

機関番号：21301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20580222

研究課題名（和文） ドコサヘキサエン酸代謝体の虚血性脳・眼疾患における栄養機能と展開

研究課題名（英文） Protective effect of docosahexaenoic acid (DHA) on cerebral ischemia.

研究代表者

西川 正純 (NISHIKAWA MASAZUMI)

宮城大学・食産業学部・教授

研究者番号：90404839

研究成果の概要（和文）：海産由来の食品成分でありヒト脳内主要高度不飽和脂肪酸である n-3 系脂肪酸のドコサヘキサエン酸（DHA）について、虚血性脳・眼疾患に及ぼす影響を虚血性脳疾患モデルの 4 血管閉塞モデル、中大動脈結紮モデル、イボテン酸誘発認知症モデルで検討した。その結果、DHA は虚血性脳疾患発症時の神経細胞保護、並びに予後の遅延性の神経細胞死を抑制する可能性が示され、認知症予防等の栄養学的効果が期待できると考えられた。

研究成果の概要（英文）：We investigated the neuroprotective efficacy of docosahexaenoic acid (DHA), the most abundant omega-3 fatty acid in the mammalian brain and fish, in rats using single and repeated cerebral ischemia models, middle cerebral artery occlusion model, ibotenic acid-induced amnesic model. DHA, given between 21~30 days before ischemia, improved the memory and reduced infarct volume. From these results, it appears that DHA could provide neuroprotective activity and improve the spatial memory impaired by ischemia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産化学

キーワード：脂質、水産学、神経科学、生理活性、栄養学

1. 研究開始当初の背景

医療技術などの発達による寿命の延長は人類に幸福をもたらす一方、死因の約六割を占める癌、脳卒中、心臓病や、重い合併症をとともう糖尿病などの慢性疾患が増加するという新たな問題点を提起しつつある。特に脳卒中の代表格である虚血性脳疾患は、急性期の治療が良好に推移しても認知症や運動能力の低下などの後遺症をもたらすことが多いことから、長寿時代を迎えている現代では、慢性期の予後管理が重要であると考えら

れている。虚血性脳疾患は、急性期大量に放出されたグルタミン酸が受容体を活性化して急激な神経細胞死を招くが、慢性期の特徴として遅延性の神経細胞死が以前より認められており、その細胞死が形態学的にアポトーシス様細胞死に近いこと、アポトーシスの機序解明という観点から細胞内情報伝達を中心に研究が進められてきた。しかしながら、その発症から慢性期に到る詳細な過程、特に細胞外において、細胞膜から各種ホスホリパーゼ（PLA2、PLC）によって切り出される

アラキドン酸、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの高度不飽和脂肪酸の役割については未知な部分が多い。ドコサヘキサエン酸は中枢神経系、特に細胞膜に多く存在する脂肪酸であるが、各週動物試験において、ドコサヘキサエン酸 (DHA) の慢性投与が学習・記憶を向上させ、また学習・記憶のメカニズムとして有力な NMDA 受容体の反応性を促進し、シナプス伝達の長期増強を誘導するなどが報告されている。

2. 研究の目的

本研究ではドコサヘキサエン酸 (DHA) などの高度不飽和脂肪酸並びにその代謝体の役割、特に虚血性脳・眼疾患発症後に遅延性の神経細胞死を誘導するか保護するかについて明確に結論を導き、ドコサヘキサエン酸を含めた高度不飽和脂肪酸の栄養学的意義を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 4 血管閉塞モデルによる検討

虚血性脳疾患の評価系として藤原らが開発した両側椎骨動脈閉塞、両側総頸動脈を 10 分間虚血する単回虚血ラットモデル、並びに遅延性神経細胞死の評価系として 10 分間の 2 回繰り返し虚血する反復虚血ラットモデルを用い、空間認知障害を誘発した。また、20 分間の単回虚血による運動障害に対する影響を Rota-rod 法で検討した。ドコサヘキサエン酸 (DHA) は虚血性脳疾患の予防効果の試験では虚血処置前に 400mg/kg の用量で 30 日間経口投与し、Vehicle は生理食塩水とした。治療効果の試験では虚血処置後 7 日間経口投与した。空間認知障害は、8 方向放射状迷路で評価した。また、10 分間の 2 回繰り返し虚血する反復虚血ラットは試験終了後、脳内ドコサヘキサエン酸 (DHA) 含量を測定した。

(2) 中大動脈結紮モデルによる検討

ラットの中大脳動脈を 60 分間閉塞したのちに再還流させる中大動脈結紮モデルを適用し、大脳冠状切片作成、TTC 染色後の梗塞体積を求め評価した。ドコサヘキサエン酸 (DHA) は虚血処置前に 400mg/kg の用量で 21 日間経口投与し、Vehicle は生理食塩水とした。

