

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K18402

研究課題名(和文)食中脂肪酸による情動・うつ様行動修飾の末梢-中枢神経回路メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of the neural circuit mechanism of antidepressant-like effect of dietary polyunsaturated fatty acids

研究代表者

山田 大輔 (Yamada, Daisuke)

東京理科大学・薬学部薬学科・助教

研究者番号：10621302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、食事に含まれる 3と 6という二種類の多価不飽和脂肪酸の量比(3:6値と呼ぶ)がうつ様行動に与える影響を検討した。対照餌および、より多く 3を含む高3:6値餌をマウスに給餌し、強制水泳試験によってマウスのうつ様行動を評価した。その結果、高3:6値餌給餌マウスでは対照マウスに比べうつ様行動が減少した。また、高3:6値餌により、うつ病との関連が示唆されている脳領域・側坐核でドパミン関連物質が増加し、ドパミン受容体アンタゴニストを投与すると高3:6値餌の抗うつ様作用は消失した。これらの結果は、多価不飽和脂肪酸の抗うつ様作用には側坐核のドパミン神経が関与する可能性を示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで不明なまま残されていたオメガ3多価不飽和脂肪酸(3 PUFA)経口摂取による抗うつ様作用の神経メカニズムの一端が明らかとなった。特に側坐核を中心とした神経回路がドパミン神経系を介して活性化されることを示唆する結果を得た。また、 3 PUFAの抗うつ様作用は、申請者の先行研究恐怖記憶とは異なり、 3と 6の量比ではなく 3含量によって調節されることが明らかとなった。本研究の成果は、これまで根拠に乏しかった 3 PUFAを含むサプリメントが脳機能に影響を与える作用メカニズムについての科学的根拠を示すものであり、学術的のみならず社会的な意義も大きいものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The present study examined the effect of dietary intake of omega3 (3) polyunsaturated fatty acids (PUFA)s on depression-like behavior and the relevant neural circuit in the brain in mice.

Mice fed a diet rich in 3 PUFAs showed shorter immobility time in the forced swim test (FST) than mice fed a control diet. We also found that dopamine and its metabolites increased in the nucleus accumbens (NAc) in mice fed the diet rich in 3 PUFA when compared with mice fed the control diet. Notably, the effects of the diet rich in 3 PUFA on the immobility time in the FST were abolished by microinjection of dopamine receptor antagonists and cannabinoid CB1 receptor antagonist into the NAc.

These results suggest that modulation of the VTA-NAc dopaminergic pathway is one of the mechanisms by which the diet rich in 3 PUFAs reduces the immobility behavior in the mouse FST.

研究分野：神経科学

キーワード：多価不飽和脂肪酸 うつ様行動 ドパミン 側坐核 腹側被蓋野

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心身の健康は健全で意欲的な生活を営むための基盤として不可欠である。そして健康を保つための基本的な要素として食事は重要である。この観点から、研究代表者はげっ歯類を対象に『食事から摂取する栄養素が脳機能に与える影響とその作用機序の解明』を目指して研究を行ってきた。

多価不飽和脂肪酸 (Polyunsaturated fatty acid: PUFA) は、細胞膜の脂質二重層のリン脂質を構成する脂肪酸のうち約 35% を占める。そして、細胞膜 (脳内の神経細胞膜も含む) の脂肪酸組成は摂取する脂肪酸組成を反映して変動することが知られている。PUFA は主に ω 3系、 ω 6系の二種類に分けられる。ヒトを対象とした臨床研究・疫学研究やげっ歯類を用いた基礎研究において、 ω 3 PUFA と情動性の関連を示唆する報告が多くなされているものの、その作用メカニズムについてはほとんど不明なまま残されている。

我々は先行研究において、 ω 6系との関連性にも注目し、餌中および脳内の ω 3、 ω 6という二種類の PUFA の量比 (以下 3:6 値と記す) が、恐怖記憶の程度と逆相関することを見出した (たとえ ω 3を多く摂取しても、 ω 6を多く摂取すると恐怖記憶の抑制作用が消失する)。そしてそのメカニズムとして、脳内シナプス伝達のフィードバック抑制システムとして機能するカンナビノイドシステムが、情動中枢である扁桃体内で増強していること (CB1 受容体の活性が増強) さらに CB1 受容体の活性増強は、PUFA 摂取による細胞膜中のコレステロール量の調節によって実現されるという新規メカニズムを提唱した。

