

輝け次代の担い手たち

不飽和脂肪酸による情動調節機構の探索

山田 大輔

(国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部)

はじめに

恐怖とその脳内神経回路の制御不全は、特定の不安症の病態と関わる可能性が考えられている¹⁾²⁾。したがって、恐怖を制御する仕組みを理解することは、不安症の病態解明や治療・予防に資すると考えられる。また近年、ヒトとげっ歯類における恐怖神経回路の理解が進み、その類似性についても議論が可能となってきた。この観点から、筆者らは恐怖神経回路を制御する生体システムを理解することを目指してげっ歯類を対象に研究を行っており、最近、栄養素のひとつである不飽和脂肪酸がマウス恐怖神経回路を修飾することを見出した。本稿では、不飽和脂肪酸と恐怖・不安情動の関連についての研究動向と、我々の研究概要について紹介する。

脂肪酸についての概説

脂肪酸は細胞膜の脂質二重層を構成するリン脂質の成分として重要な栄養素である。大きく分けて、脂肪酸には飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸が存在し、不飽和脂肪酸はさらに、分子内にひとつの二重結合(不飽和結合)を含む一価不飽和脂肪酸と、複数の二重結合を含む多価不飽和脂肪酸(polyunsaturated_fatty_acid, PUFA)に分けられる。そして二重結合の数が多(=不飽和度が高い)リン脂質を多く含むほど、脂質二重層の流動性が高まることが知られている³⁾⁴⁾。

PUFAは、分子内炭素鎖における二重結合の存在位置によって、主に ω 3系(またはn-3系とも呼

ぶ)と ω 6系(またはn-6系)の二種類に分類される。脳においてはドコサヘキサエン酸(DHA)が主たる ω 3 PUFAであり、アラキドン酸(ARA)が主たる ω 6 PUFAであるが、ほ乳類は両者を一から合成することができないため、食物から直接摂取するか、それぞれの前駆物質である α -リノレン酸、リノール酸を摂取し、これらをもとに炭素鎖伸長および不飽和化反応を経て生合成する必要がある。そして、細胞膜中の脂肪酸組成は、食事から摂取する脂肪酸の組成に応じて変化することが知られている⁵⁾。

情動性とPUFAの関わり

この摂取量を反映した細胞膜脂肪酸組成の変動は、神経細胞においても例外ではなく、実際PUFAが脳機能に影響する例は多く報告されている。ここでは紙面の都合上、恐怖や不安との関わりに限って紹介する。まず、げっ歯類では、 ω 3 PUFAを含まない欠乏食を与えて飼育することによって、動物の不安様行動やストレス感受性が亢進することが知られている^{6)~8)}。

ヒトを対象とした研究では、 ω 3 PUFAサプリメント摂取が、健常者の不安レベルを低下させる⁹⁾、ストレス状況下での攻撃性を低下させる¹⁰⁾という報告のほか、交通事故に遭遇した入院患者や東日本大震災後の救助活動に参加した女性医療スタッフにおいて、心的外傷後ストレス障害(PTSD)の発症率を有意に低下させることが報告されている¹¹⁾¹²⁾。