(3) イボテン酸誘発認知症モデルによる検討

ラット前脳基底核にイボテン酸を 2 μ g 注入破壊後、モーリス水迷路により評価した。ドコサヘキサエン酸 (DHA) はイボテン酸処置前に 100mg/kg、300mg/kg の 2 用量で 4 週間経口投与した。対象としてアルツハイマー型認知症治療薬のドネペジルを 3mg/kg で用いた。試験終了後、脳内のアセチルコリン合成酵素 (ChAT) 活性を測定した。

4. 研究成果

(1) 4 血管閉塞モデルによる検討結果

8 方向放射状迷路を用いて、空間認知の獲得過程の推移を Vehicle 群とドコサヘキサエン酸 (DHA) 群で 30 日間比較したが有意な差は認められなかった。この動物を用いて 10 分間両側総頸動脈を単回虚血する検討では、虚血 24 時間後に Vehicle 群では著明な空間認知障害が発現したが、ドコサヘキサエン酸 (DHA) 群は Vehicle 群に比べ統計学的に有意に正選択数の増加、誤選択数の有意な減少が認められた (図 1)。

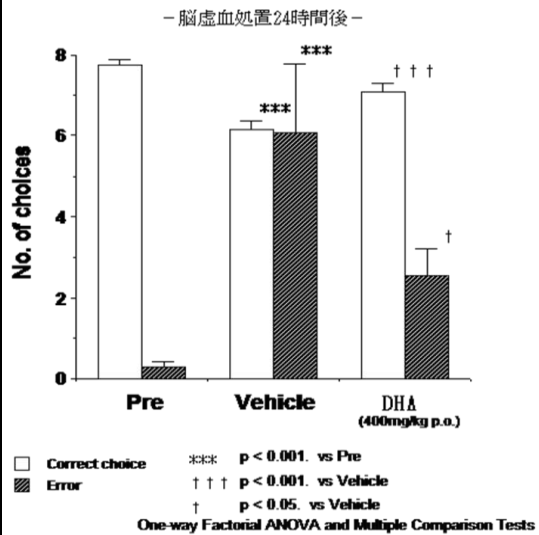


図1. 脳虚血による空間認知障害に対する DHA の影響

さらに、96 時間後まで観察した結果、正選択数および誤選択数の経時変化に統計学的に有意な差が認められた。次に遅延性神経細胞死の評価系として 10 分間の 2 回繰り返し虚血を 1 時間の間隔で行う反復虚血では、虚血 1 週間後に Vehicle 群に著明な空間認知障害が発現したが、ドコサヘキサエン酸 (DHA) 群は Vehicle 群に比べ統計学的に有意に正選択数の増加、誤選択数の減少傾向が認められた (図 2)。

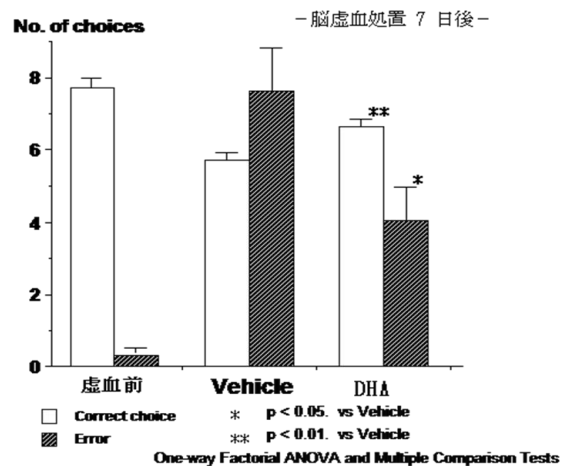


図2. 脳虚血による空間認知障害に対する DHA の影響

20 分間の単回虚血による運動障害に対する影響については、Vehicle 群およびドコサヘキサエン酸 (DHA) 群の協調運動は虚血 24 時間後に軽度の減少が認められたが著明ではなかった。脳組織中のドコサヘキサエン酸 (DHA) 含量は、図 3 に示す様に、前頭葉で有意にドコサヘキサエン酸 (DHA) 含量が増加することが認められた。