2. 研究の目的

青魚消費量とうつ病罹患率には逆相関関係があるなど、 ω 3 PUFA (青魚に豊富に含まれる) がヒト・げっ歯類のうつ様症状に関係することは古くから知られていたものの、上記恐怖記憶のような作用機序は不明であった。そこで本研究では、我々の先行研究で得た知見を基に、脳内ドパミン系・カンナビノイド系に着目し、不飽和脂肪酸バランスがうつ様行動に関わる神経回路を修飾するメカニズムを解明することを目的として研究を行なった。

3. 研究の方法

ω 3 PUFA を多く含み ω 6 含量が少ないオキアミ油 (krill oil) を混合した krill 餌 (3:6 値 = 0.96) と、 ω 3 は少なく ω 6 を多く含む大豆油を混合した control 餌 (3:6 値 = 0.14) を 2~6 週間給餌した後、強制水泳試験によりマウスのうつ様行動を評価した。

うつ様行動の制御にも恐怖記憶と同様に餌中 3:6 値が影響するのかどうかを明らかにするため、krill 餌と同量の ω 3 PUFA を含む餌に ω 6 PUFA のリノール酸 (LA) を添加し、3:6 値を低下させた krill+LA 餌 (3:6 値 = 0.32) を 6 週間給餌して強制水泳試験を行なった。

krill 餌に使用したオキアミ油に多く含まれる ω 3 PUFA のうち、ヒトうつ病患者血中で減少していることが知られているエイコサペンタエン酸 (EPA) の抗うつ様作用を検討するため、 ω 3 PUFA として EPA のみを含む EPA 餌 (3:6 値 = 1.03) を 6 週間給餌して強制水泳試験を行なった。

krill 餌摂取の効果がどれほど持続するのかを確かめるため、6 週間の krill 餌給餌後に control 餌に切り替えて 4 週間飼育したマウスで強制水泳試験を行った。

うつ様行動との関与が報告されている脳内モノアミン量を HPLC によって定量した。

上記検討から示唆された脳内メカニズムを検討するため、ドパミン D1 受容体、D2 受容体のアンタゴニストを脳内局所投与し強制水泳試験を行った。

krill 餌による恐怖記憶制御に関与するカンナビノイド CB1 受容体のアンタゴニストを投与した 30 分後

に強制水泳試験を行った。

その他、情動行動以外の記憶学習機能に対する高 3:6 値餌の影響を確認するため、同様に 6 週間の給餌を行なった後、空間記憶 (パーズ迷路試験におけるゴール到達時間)、社会性記憶 (3 チャンバー試験における他個体への接触時間) についても検討を行った。

4. 研究成果

krill 餌を 4 週間、6 週間給餌マウスでは control 餌摂取マウスに比べて、うつ様行動の評価系として頻用される強制水泳試験において無動時間が顕著に短縮した。また、試験中のマウス行動を swimming と climbing に分けて解析したところ、顕著な climbing 行動の増加が認められた (図 1)。

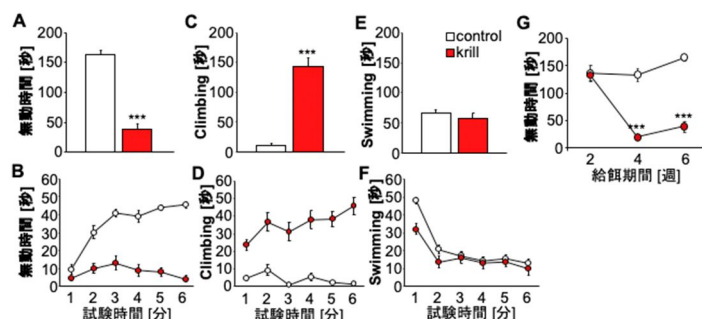


図1 krill餌摂取による抗うつ様作用 強制水泳試験における無動時間 (A-B), Climbing時間 (C-D), Swimming時間 (E-F), および給餌期間の影響 (G)

krill 餌に $\omega 6$ PUFA のリノール酸を加えた krill+LA 餌を摂取した場合でも、krill 餌給餌と同程度に無動時間が短縮した (図 2A)。EPA 餌給餌マウスでは、krill 餌給餌マウスと異なり、無動時間の短縮が見られなかった (図 2B)。

krill 餌給餌による抗うつ様作用は、krill 餌給餌を中止後 4 週間で消失した。

krill 餌による抗うつ様作用の脳内メカニズムを明らかにするため、うつ様行動との関連が報告されている扁桃体、海馬、内側前頭前野、側坐核におけるモノアミンとその代謝物を定量したところ、側坐核においてのみ、ドパミンおよびその代謝物の量が増加または増加傾向を示した。一方、セロトニンとノルアドレナリン量は側坐核を含め検討した全ての脳領域において変化は認められなかった (図 3)。