さらに、不安症と細胞膜リン脂質の脂肪酸組成

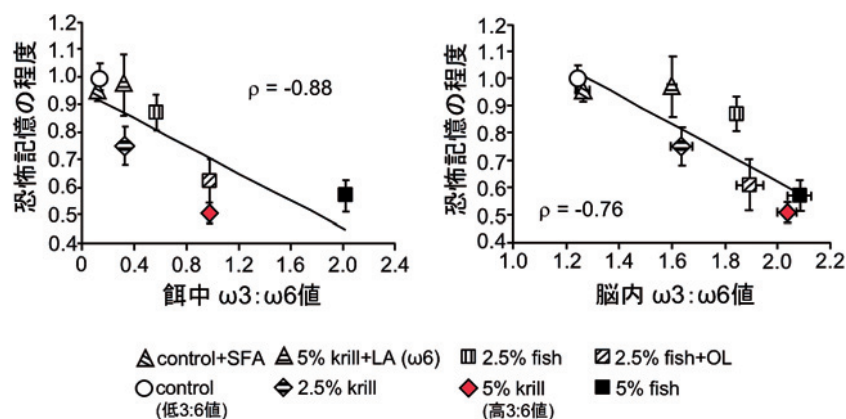


図1 餌中および大脳皮質内の $\omega 3 : \omega 6$ 値と恐怖記憶の相関関係
 ρ : スピアマンの相関係数。文献15)から改変して転載。

との間に相関があるとする「リン脂質仮説」を支持する結果も報告されている。すなわち、社交不安障害患者の赤血球膜における $\omega 3$ PUFAの量と臨床スコア間に負の相関関係があるとするもの¹³⁾、女性不安症患者の臨床スコアとDHA摂取量が逆相関するというものである¹⁴⁾。

このように、PUFAと恐怖・不安の関連については多くの研究が存在するのであるが、特に動物研究では、 $\omega 3$ PUFAの摂取量が少ないという欧米の食習慣を背景として、世代を超える長期にわたって $\omega 3$ PUFAの欠乏餌やサプリメントを与える例が多く、世代を超えない比較的短期間のサプリメントによる影響については検討の余地が残されている。さらに、 $\omega 3$ PUFAがどのような分子メカニズムを介して情動性に影響を与えているのかについては、実はまだまだ不明な点が多く、よくわかっていないのが現状である。

恐怖情動と不飽和脂肪酸

我々はこれまで、パブロフの条件づけを基礎とする恐怖条件づけの手法を用いて、条件性恐怖記憶とその消長を制御する生体システムについて、薬物応答性や特定遺伝子の関与などを明らかにしてきた。近年は、栄養素による情動性修飾を実現するシステムを明らかにするため、 $\omega 3$ PUFAを

一世代の間と与えて飼育した動物での恐怖記憶とその神経回路について研究を行っている。

まず、 $\omega 3$ PUFAを多く含む餌(対照餌に含まれる油脂の一部を $\omega 3$ PUFAが豊富な油脂で置換した餌、総脂質量は対照餌と同じ)を6週間与えたマウスでは、対照餌を与えたマウスに比べて文脈性・聴覚性恐怖記憶とも有意に低下することを見出した¹⁵⁾¹⁶⁾。餌中の脂肪酸組成を調べてみると、 $\omega 3$ PUFA量を増やしたことによって、 $\omega 6$ PUFAの量は減少していた。そこで、各餌中に含まれる $\omega 3$ PUFAと $\omega 6$ PUFAの量比(以下3:6値と呼ぶ)と、文脈性恐怖記憶の程度をプロットしてみたところ、図1に示すような興味深い負の相関関係が見られた。また、大脳皮質中の脂肪酸組成についても同様な相関関係が認められた(図1)。つまり恐怖記憶の制御では、単純に $\omega 3$ PUFAの摂取量でなく、摂取した脂肪酸組成を反映した脳内の3:6値が重要な役割を果たしている可能性が示唆されたのである。

メカニズム①—カンナビノイドの関与—

上記の結果を説明するメカニズム候補として、筆者らは脂質由来の生理活性物質カンナビノイドのシステムに注目した。カンナビノイドシステムは脳内における過剰なシナプス伝達のフィード