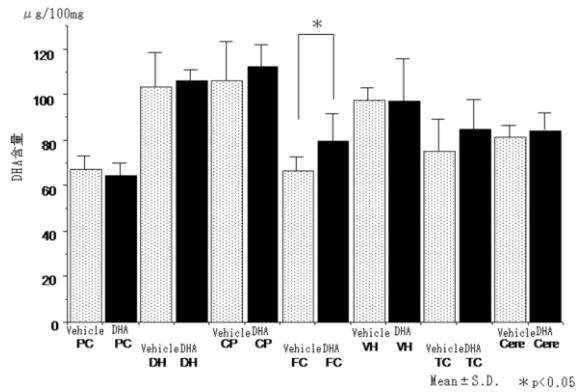


図3. 脳組織中のDHA含量

以上のことより、ドコサヘキサエン酸 (DHA) は投与によってラット脳内の記憶・学習に関する大脳皮質および海馬等の神経細胞を保護する作用が認められ、さらに虚血性脳疾患の予防、治療において遅延性の神経細胞死を保護する可能性が示唆され、栄養学的に有用な成分であると考えられた。

(2) 中大動脈結紮モデルによる検討結果

中大動脈結紮モデルを用いて梗塞領域の体積の変化を Vehicle 群とドコサヘキサエン酸 (DHA) 群で比較した結果、ドコサヘキサエン酸 (DHA) の方が統計学的に有意に梗塞領域の拡大を抑制することが明らかとなった。このことより、本モデル系においてもドコサヘキサエン酸 (DHA) は虚血性脳疾患の予防、治療に有用である可能性が示唆された。

(3) イボテン酸誘発認知症モデルによる検討結果

モーリス水迷路におけるプラットホーム到達時間 (escape latency) の試行毎の変化をコントロール群とドコサヘキサエン酸 (DHA) 群で比較した。その結果、3 試行目 (3 日目) において、ドコサヘキサエン酸 (DHA) 群は統計学的に有意に escape latency の短縮が示された。対象薬のドネペジルは 2 試行目 (2 日目) に有意な escape latency の短縮を認めたことから作用強度はドネペジルに劣るものの、ドコサヘキサエン酸 (DHA) に認知機能改善作用が確認された (図 4)。また、脳内のアセチルコリン合成酵素 (ChAT) 活性はコントロールに比べ用量依存的な改善傾向が認められ (図 5)、認知機能改善作用の一つの機序と推察された。

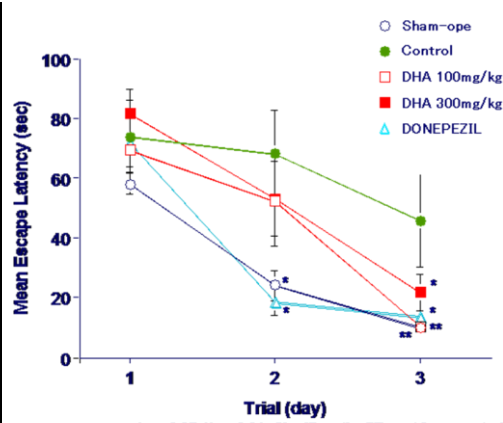


図4. イボテン酸誘発認知症モデルに対するDHAの影響

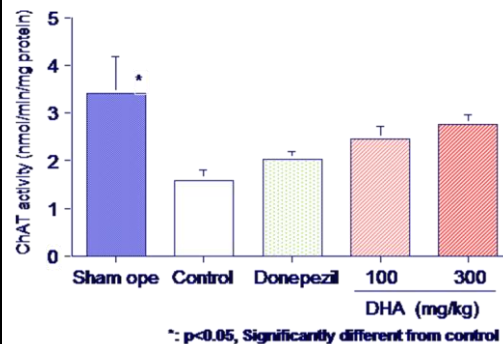


図5. 脳組織中のアセチルコリン合成酵素 (ChAT) 活性

以上の結果より、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの高度不飽和脂肪酸は虚血性脳疾患発症後の遅延性の神経細胞死を保護する可能性が示されたことから、虚血性脳疾患の慢性期に見受けられる記憶の短期記憶力低下や失見当識等に代表される認知症や運動能力低下の予防、治療に大いに役立つと共に、今後の益々進む高齢社会において、疾病を未然に防止するという予防医学的、栄養学的効果が期待できるとの結論に達した。

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)

- ① Toshikazu Komoda, Miki Ono, Yoshitaka Koseki, Masazumi Nishikawa, Sesquiterpene lactones from asparagus chicory. J. Clin. Biochem. Nutr., 43, 2008, 575-578.
- ② 西川正純, 魚の健康効果と多様な機能性成分, FOOD Style 21, 13, 2008, 47-50.
- ③ Mitsutoshi Munakata, Masazumi Nishikawa, Noriko Togashi, Eiko Nio, Yasuko Kobayashi, Kiyoshi Omura, Kazuhiro Haginoya, Soichiro Tanaka,

Takuya Abe, Takanori Hishinuma, Nobukazu Chida, Shigeru Tsuchiya and Akira Onuma, The Nutrient Formula Containing Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid Benefits the Fatty Acid Status of Patients Receiving Long-Term Enteral Nutrition., Tohoku J. Exp. Med., 217, 2009, 23-28.