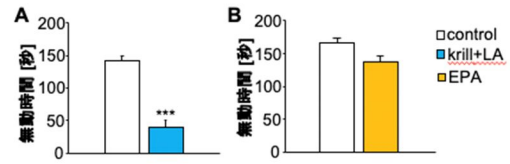
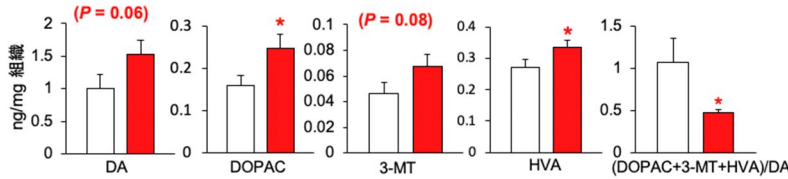
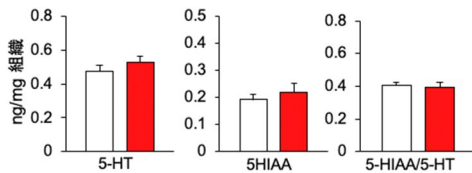


図2 (A) krill+リノール酸(LA)餌および(B) EPA餌摂取による抗うつ様作用 それぞれ強制水泳試験においてマウスが示す無動時間をあらわす。

A ドパミン



B セロトニン



C ノルアドレナリン

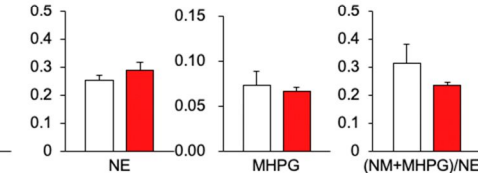


図3 krill餌摂取による側坐核内モノアミン量の変化

(A) ドパミンおよびその代謝物量。(B) セロトニンおよびその代謝物量。(C) ノルアドレナリンおよびその代謝物量。

以上の結果を受けて、krill 餌の抗うつ様作用に側坐核内ドパミン神経系が関与する可能性を検討した。

ドパミン D1 様受容体アンタゴニスト (SCH23390) \ D2 様受容体アンタゴニスト (Sulpiride) をそれぞれ強制水泳試験の 30 分前に投与したところ、皮下投与および側坐核内への微小投与いずれにおいても krill 餌摂取による無動時間の短縮が消失した (図 4A, B)。

さらに、申請者は先行研究において、krill 餌給餌によって生じる恐怖記憶の減弱には扁桃体内カンナビノイド CB1 受容体の活性化を介した興奮性シナプス伝達の抑制が関与することを報告している。

そこで、本研究で見出した krill 餌の抗うつ様作用にも CB1 受容体が関与する可能性を検討した。その結果、強制水泳試験の 30 分前に CB1 受容体アンタゴニスト AM251 を投与したマウス (krill+AM) では、溶媒を投与したマウス (krill+VEH) で見られる無動時間の短縮が消失した (図 4C)。

これまでに検討した恐怖記憶やうつ様行動は、一般に負の情動性行動と考えられており、恐怖記憶は情動性記憶の一つに分類される。一方、情動性を伴わないその他の行動についての krill 餌の作用については検討されておらず不明であった。そこで情動性記憶との対比として、空間記憶および社会性記憶についても検討を行なった。その結果、krill 餌摂取マウスは空間学習および記憶の保持において control 餌摂取マウスと同程度の成績を示した (図 5A, B)。また、以前に会ったことがある既知個体と、会

