

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 20 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560058

研究課題名(和文)多動性改善に向けたアミノ酸栄養のチャレンジ

研究課題名(英文)Challenge of amino acid nutrition toward the improvement of hyperactivity

研究代表者

古瀬 充宏(Furuse, Mitsuhiro)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：30209176

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文):注意欠陥・多動性障害(Attention Deficit/Hyperactivity Disorder, ADHD)は、多動性、不注意、衝動性を症状の特徴とする発達障害もしくは行動障害である。その原因追求とアミノ酸栄養による症状改善の可能性をADHDのモデル動物で調べた。ロボロフスキーハムスターはジャンガリアンハムスターと比べ、自発運動量が高く、脳内のD-セリン含量が低いことが判明した。多動性を示すロボロフスキーハムスターは学習能力が低いことも示された。3系統のマウスの中でICRマウスの行動量は高く、その脳ではチロシンからドーパミンへの代謝が遅いことが示唆された。

研究成果の概要(英文):Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is a developmental disorder or behavioral disorders with hyperactivity, inattention, impulsivity. The possibility of improvement in the symptom due to amino acid nutrition was investigated in an animal model of ADHD. When Roborovski hamster was compared with Djungarian hamsters, spontaneous activity was high and D-serine content in the brain was low in Roborovski hamster. Roborovski hamster showing the hyperactivity demonstrated low learning ability. Behavior of ICR mice among the three strains showed hyperactivity and the metabolism of tyrosine to dopamine was slow in the brain.

研究分野：栄養学

キーワード：注意欠陥・多動性障害 マウス セリン ハムスター 遺伝 チロシン ドーパミン 学習・記憶

1. 研究開始当初の背景

注意欠陥・多動性障害 (Attention Deficit/Hyperactivity Disorder, ADHD) は、多動性、不注意、衝動性を症状の特徴とする発達障害もしくは行動障害である。集中困難・過活動・不注意などの症状が通常7歳までに確認され、日本では一般に、メチルフェニデートが18歳未満のADHDの適応薬として認可されている。

研究代表者は、同じヒメキヌゲネズミ属に分類されるジャンガリアン (Djungarian) ハムスターとロボロフスキー (Roborovskii) ハムスターの行動の違いを調査し、ロボロフスキーハムスターはジャンガリアンハムスターと比べ、自発運動量が高いことを明らかにした (Exp Anim, 57(5):447-452. 2008)。ロボロフスキーハムスターをADHDのモデル動物と捉え、行動量の違いが脳内モノアミン含量の違いで説明できるかを検証した。その結果、ジャンガリアンハムスターと比べ、ロボロフスキーハムスターは脳のドーパミン (DA) やセロトニン濃度が低いことが判明した (Exp Anim, 57(5):447-452. 2008)。次いで、ドーパミンの前駆体である L-DOPA (Behav Pharmacol, 20(3):260-264. 2009) やさらにその前駆体であるチロシン (Neurosci Lett, 488(1):45-48. 2011) を与えることで行動量を低下させることに成功した。社会的分離ストレスにより高まったマウスの行動量をチロシンが減少させることも既に確認している (Brain Res Bull, 80(6):389-396. 2009)。

2. 研究の目的

メチルフェニデートは覚醒剤として機能するために18歳未満のADHDに認可されているとはいえ、副作用が低いADHDの改善方法を探す必要性は高い。その候補の一

つがアミノ酸による脳機能の制御にあると考えた。しかし、ジャンガリアンハムスターとロボロフスキーハムスターの他の脳内アミノ酸と行動の関係は不明のままであったため、その解明を図ることとした。また、多動性と認知機能である記憶・学習行動との関連性について検討することを目的とした。

さらにその発展として、マウスにおける多動性の系統差を確認し、その多動性と脳および血漿におけるアミノ酸代謝ならびにモノアミン代謝の関係を明らかにすることがアミノ酸を介した治療法の確立に繋がると考えた。

3. 研究の方法

ジャンガリアンハムスターとロボロフスキーハムスターを用い、明期と暗期に全脳をサンプリングし D-および L-アミノ酸の分析を行った。

次いで、ホームケージテスト内のジャンガリアンハムスターとロボロフスキーハムスターの行動量を測定した。さらに新奇物に対する反応を評価する物体認知試験を行い、両者の記憶力を比較した。その後、8方向放射状迷路試験により学習についての評価を8日間行った。8方向放射状迷路試験終了後に、脳、肝臓および血漿のサンプリングを行った。得られたサンプルを用いて、D-およびL-アミノ酸の分析を行った。