〔学会発表〕(計 14 件)

- ① 阿部拓哉、鈴木香織、菰田俊一、山國徹、富岡佳久、菱沼隆則、西川正純、宮城県産ローマ野菜プンタレッラ中のセスキテルペン類のプロスタグランジン D2 産生に及ぼす影響、日本薬学会第 129 年会、2009 年 3 月 26 日、京都大学。
- ② 西川正純、菰田俊一、阿部拓哉、金野さよ子、佐々木丈夫、宮城県産ローマ野菜プンタレッラのブランド化に関する研究、日本カロテノイド研究会、2009 年 9 月 17 日、東北大学。
- ③ 西川正純、木村優輝、佐藤宏美、鈴木聡美、君塚道史、川村保、齋藤憲次郎、未利用水産資源アカザラガイのブランド化に関する研究、平成 21 年度日本水産学会秋季大会、2009 年 10 月 2 日、いわて県民情報交流センター・アイーナ。
- ④ 高橋啓輔、山口敏康、中野俊樹、佐藤 実、西川正純、水産生物由来ジアシルグリセリルエーテルの CACO-2 細胞への取り込み、平成 22 年度日本水産学会春季大会、2010 年 3 月 29 日、日本大学。
- ⑤ 片山亜優、伊藤絹子、佐々木浩一、南卓志、西川正純、宮城県名取川におけるヤマトシジミの生息環境の違いと食物供給について、平成 22 年度日本水産学会春季大会、2010 年 3 月 29 日、日本大学。
- ⑥ 西川正純、機能的食品素材 EPA・DHA の機能と商品化について～融点を利用した精製法を中心に～、日本雪氷学会東北支部大会、2010 年 4 月 16 日、宮城大学。
- ⑦ 西川正純、魚油成分による特定保健用食品の開発と海産物由来機能的食品素材の概要、第 12 回応用薬理シンポジウム、2010 年 9 月 19 日、横浜シンポジウム。
- ⑧ 西川正純、阿部拓哉、鈴木香織、菰田俊一、山國徹、富岡佳久、菱沼隆則、ローマ野菜プンタレッラ含有セスキテルペン類のプロスタグランジン代謝に及ぼす影響、第 12 回応用薬理シンポジウム、2010 年 9 月 19 日、横浜シンポジウム。
- ⑨ 柿崎裕介、君塚道史、西川正純、吉田良一、阿部泰浩、サンマ魚油脂肪酸の濃縮精製に関する基礎研究、平成 22 年度日本水産学会秋季大会、2010 年 9 月 24 日、

京都大学。

- ⑩ 高橋啓輔、山口敏康、中野俊樹、佐藤実、西川正純、水産生物由来のジアシルグリセリルエーテルの CACO-2 細胞への取り込み-II、平成 22 年度日本水産学会秋季大会、2010 年 9 月 23 日、京都大学。
- ⑪ 片山亜優、伊藤絹子、佐々木浩一、西川正純、南卓志、ヤマトシジミによる陸上植物由来デトリタスの摂取、平成 22 年度日本水産学会秋季大会、2010 年 9 月 25 日、京都大学。
- ⑫ 木村優輝、毛利哲、山田和幸、君塚道史、西川正純、宮城県前浜魚入り蒲鉾の臭気成分抑制について、平成 22 年度日本水産学会秋季大会、2010 年 9 月 24 日、京都大学。
- ⑬ 西川正純、高度不飽和脂肪酸の中枢神経作用とそのメカニズム～最近の知見も交えて～、第 3 回老年医学研究会、2010 年 10 月 19 日、東北大学。
- ⑭ 片山亜優、伊藤絹子、佐々木浩一、西川正純、南卓志、名取川におけるヤマトシジミの生産基盤としての食物供給、平成 23 年度日本水産学会春季大会、2011 年 3 月 31 日、東京海洋大。

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.myu-syoku.jp/university/faculty/Introduction/index/introductionID/34>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西川 正純 (NISHIKAWA MASAZUMI)

宮城大学・食産業学部・教授

研究者番号：90404839

(2) 研究分担者

菱沼 隆則 (HISHINUMA TAKANORI)

東北大学・薬学研究科・教授

研究者番号：20199003

(H20：研究分担者)

(3) 連携研究者

村山 耕一郎 (MURAYAMA KOICHIRO)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00219891

藤原 道弘 (FUJIWARA MICHIMIRO)

福岡大学・薬学部・教授

研究者番号：10091331