への影響について

シアリルラクトース 1% を、AIN-93 組成を基準とした飼料に添加し、6 週齢のオス Wistar ラットに 14 日間自由摂取させた時の摂食量および体重変化を観察した。対照群は、

AIN-93 組成の混合資料を 14 日間自習摂取させた。ラットは、1 ケージに 1 匹飼育とし、12 時間の明暗サイクルで室温と湿度の管理された部屋で飼育した。14 日間のシアリルラクトース添加食摂取後に、ラットの組織を摘出し、血中のトリアシルグリセロール、コレステロールリン脂質およびシアル酸量を測定した。加えて、脳組織を抽出し、脳内神経伝達物質量の測定、神経栄養因子 NGF の mRNA 発現量およびタンパク質発現量を測定した。

(2) 高齢ラットおよび加齢促進マウスを用いたシアリルラクトースの継続摂取による血中脂質代謝への影響と神経栄養因子への影響について

シアリルラクトース 1 % を、AIN-93 組成を基準とした飼料に添加し、24 週齢のオス Wistar ラットに 14 日間自由摂取させた時の摂食量および体重変化を観察した。対照群は、AIN-93 組成の混合資料を 14 日間自習摂取させた。ラットは、1 ケージに 1 匹飼育とし、12 時間の明暗サイクルで室温と湿度の管理された部屋で飼育した。14 日間のシアリルラクトース添加食摂取後に、ラットの組織を摘出し、血中のトリアシルグリセロール、コレステロールリン脂質およびシアル酸量を測定した。加えて、脳組織を抽出し、脳内神経伝達物質量の測定、神経栄養因子 nerve growth factor (NGF) の mRNA 発現量およびタンパク質発現量) の変化を測定した。

また、加齢促進マウスである SAMP-8 系マウスを用い、上述のラットを用いた実験と同様の実験系に加え、記憶学習行動試験を実施した。記憶学習行動試験は、動物へのストレスが伴わない実験系である新規物質探索行動試験を用いた。加えて、自発行動量の観察をオープンフィールドテストで行った。行動実験は食餌摂取 14 日後から 3 日間実施し、行動実験中も引き続き試験食を摂取させた。

試験群は、シアリルラクトースを摂取する SAMP-8 群と、コントロール食を摂取する SAMP-8 群および、健常マウスである SAMR1 群の 3 群を設けた。

4 . 研究成果

(1) 6 週齢ラットへの 14 日間のシアリルラクトース添加食摂取では、コントロール食と比較して、食餌摂取量および体重変化量には優位な変化は観察されなかった。14 日間のシアリルラクトース摂取により、血中のトリアシルグリセロール濃度およびシアル酸濃度には有意な変化は観察されなかったが、コレステロール濃度の有意な低下およびリン脂質濃度の低下傾向が観察された。次に脳内神経栄養因子濃度を測定したところ、大脳皮質および海馬の NGF 濃度には有意な差は観察されなかった。神経伝達物質の測定では、大脳皮質セロトニン濃度および線条体ドーパミン濃度の有意な増加が観察された。

(2) 24 ヶ月齢ラットへの 14 日間のシアリルラクトース添加食摂取においても 6 週齢ラットを用いた時と同様に、コントロール食と比較して、食餌摂取量および体重変化量には優位な変化は観察されなかった。14 日間のシアリルラクトース摂取により、血中のトリアシルグリセロール濃度およびシアル酸濃度には有意な変化は観察されなかったが、コレステロール濃度およびリン脂質濃度の低下傾向が観察された。次に脳内神経栄養因子濃度を測定したところ、大脳皮質および海馬の NGF 濃度には有意な差は観察されなかった。神経伝達物質の測定では、大脳皮質のドーパミン及びセロトニン濃度の有意な増加、線条体ドーパミン濃度の有意な増加および海馬、視床下部でのセロトニン濃度の有意な増加が観察された。

8 週齢の加齢促進マウス SAMP8 への 14 日間のシアリルラクトース添加食摂取においてもラットを用いた時と同様に、コントロール

食と比較して、食餌摂取量および体重変化量には優位な変化は観察されなかった。14日間のシアリルラクトース摂取により、血中のトリアシルグリセロール濃度およびシアル酸濃度には有意な変化は観察されなかったが、コレステロール濃度の有意な増加および、リン脂質濃度の低下傾向が観察された。次に脳内神経栄養因子濃度を測定したところ、大脳皮質の NGF 濃度に有意な増加が観察された。神経伝達物質の測定では、大脳皮質のドーパミン及びセロトニン濃度の有意な増加および海馬でのセロトニン濃度の有意な増加が観察された。また、記憶学習行動試験において、コントロール食摂取 SAMP8 群の記憶学習行動は低い値を示したが、シアリルラクトース摂取 SAMP8 群の結果は、健常マウスの SAMR1 群と同等の値を示した。

今回の実験では、1%のシアリルラクトース添加食による実験を行ったが、若齢、高齢ラットの実験および加齢促進マウスを用いた実験のいずれにおいてもコントロール食群と比べ、有意な食事摂取量の変化や体重増加量の変化は観察されなかった。これらの結果は、1%のシアリルラクトースの添加では、摂食行動の変化および、エネルギー代謝には影響を及ぼさないことが示唆された。

血中の脂質成分分析では、シアリルラクトースの摂取により、若齢、高齢ラットの実験および加齢促進マウスを用いた実験において、コレステロール濃度およびリン脂質濃度の低下が観察された。この結果は、シアリルラクトースの摂取がリポ蛋白質の代謝に影響を及ぼす事が推測される。一方で、血中の脂質動態の変化と脳機能に及ぼす影響との関連性は明らかではなく、今後の検討課題である。

脳内神経栄養因子 NGF の測定では、若齢、高齢ラットの実験および加齢促進マウスのうち、加齢促進マウスにおいて大脳皮質の NGF 濃度の増加が観察された。今回行った 1%

のシアリルラクトースの摂取では明確な変化ではないものの、シアリルラクトースの摂取によって神経栄養因子の分泌を促進する可能性が考えられる。

神経伝達物質の測定では、若齢、高齢ラットの実験および加齢促進マウスにおいて、それぞれで部位は異なるものの、大脳脂質や海馬など記憶学習に関する脳部位において神経伝達物質であるドーパミン、セロトニン濃度の変化が観察された。これらの神経伝達物質は主に情動行動やストレス応答、自律神経に関する物質であるが、これらの神経伝達物質の変化は脳神経活動の何らかの変化に伴う可能性がある事が示唆される。

今回の研究では、これまでに我々の研究で観察されたシアリルラクトース摂取による記憶学習能の向上効果の作用機序の解明を試みた。今回の研究ではシアリルラクトースの摂取によって、いくつかの変化が観察され、特に加齢促進モデルマウスの記憶学習能改善効果も観察されたが、記憶学習能との関連性を解明するには、シアリルラクトースの摂取方法や量の検討や、摂取したシアリルラクトースの動態観察等の解析などが必要だと考える。しかしながら、高齢期におけるシアリルラクトースの摂取が記憶学習能の維持・改善に効果を持つ可能性が期待された。

5. 主な発表論文等

〔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

山田 貴史 (YAMADA, Takashi)
名古屋経済大学・人間生活科学部・准教授
研究者番号: 50531860