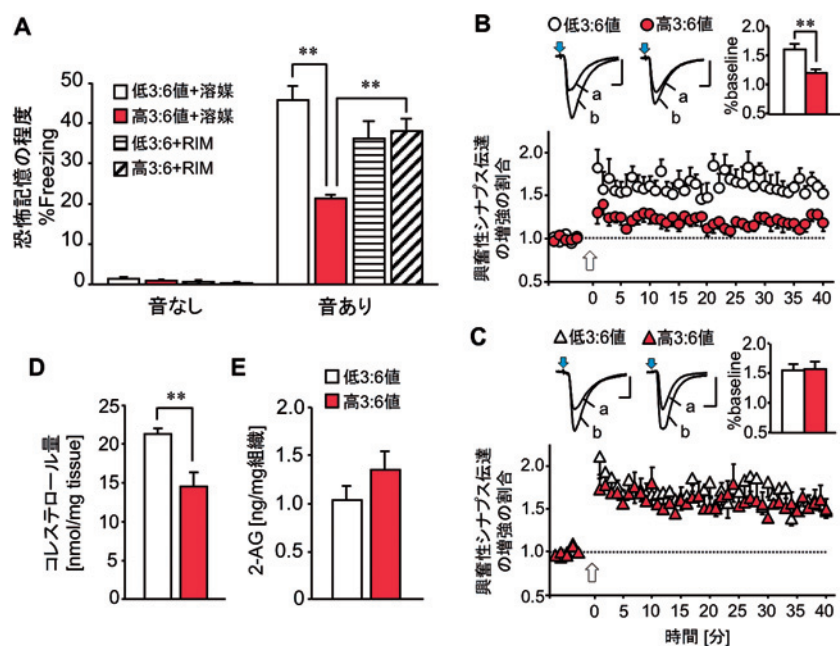


図2 高3:6値餌摂取による恐怖記憶低下とカンナビノイドシステムの関与。(A)聴覚性恐怖条件づけ試験。(B、C)聴覚皮質→扁桃体外側核間の興奮性シナプス伝達の長期増強。aCSF中(B)、CB₁受容体アンタゴニスト中(C)。(D)扁桃体内のコレステロール量。(E)扁桃体内の2-AG量。RIM:リモナバン、CB₁受容体アンタゴニスト。*P<0.01、ANOVA & Bonferroniの多重比較。↓:光刺激。↑:LTP誘導刺激。文献16)から改変して転載。

バック抑制機構として知られ、主にプレシナプス部位に存在するCB₁受容体を介して機能すると考えられている¹⁷⁾。CB₁受容体は各種の神経伝達物質を含むシナプスに広く存在することが報告されているが、総じて活性化されると神経伝達物質の放出を抑制したり、シナプス可塑性を調節することが報告されている¹⁷⁾。上記の我々の実験では、3:6値=1.0の餌(高3:6値餌、図1の5%krill)による恐怖記憶の低下は、脳内における主なカンナビノイド受容体であるCB₁受容体のアンタゴニストを投与することによって消失した(図2A)。このことから、高3:6値餌摂取によって脳内CB₁受容体の活性が高まることで、恐怖記憶を抑制する仕組みが存在する可能性が強く示唆された。なお、対照餌は3:6値=0.14(図1のcontrol)であった。CB₁活性化によって恐怖記憶が低下することは、行動薬理学的な先行研究においても示されている^{18)~20)}。

メカニズム②—シナプス可塑性の変化—

条件性恐怖記憶においては、無条件刺激(電気ショックなどの嫌悪刺激)の情報と条件刺激(音など本来は無害な刺激)の情報が、恐怖記憶の処理中枢として知られる扁桃体に入力され、扁桃体内シナプスにおいて両者の連合(シナプス伝達の可塑的变化:長期増強=LTP)が生じることが記憶形成の基礎過程と考えられている²¹⁾。そこで筆者らは、条件刺激である音の情報を発する聴覚皮質(ACx)から、その情報を受け取る扁桃体外側核(LA)への投射シナプスにおけるシナプス伝達の性質を、オプトジェネティクスを用いて調べることにした。光感受性陽イオンチャネルであるチャンネルロドプシン2(ChR2)を、アデノ随伴ウイルスを使ってACx内に発現させ、脳スライスを作製する²²⁾。投射先のLAを含む脳スライス内の錐体細胞からパッチクランプ記録し、光刺激する

