

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：14602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K20114

研究課題名（和文）幼少期の“食”が生育後の行動および中枢神経系に及ぼす影響とその分子基盤の解明

研究課題名（英文）Long-term effects of "food" in childhood on post-growth behavior and the central nervous system

研究代表者

萬成 誉世（Mannari, Takayo）

奈良女子大学・大和・紀伊半島学研究所・協力研究員

研究者番号：90805128

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：幼少期における“食”は、身体の発達や食習慣の獲得等に重要であるが、脳の発達にも非常に重要な役割を担っている。そこで本研究では、幼少期における食が生育後の行動や中枢神経系に及ぼす影響について研究を行う。特にレトルトパウチ食品の殺菌方法に用いられている加圧加熱処理（121℃、20分）を行ったタンパク質（A-SPI）を離乳後から実験動物に長期間摂取させ、Three-chamber social test等の行動試験を行い、生育後の影響を検討した。A-SPI群では、社会性行動の異常を確認した。また、社会性行動の調節に関与が知られるセロトニン量が血中において低下がみとめられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

飽食の時代である現代において、「何をどれだけ食べるのか」という問いは、我々にとって非常に重要な課題である。市販されている離乳食にも使用される加圧加熱処理食品は、幼児期から長期的に摂取する可能性が高い。本研究の成果は、幼児期からの加圧加熱処理タンパク質の長期摂取が潜在的なトリプトファン欠乏を引き起こし、社会性行動の異常を明らかにした。これらの結果は、現代社会における食の安全性や摂取方法を考える上で非常に重要な知見である。

研究成果の概要（英文）：Autoclave sterilization is a common food processing technique to increase shelf life of foods. However, there is a paucity of data on the implications of long-term intake of autoclaved foods on health. In this study, we hypothesized that long-term intake of autoclaved protein after weaning until adulthood affects social behaviors. Four-week-old C57BL/6J mice received experimental diet containing 20% by weight of autoclaved soy protein isolate (A-SPI). These mice were subjected to behavioral tests including the three-chamber social test. Plasma tryptophan (TRP) and serotonin concentrations were measured. A-SPI showed impaired social novelty recognition, while there were no significant differences in sociability. Plasma concentrations of TRP and serotonin in A-SPI was significantly lower than those in NA-SPI. Thus, autoclaving treatment of SPI decreases bioavailability of TRP and causes TRP-deficiency-like symptoms in mice despite intake of adequate amounts of TRP in protein.

研究分野：食品栄養学、脳神経科学

キーワード：加圧加熱処理 トリプトファン セロトニン 社会性行動 幼少期の食環境

1. 研究開始当初の背景

我が国では、主食の米を中心としたタンパク質・脂質・炭水化物のバランスが取れた食事が取られてきた。しかし近年、食の欧米化が加速し、脂質の摂取量が増え、逆に炭水化物の摂取量が年々減少している。また、加工技術等の発展により様々な加工食品が開発され、我々が口にする食品の種類の多様化もみられる。幼少期の食事は、自ら食事を選択することが難しいため、保育者の食習慣の影響を非常に受けやすい。そのため、こういった食の変化は、大人だけの問題ではなく、子どもの“食”にも大きく影響を及ぼしている。「三つ子の魂百まで」ということわざがあるように、幼少期における“食”は、味覚の形成や食習慣の形成に大きく関わり、幼少期の食の乱れは、肥満や生活習慣病発症の引き金となり、一生涯の健康に影響を及ぼすと考えられている (Mossberg et al., Lancet., 1989)。また、幼少期は、離乳食を経て、乳汁以外の食物から栄養を摂取するようになり、栄養面や食の形態など、様々な“食”を通じた変化が起こる時期である。この“食”の変化に伴い、消化酵素の増加など消化機能の発達が起こるだけでなく、脳内においても神経細胞数の増加が生じている (Miyata et al., Exp.Anim., 2009)。このように、幼少期は栄養や摂食行動の大きな変化に伴って、細胞の発現や神経回路の編成が起こり、脳の発達に非常に重要な時期であることが示唆され、この時期の脳の発達を通じ、その後の行動に影響を及ぼすことが考えられる。そのため、「何をどれだけ食べるのか」という食の選択は、飽食の時代にいる我々にとって、非常に重要な問いである。