マウスにおいては、CBA/N、C57BL/6J およびICRマウスの行動量と脳のアミノ酸とモノアミン含量を比較した。

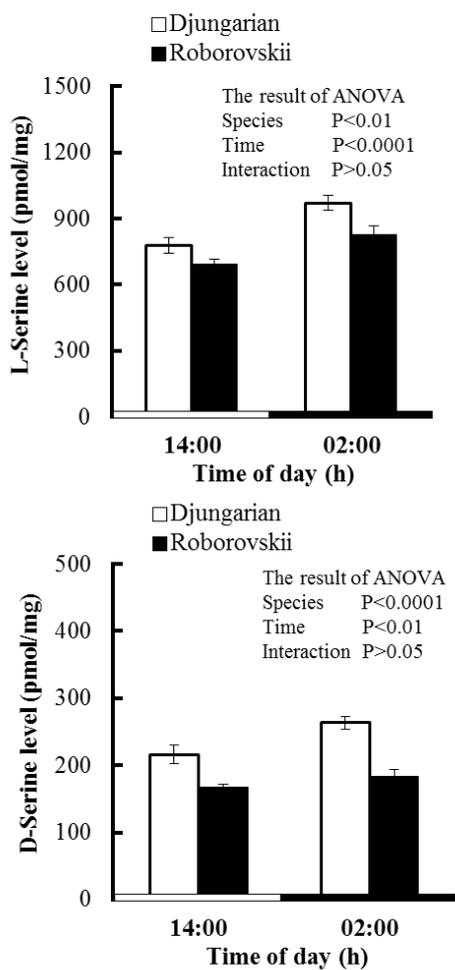
次いで、チロシンからDAへの代謝に関わる酵素の補酵素(BH₄)を投与し、脳内DA含量への影響を調べた。

さらに、ICRマウスでオープンフィールド試験(OFT)を行い、その値で4群に分け、7日後に生理的食塩水、カルビド

パ、低濃度 L-ドーパ 高濃度 L-ドーパの投与を行った。投与 30 分後に OFT、その直後にサンプリングを行った。サンプルはアミノ酸とモノアミンの分析に供した。

4. 研究成果

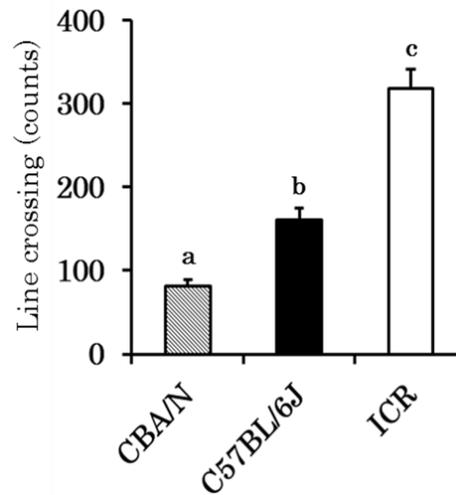
鎮静・催眠作用がある L-セリンと記憶・学習能力に関連する D-セリンの脳内含量は、多動性を示すロボロフスキーハムスターで有意に低かった。



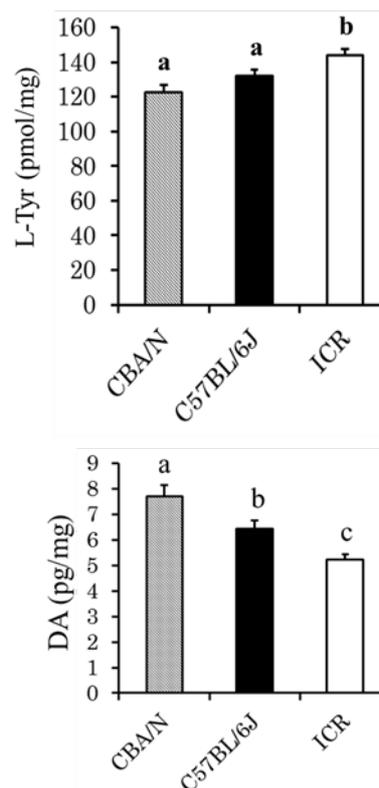
物体認知試験では、新奇物に対し探索に占める時間の割合はハムスター間で有意な差は認められなかったことから、記憶力自体に差異がないことが示唆された。さらに、8 方向放射状迷路試験で、ロボロフスキーハムスターの学習能力は低いことが示唆された。ホームケージテストでは、活動