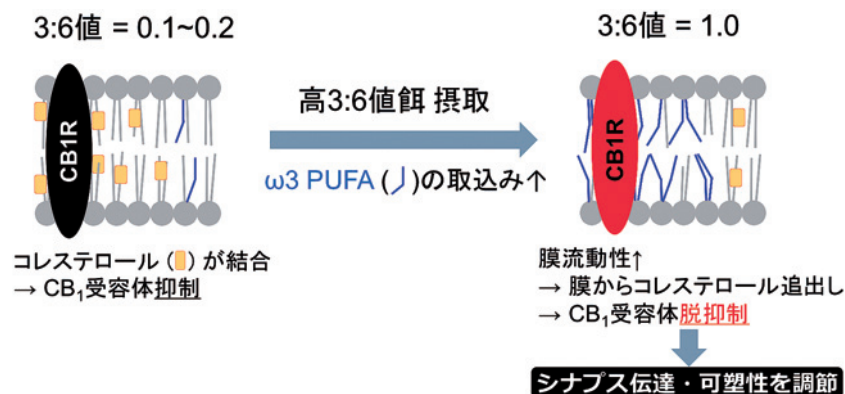


図3 高3:6値餌摂取によるCB₁受容体活性調節のコレステロール仮説

ことで、恐怖記憶と関連すると考えられる特定の神経回路のシナプス伝達を誘発・解析することが可能となる。

その結果、高3:6値餌摂取マウスのLAでは、対照餌摂取マウスに比べ、興奮性シナプス後電流の長期増強がCB₁受容体依存的に起こりにくくなっていることが明らかとなった¹⁶⁾(図2B, C)。さらに、同シナプス伝達に対するCB₁受容体アゴニストの作用は、高3:6値餌摂取マウスの方が対照餌摂取マウスに比べ増強していた¹⁶⁾。このことは、高3:6値餌摂取によりCB₁受容体の活性化がおこり、長期増強を抑制している可能性を示唆する結果といえる。

前述のとおり、PUFAと情動行動をつなぐメカニズムについては不明な点が多いが、シナプス伝達の可塑的变化との関連についてはひとつ報告がある⁶⁾。2世代に渡ってω3 PUFAを含まない餌を与えて飼育した動物では不安様行動が亢進するが、これと並行して情動行動に関与する内側前頭前野と側坐核において、CB₁受容体依存的に興奮性シナプス伝達の長期抑圧が弱まるという。このことは、「ω3 PUFA欠乏により興奮性シナプス伝達の抑制が弱まる→興奮性が強まる」ことを意味しており、我々の結果とも矛盾しない。すなわち、「ω3 PUFAサプリによって興奮性シナプス伝達のLTPが弱まる→興奮性が弱まる」と考えられる。これらのことから、ω3 PUFAによる情動行動の修飾にCB₁受容体の活性変化を介したシナプス

可塑性の変化が関与することは、他の行動/神経回路についても適用可能な一般性のあるメカニズムなのかもしれない。

膜脂肪酸組成とCB₁受容体活性の関連—コレステロールと膜流動性仮説—

次に問題となるのは、膜の脂肪酸組成変化とCB₁受容体活性の変化はどのように関連しているのかということである。一つの候補は細胞膜中に存在するコレステロールである。メカニズムの仮説について模式図を示した(図3)。CB₁受容体は細胞膜の中でもコレステロールが多く含まれるラフト構造に存在し、普段はコレステロールが結合した不活性状態にあることが知られている²³⁾。そこへDHAなどの多価不飽和脂肪酸が膜に取り込まれると、前述の通り細胞膜の流動性が高まり²⁴⁾、CB₁受容体付近に存在していたコレステロールが流れ出した結果、CB₁受容体は脱抑制されるという筋書きである²³⁾²⁵⁾。また3:6値が影響する理由としては、ω3 PUFAであるDHAは、PUFAの中で最も不飽和度が高く、ω6 PUFA(不飽和度最大はARA)が含まれる場合よりも膜流動性を高める効果がより強いことが考えられる。