2. 研究の目的

上記で述べたように、食の変化に伴う発達の過渡期にある幼少期に経験した“食”は、脳内において、神経細胞や受容体等の発現を変化させ、それにより行動や心の基礎を形成することで、生涯にわたって影響を及ぼすことが考えられる。そのため、幼少期の偏った食環境は、一生涯の健康を害する可能性がある。しかし、幼少期における“食”と生育後の性格特性やストレスに対する応答、精神疾患の発症等に及ぼす影響については、その分子基盤を含め、未だ明らかになっていない。本研究では、先行研究の過程において、レトルトパウチ食品の殺菌方法などに用いられている加圧加熱処理を行ったタンパク質に注目した。加圧加熱処理では、加熱処理条件に加圧条件が加わることで、通常の加熱処理とは異なるメカニズムで対象物が変性するため、タンパク質構造に与える物理的影響が大きく、タンパク質中に何らかの変化が生じる可能性が高いことが推察される。そのため、加熱処理よりも食品中の栄養素に及ぼす影響は大きいと考えられる。そこで、加圧加熱処理を行ったタンパク質を含む飼料を作製し、実験動物(マウス)に幼児期から摂取をさせた。生育後に行動試験を実施し、幼少期に経験した“食”が生育後の不安様行動や鬱様行動、摂食行動に及ぼす影響について、分子基盤から行動レベルまでの関連を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

加圧加熱処理タンパク質は、食品加工の場で高頻度で使用されている分離大豆タンパク質を 121、20 分間オートクレーブ処理したもの (Autoclaved Soy Protein isolate: A-SPI) を供した。同様の処理でオートクレーブ未処理のもの (Non Autoclaved-Soy Protein isolate: NA-SPI) を対照とした。米国国立栄養研究所 (AIN) の標準精製飼料 AIN-93G をもとに A-SPI または NA-SPI を 20% 含む飼料 (表 1) を作製し、雄性 C57BL6/J マウスに 4 週齢より摂取させた。9 週齢以降に、オープンフィールド試験、高架十字迷路試験、物体認識試験、Three chambers 社会性テストを行い、不安様行動や社会性行動などへの加圧加熱処理タンパク質摂取の影響を評価した。また、社会性行動に関係すると報告されているセロトニンおよび前駆物質であるトリプトファンの血中含量量についても調べた。

表 1

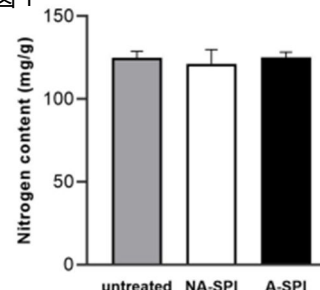
	%	NA-SPI	ASPI
Cornstarch		39.7486	39.7486
NA-SPI		20	-
A-SPI		-	20
α-cornstarch		13.2	13.2
Sucrose		10	10
Soybean oil		7	7
Cellulose		5	5
Mineral mixture (AIN-93G-MX)		3.5	3.5
Vitamin mixture (AIN-93G-VX)		1	1
Choline tartrate		0.25	0.25
L-cystine		0.3	0.3
t-Butylhydroquinone		0.0014	0.0014
Total		100	100

4. 研究成果

(1) 飼料中の窒素含有量および摂取後の体重について

加圧加熱処理したタンパク質について、ケルダール法を用いて窒素含有量を測定したところ、各群に有意な差はなく、加圧加熱処理によってタンパク質含有量の変化は認められなかった (図 1)。また、これら A-SPI および NA-SPI を含む飼料を摂取させたマウスにおいて、各群において体重や体重増加率には有意な差は認められなかった。