期である暗期の行動量がロボロフスキーハムスターにおいて有意に高かった ($P<0.05$)。

3 系統のマウスの OFT の移動距離について、ラインをクロスした回数で調査したところ、ICR マウスが他の 2 系統に比して有意に高いことが判明した。



その際、ICR マウスでは脳のチロシン含量が高く、逆に DA 含量は低かった。



この事実は、ICR マウスにおいてチロシンから DA への代謝が遅いことを物語っている。

そこで、その代謝の律速酵素であるチロシン水酸化酵素の補酵素である BH_4 を与えたところ、脳内の DA は高まるものの行動量を抑えるまでは増加しなかった。L-ドーパの投与により用量依存的に DA は増え、行動は抑制された。

以上より、セリンやチロシンの代謝が多動性発現の一因であることが示唆された。

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 2 件)

- 1 Ikeda, H., Kawase, T., Nagasawa, M., Chowdhury, V. S., Yasuo, S. and Furuse, M. (2014). Metabolism of amino acids differs in the brains of Djungarian hamster (*P. sungorus*) and Roborovskii hamster (*P. roborovskii*). SpringerPlus, 3:277.
- 2 Ikeda, H., Nagasawa, M., Yamaguchi, T., Minaminaka, K., Goda, R., Chowdhury, V. S., Yasuo, S. and Furuse, M. Disparities in activity levels and learning ability between Djungarian hamster (*P. sungorus*) and Roborovskii hamster (*P. roborovskii*). Animal Science Journal, accepted.

[学会発表](計 6 件)

1. 池田裕美, 長澤麻央, 山口剛史, 南中希美絵, 五田亮世, 安尾 しのぶ, 古瀬 充宏, ジャンガリアンハムスターとロボロフスキーハムスターにおける多動性と記憶・学習行動の関連性解明に関する研究, 日本アミノ酸学会, 2014.11.09.

2. 池田裕美, 長澤麻央, 山口剛史, 南中希美絵, 五田亮世, スルチョードリ ビシュワジット, 安尾 しのぶ, 古瀬 充宏, ジャンガリアンハムスターとロボロフスキーハムスターにおける多動性ならびに記憶・学習と脳内モノアミンの関連性, 第 119 回日本畜産学会, 2015.03.28.

3. Ikeda, H., Nagasawa, M., Yamaguchi, T., Minaminaka, K., Goda, R., Chowdhury, V.S., Yasuo, Y., Furuse, M., Disparities in hyperactivity and learning ability between Djungarian and Roborovskii hamsters, The 12th Asian Congress of Nutrition, 2015.05.16.

4. 山口剛史, 長澤麻央, 池田裕美, 小平桃子, 南中希美絵, スルチョードリ ビシュワジット, 安尾 しのぶ, 古瀬 充宏, マウスにおける多動性の系統差とそのメカニズム, 第 120 回日本畜産学会, 2015.09.11.

5. Ikeda, H., Yamaguchi, T., Kodaira, M., Bahry, M.A., Chowdhury, V.C., Yasuo, S. and Furuse, M., Differential levels of activity and stress response between Djungarian hamster (*P. sungorus*) and Roborovskii hamster (*P. roborovskii*), 17th AAAP Animal Science Congress, 2016.08.

6. Yamaguchi, T., Ikeda, H., Minaminaka, K., Kodaira, M., Chowdhury, V.C., Yasuo, S. and Furuse, M., Lower locomotor activity is partially explained by brain dopamine metabolism in mice, 17th AAAP Animal Science Congress, 2016.08.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/lrmb/>

[http://hyoka.ofc.kyushu-u.ac.jp/search/details/
K000452/](http://hyoka.ofc.kyushu-u.ac.jp/search/details/K000452/)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

古瀬 充宏 (Furuse, Mitsuhiro)

九州大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：30209176