筆者らは、この仮説の妥当性を示す以下のような結果を得ている。扁桃体を含む脳スライスをコレステロール除去薬物で処理し、前述の興奮性シナプス伝達に対するCB₁受容体アゴニストの作用

を検討したところ、対照動物ではコレステロールを除去した場合、CB₁受容体アゴニストに対する感受性が10倍程度高まるが、高3:6値餌を食べた動物では、このような変化はおこらなかった¹⁵⁾。つまり、高3:6値餌摂取動物の扁桃体でコレステロールが減少している可能性が考えられた。

そこで、扁桃体を主に含む脳サンプルを採取し、その中に含まれるコレステロール量を調べたところ、高3:6値餌摂取マウスで有意な減少が認められた(図2D)¹⁶⁾。また、シナプスの活性化に伴って生成される主要な内因性カンナビノイドのひとつ、2-Arachidonoylglycerol (2-AG)の脳内含量(図2E)やCB₁受容体mRNA発現量には有意な変化は認められなかった¹⁵⁾¹⁶⁾。以上、シナプス部位に局限した解析なしに結論付けることはできないが、高3:6値餌摂取は内因性カンナビノイド量やCB₁受容体の発現量を変化させるのではなく、CB₁受容体の活性を調節することでシナプス伝達とその可塑性を修飾する可能性が示唆される。

おわりに

ここに紹介した筆者らの結果は、PUFAの摂取バランスによって恐怖神経回路が修飾されるメカニズムにCB₁受容体を介したシナプス伝達の調節が関与する可能性を強く示唆するものではあるが、恐怖記憶の変化とシナプス可塑性の変化が直接的な因果関係を持つかどうかについては示すことはできていない。恐怖記憶に関係するシナプス可塑性はここで示したACx→LAシナプス以外にも存在するからである。また、他のPUFAの有効性が報告されている情動性行動(たとえばうつ様行動など)についても同様なメカニズムが働いているのか、神経回路による作用の特異性があるのかなど、さらなる研究の発展が望まれる。

謝辞

本研究を行うにあたり、所属研究室の関口正幸先生、和田圭司先生およびその他多くの方々にご指導・

ご協力をいただきましたこと、深く感謝申し上げます。またこのような執筆の機会を与えていただきました澤本和延先生、株田智弘先生、神経化学会の編集部の方々に感謝いたします。

文献

- 1) Cuthbert BN, Lang PJ, Strauss C, Drobos D, Patrick CJ, Bradley MM. The Psychophysiology of anxiety disorder: fear memory imagery. *Psychophysiology*, 40, 407-422 (2003).
- 2) Rauch SL, Shin LM, Phelps EA. Neurocircuitry models of post-traumatic stress disorder and extinction: human neuroimaging research-past, present, and future. *Biol Psychiatry*, 60 (4), 376-382 (2006).
- 3) Yang X, Sheng W, Sun GY, Lee JC. Effects of fatty acid unsaturation numbers on membrane fluidity and α -secretase-dependent amyloid precursor protein processing. *Neurochem Int*, 58 (3), 321-329 (2011).
- 4) Salem N Jr, Niebylski CD. The nervous system has an absolute molecular species requirement for proper function. *Mol Membr Biol*, 12 (1), 131-134 (1995).
- 5) Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci*, 18 (4-5), 383-399 (2000).
- 6) Lafourcade M, Larrieu T, Mato S, Duffaud A, Sepers M, Matias I, et al. Nutritional omega-3 deficiency abolishes endocannabinoid-mediated neuronal functions. *Nat Neurosci*, 14, 345-350 (2011).
- 7) Larrieu T, Madore C, Joffre C, Layé S. Nutritional n-3 polyunsaturated fatty acids deficiency alters cannabinoid receptor signaling pathway in the brain and associated anxiety-like behavior in mice. *J Physiol Biochem*, 68, 671-681 (2012).
- 8) Takeuchi T, Iwanaga M, Harada E. Possible regulatory mechanism of DHA-induced anti-stress reaction in rats. *Brain Res*, 964, 136-143