図 1

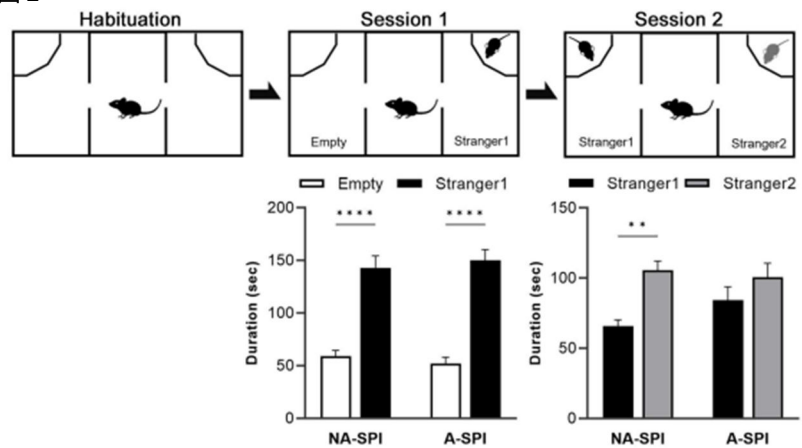


(2) 不安様行動および物体認識、社会性行動への影響について

4週齢より A-SPI および NA-SPI を摂取させ、9週齢以降において、不安様行動の評価としてオープンフィールド試験及び高架十字迷路試験を行った。その結果、オープンフィールド試験における中央滞在時間や総移動距離には有意差はみられなかった。また、高架十字迷路試験においても、オープンアームの滞在時間や総移動距離に有意な差はみられず、A-SPI 摂取による不安様行動への影響は認められなかった。

また、物体に対する探索行動や物体の認識・記憶能力について、物体認識試験を用いて評価を行った。その結果、各物体への探索時間や総移動距離、また物体の認識・記憶能力についても有意な差は認められなかった。

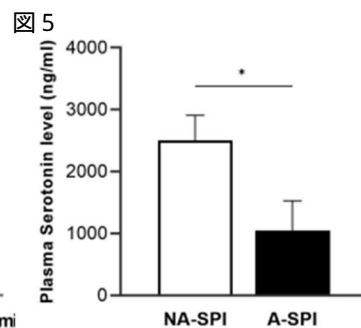
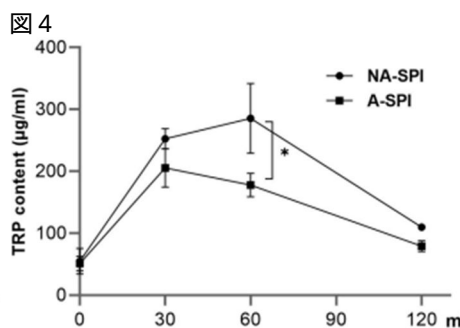
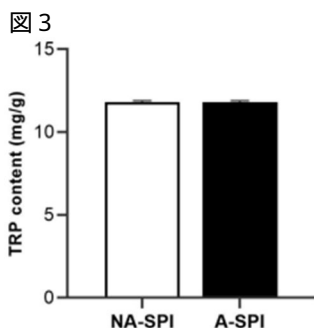
次に、社会性行動への影響について、Three chambers 社会性テストを用いて評価を行った(図2)。その結果、Session 1 では、両群とも空ケージよりも新奇マウス (Stranger 1) の入ったケージを長く探索し、両群に有意な差は認められなかった。しかし、Session 2 では、Session 1 で一度であった Familiar マウス (Stranger 1) と Session 2 で初めて出会う新奇マウス (Stranger 2) を提示したところ、NA-SPI 群では有意に Stranger 2 への探索時間が長いのに対し、A-SPI 群では Stranger 1、2 への探索時間の差がみられなかった。Three chambers 社会性テストにおける Session 1 では、他者に対する関心度合を指標とし、社交性を評価する一方、Session 2 では、一度接触した経験のある Familiar マウスと新奇マウスとの接触割合を指標とし、社会的な記憶や認知機能が関わるとされる(Oskana et al., 2011)。今回の結果において、Session 1 では有意な差が見



られず、Session 2 のみで A-SPI の影響が見られたことから、加圧加熱処理をした分離大豆タンパク質を長期摂取することにより、社会的認知や社会的記憶が関わる社会性行動 (Social novelty) に影響を及ぼすことが示唆された。上記の物体認識試験では、物体の記憶や認知機能には影響は認められなかったため、幼少期からの A-SPI の長期摂取は、社会性行動へ影響を及ぼすことが示唆された。