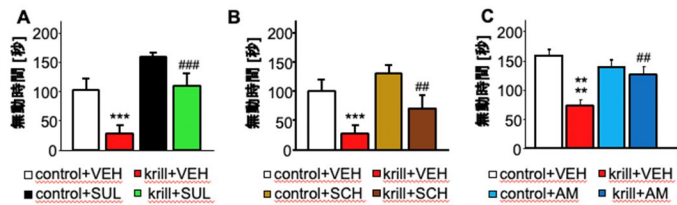


図4 krill餌による抗うつ様作用におけるドパミン受容体とカンナビノイド受容体の関与 (A) D2様受容体アンタゴニストSulpiride (SUL), (B) D1様受容体アンタゴニストSCH23390 (SCH), および (C) CB1受容体アンタゴニストAM251 (AM)投与後の強制水泳試験における無動時間

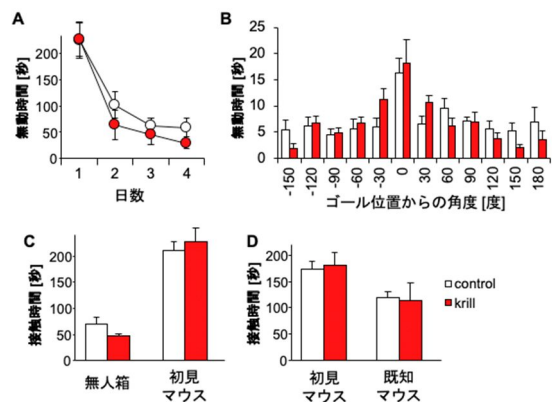


図5 krill餌摂取による空間記憶と社会性記憶への影響

(A) バーンズ迷路で学習曲線=ゴール到達時間の時間経過。(B) 空間学習(4日間)後の記憶試験の結果。(C-D) 無人、初見マウス、既知マウスが入った箱に対する接触・探索時間。

たことがない初見個体に対する接触時間を指標として解析したところ、krill 餌摂取マウス、control 餌摂取マウスとも同程度の成績を示した (図 5C, D)。以上の結果から、少なくとも本研究で用いた $\omega 3$ PUFA 量では、空間記憶、社会性記憶いずれにも影響しないことが明らかとなった。

以上の結果から、krill 餌摂取による抗うつ様作用は以下の特徴を示すことが明らかとなった。すなわち、4 週間以上の持続的摂取が必要であること、恐怖記憶とは異なり (餌に含まれる $\omega 3$ PUFA と $\omega 6$ PUFA の量比に依存せず) $\omega 3$ PUFA 含量によって調節されること、餌中の EPA 由来の作用ではないこと、抗うつ様作用を得るためには krill 餌を摂取し続ける必要があること、側坐核内のドーパミン量および代謝を増加させ、側坐核内ドーパミン受容体を介すること、カンナビノイド CB1 受容体を介すること、そして最後に空間記憶、社会性記憶には影響しないことである。

今後、krill 餌摂取が側坐核へ投射する腹側被蓋野のドーパミン神経に与える影響、また CB1 受容体活性化がいずれの脳領域で生じるのか等、より詳細な検討が必要と考える。腹側被蓋野内のドーパミン神経は、同領域内の GABA 性介在神経による抑制を受けること、また CB1 受容体はこの GABA 性介在神経に発現していることが知られている。このことから、たとえば krill 餌摂取によって腹側被蓋野内 GABA 性介在神経上の CB1 受容体が活性化されると、GABA 放出が抑制され、ドーパミン神経の脱抑制がおこるため、ドーパミン神経から投射を受ける側坐核内において、ドーパミン量が増加する可能性は十分に考えられる。

本研究の成果は、うつ様行動に対する多価不飽和脂肪酸の作用に腹側被蓋野から側坐核へのドーパミン神経投射の賦活が関与する可能性を示しており、多価不飽和脂肪酸の抗うつ様作用のメカニズムとして新たな知見を加えるものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takeuchi Eri, Yamada Daisuke, Suzuki Satoshi, Saitoh Akiyoshi, Itoh Masayuki, Hayashi Takashi, Yamada Mitsuhiro, Wada Keiji, Sekiguchi Masayuki	4. 巻 15
2. 論文標題 Participation of the nucleus accumbens dopaminergic system in the antidepressant-like actions of a diet rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0230647 1-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0230647	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山田大輔、和田圭司、関口正幸
2. 発表標題 多価不飽和脂肪酸バランスによる情動神経回路の修飾メカニズム
3. 学会等名 下総薬理研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田大輔
2. 発表標題 多価不飽和脂肪酸バランスによる情動神経回路の修飾メカニズム
3. 学会等名 東京理科大学脳学際研究部門BIRD脳科学セミナー
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----