- (2003).
- 9) Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Mixture of essential fatty acids lowers test anxiety. *Nutr Neurosci*, 8 (4), 265-267 (2005).
 - 10) Hamazaki T, Sawazaki S, Itomura M, Asaoka E, Nagao Y, Nishimura N, Yazawa K, Kuwamori T, Kobayashi M. The effect of docosahexaenoic acid on aggression in young adults. A placebo-controlled double-blind study. *J Clin Invest*, 97 (4), 1129-1133 (1996).
 - 11) Matsuoka Y, Nishi D, Yonemoto N, Hamazaki K. Omega-3 fatty acids for secondary prevention of posttraumatic stress disorder after accidental injury an open-label pilot study. *J Clin Psychopharmacol*, 30, 217-219 (2010).
 - 12) Nishi D, Koido Y, Nakaya N, Sone T, Noguchi H, Hamazaki K, Hamazaki T, Matsuoka Y. Fish oil for attenuating posttraumatic stress symptoms among rescue workers after the great east Japan earthquake: a randomized controlled trial. *Psychother Psychosom*, 81, 315-317 (2012).
 - 13) Green P, Hermesh H, Monselise A, Marom S, Presburger G, Weizman A. Red cell membrane omega-3 fatty acids are decreased in non-depressed patients with social anxiety disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*, 16, 107-113 (2006).
 - 14) Jacka FN, Pasco JA, Williams LJ, Meyer BJ, Digger R, Berk M. Dietary intake of fish and PUFA, and clinical depressive and anxiety disorders in women. *Br J Nutr*, 109, 2059-2066 (2013).
 - 15) Yamada D, Takeo J, Koppensteiner P, Wada K, Sekiguchi M. Modulation of fear memory by dietary polyunsaturated fatty acids via cannabinoid receptors. *Neuropsychopharmacology*, 39, 1852-1860 (2014).
 - 16) Yamada D, Wada K, Sekiguchi M. Modulation of long-term potentiation of cortico-amygdala synaptic responses and auditory fear memory by dietary polyunsaturated fatty acid. *Front Behav Neurosci*, 10, 164 (2016).
 - 17) Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto-dani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev*, 89, 309-380 (2009).
 - 18) Mackowiak M, Chocyk A, Dudys D, Wedzony K. Activation of CB₁ cannabinoid receptors impairs memory consolidation and hippocampal polysialylated neural cell adhesion molecule expression in contextual fear conditioning. *Neuroscience*, 158, 1708-1716 (2009).
 - 19) Pamplona FA, Takahashi RN. WIN55,212-2 impairs contextual fear conditioning through the activation of CB₁ cannabinoid receptors. *Neurosci Lett*, 397, 88-92 (2006).
 - 20) Resstel LB, Lisboa SF, Aguiar DC, Correa FM, Guimaraes FS. Activation of CB₁ cannabinoid receptors in the dorsolateral periaqueductal gray reduces the expression of contextual fear conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 198, 405-411 (2008).
 - 21) LeDoux JE. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci*, 23, 155-184 (2000).
 - 22) Morozov A, Sukato D, Ito W. Selective suppression of plasticity in amygdala inputs from temporal association cortex by the external capsule. *J Neurosci*, 31, 339-345 (2011).
 - 23) Maccarrone M, De Chiara V, Gasperi V, Viscomi MT, Rossi S, Oddi S, Molinari M, Musella A, Finazzi-Agro A, Centonze D. Lipid rafts regulate 2-arachidonoylglycerol metabolism and physiological activity in the striatum. *J Neurochem*, 109, 371-381 (2009).
 - 24) Stillwell W, Wassall SR. Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chem Phys Lipids*, 126, 1-27 (2003).
 - 25) Bari M, Battista N, Fezza F, Finazzi-Agro A, Maccarrone M. Lipid rafts control signaling of type-1 cannabinoid receptors in neuronal cells. *J Biol Chem*, 280, 12212-12220 (2005).