(3) 血中セロトニンおよびトリプトファン量について

脳内におけるセロトニンには、社会性行動の制御に関わることが報告されている (Simon N. Young, 2013)。セロトニンは、必須アミノ酸であるトリプトファン (TRP) から合成される。先行研究により、トリプトファンの一時的な欠乏は、社会性行動に影響を及ぼすことが報告されており (Simon N. Young, 2013)、社会性行動とトリプトファン、セロトニンの欠乏の関係が明らかとなっている。そこで、幼少期からの A-SPI の長期摂取による血中セロトニンおよびトリプトファン量について測定を行った。まず、高速液体クロマトグラフィーを用いて、アミノ酸分析を行い、飼料中に含まれる TRP 量を測定したところ、飼料中の TRP 含有量に両群で有意な差は認められなかった (図3)。しかし、絶食したマウスに A-SPI および NA-SPI を胃内投与し、投与後の血中 TRP 量を測定したところ、60 分後における血中 TRP 値が有意に低値を示した (図4)。また、幼少期から A-SPI を長期摂取させたマウスでは、有意に血中セロトニン量の低下が認められなかった。このことより、加圧加熱処理により A-SPI 中の TRP は体内に取り込みにくく、TRP 欠乏が生じている可能性が示唆された。



上記の結果より、加圧加熱処理したタンパク質の摂取は、潜在的な TRP 欠乏を引き起こし、幼少期からの長期的な摂取によりセロトニンの減少が生じ、社会性行動の異常を引き起こすこ

とが示唆された。加圧加熱処理の幼少期からの長期的摂取による脳内セロトニンの発現等については現在検討中であるが、社会性行動の異常を引き起こすメカニズムについては、さらなる検討が必要である。またこれらの結果は、TRPに限らず、その他のアミノ酸や栄養素においても潜在的な欠乏を引き起こしている可能性も考えられる。そのため、加圧加熱処理による食品への影響やそれらを長期的に摂取することによる個体への影響について詳細な検討が必要であると考える。

<引用文献>

H O Mossberg. 40-year follow-up of overweight children. *Lancet*. 1989 Aug 26;2(8661):491-3.

Tohru Miyata, Yuji Minai, Minoru Haga. Association of the suckling-weaning transition with development of the hypothalamic arcuate nucleus neurons in rat pups. *Exp Anim*. 2009 Jan;58(1):61-6.

Simon N Young. The effect of raising and lowering tryptophan levels on human mood and social behaviour. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2013 Feb 25;368(1615):20110375.

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）

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 萬成 誉世、山田 真実、浅井 智子、西 真弓、佐藤 健司、高村 仁知
2. 発表標題 加圧加熱処理した大豆タンパク質の長期摂取による社会性行動への影響
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浅井 智子、萬成 誉世、山田 真実、高村 仁知、佐藤 健司
2. 発表標題 分離大豆タンパク質のアミノ酸残基に対する加圧加熱処理の影響
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 萬成 誉世、山田 真実、浅井 智子、西 真弓、佐藤 健司、高村 仁知
2. 発表標題 加圧加熱処理した大豆タンパク質の長期摂取による社会性行動への影響
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 / CJK第1回国際会議（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 萬成-笹川 誉世、山田 真実、浅井 智子、佐藤 健司、西 真弓、高村 仁知
2. 発表標題 加圧加熱タンパク質が社会性行動に及ぼす影響
3. 学会等名 第47回日本神経内分泌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mami Yamada, Tomoko T. Asai, Takayo Mannari, Hitoshi Takamura, Kenji Sato
2. 発表標題 Effect of high temperature treatment on amino acid residues in soy protein isolate
3. 学会等名 19th World Congress on Nutrition and Food Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takayo Sasagawa-Mannari, Noriko Horii-Hayashi, Nozomi Endo, Mayumi Nishi
2. 発表標題 Effects of early life adverse experiences on the brain: implications from maternal separation in mice.
3. 学会等名 The 3rd Sino-Japan Symposium on the frontier of Behavioral Neuroendocrinology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浅井智子, 山田真実, 萬成 誉世, 高村 仁知, 佐藤 健司
2. 発表標題 加圧加熱処理後の分離大豆タンパク質中新規窒素化合物の検出と摂取後の血中移行
3. 学会等名 第26回日本フードファクター学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------