

## アルツハイマー病と食事栄養—とくに銅・亜鉛とドコサヘキサエン酸

橋 本 道 男

(島根大学医学部生理学講座環境生理学\*)

### Alzheimer's Disease and Nutrition, Especially Copper, Zinc and Docosahexaenoic Acid

Michio HASHIMOTO

*Department of Environmental Physiology, Shimane University Faculty of Medicine, Enyacho 89-1, Izumo, Shimane 693-8501, Japan*

#### Summary

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia of the elderly and is a mounting public health problem. There has been steadily growing interest in the involvement of metal ions (especially, zinc and copper) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n-3) in neuronal functions and neurodegenerative disorders including AD. The recent interesting descriptions are in the elucidation of zinc and copper release and flux at the glutamatergic synapse in the cortex and hippocampus. These metals influence the response of the NMDA receptor. AD is also characterized by miscompartmentalization of copper and zinc (e. g. accumulation in amyloid).

DHA, a n-3 polyunsaturated fatty acid, is essential for normal neurological development and vision. DHA deficiency markedly affects neuronal function; it is thus associated with some neurological dysfunction in aging and AD. Epidemiological studies show a relation between the ingestion of fish oils and AD, suggesting neuroprotective consequences of the oil, especially of DHA. Dietary administration of DHA improves learning ability in rats, and protects against and ameliorates the impairment of learning ability in AD model rats and APP transgenic mouse model of AD. The roles of zinc and copper in pathophysiological of AD and the improvement effect of dietary DHA on AD are reviewed here.

我が国では、団塊の世代が前期高齢者となる2015年には超高齢化社会に突入し、それに伴い急増する老人性疾患のひとつに認知症があり、現在約160万人である認知症高齢者は、2015年には250万人を超えることが予想されている。この急激な増加は、高齢者医療費の膨騰や介護負担増を引き起こすことから、認知症の克服は、健全で豊かな少子超高齢化社会を構築する為の緊急課題であるが、いまだ有効な手だては確立されていない。

近年、欧米の疫学研究者から、いくつかの栄養素が認知症の発症に関係する事を示唆した疫学調査結果が相次いで報告されている<sup>1-4)</sup>。これらの報告によると、認知症と関連する主なる栄養素は、B群ビタミン類、ビタミンC、ビタミンE、および、カロチノイドなどの抗酸化栄養素類、ホモシステイン関連栄養素、ある種の脂肪酸類(特に、魚肉由来のn-3系脂肪酸)、ならびに微量金属類(亜鉛、銅、鉄、セレン)である。老人性認知症はおもにアルツハイマー型認知症(Alzheimer's disease: AD)と脳血管性認知症(Vascular dementia: VD)との二つに分けられるが、VD

は主に血管性疾患に起因することから、生活習慣病を予防し、健康な血管を維持する様な生活習慣を営めば、VDの発症は非常に低下する可能性がある。前述の抗酸化栄養素類、ホモシステイン関連栄養素、ならびにn-3系脂肪酸などは、心血管性疾患の発症を予防することが知られているので、VDの発症予防には有効である、と推察される。一方、ADと食習慣との関連性は不明であったが、近年、欧米の研究者から縦断的疫学調査や5~10年にわたる大規模な追跡調査の結果が相次いで発表され、ADの発症に食事栄養が密接に関係することが報告されている<sup>5,6)</sup>。本総説では、ADと食事栄養、特に微量金属類ならびに魚油の主要成分であるドコサヘキサエン酸(DHA, C22:6n-3)との関係について、我々の研究成果をもふまえながら紹介する。

#### I アルツハイマー病の病理と要因

アルツハイマー病(AD)は、記憶・記銘障害、見当識

\*所在地: 島根県出雲市塩冶町 89-1 (〒693-8501)

本稿は第25回日本微量栄養素学会学術集会において行われた招待講演の内容をとりまとめたものである。

異常などを中核症状とする進行性の中核神経変性疾患であり、認知症の基礎疾患としては脳血管性認知症を抜いて最も多い。AD患者の脳では、神経細胞の脱落による脳萎縮やシナプスの崩壊に加え、 $\beta$ -アミロイド蛋白 ( $A\beta$ ) の凝集・沈着に由来する老人斑様構造 (老人斑) や、リン酸化タウ蛋白の重合・沈着に起因する神経原線維変化などの特徴的な病理所見が認められる。

老人斑と神経原線維変化には、 $A\beta$  の沈着とタウ蛋白の重合がそれぞれに関与するが、ADの発症機序として最も良く知られているのは「アミロイド仮説」である (Fig. 1)。

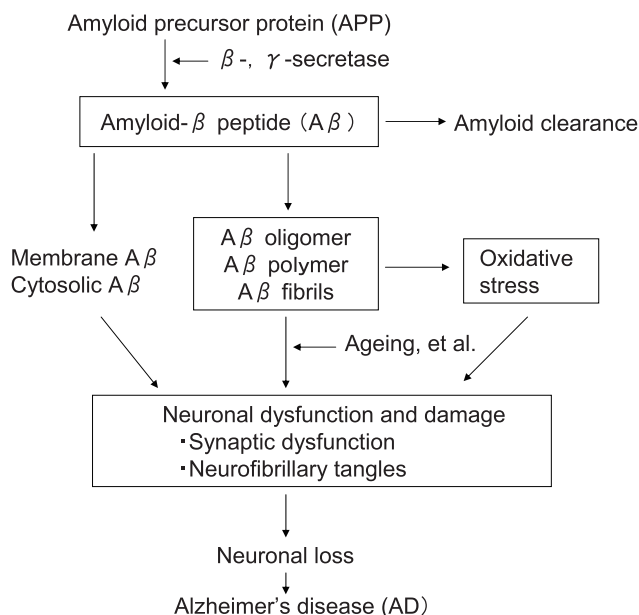


Fig. 1 Amyloid cascade hypothesis in Alzheimer's disease.

神経細胞で作られるアミロイド前駆体蛋白 (APP) が、細胞膜結合酵素である  $\beta$ -、 $\gamma$ -セクレターゼにより切断され、その一部が  $A\beta$  となり細胞外に遊離・蓄積し、神経細胞に障害を与える。すなわち、ADの発症や進行には  $A\beta$  の脳内沈着と神経細胞変性が中核をなす、といった考え方である。しかし最近、可溶性の  $A\beta$  オリゴマーが細胞外への沈着に先んじて神経細胞内に蓄積することにより、シナプス伝達や認知機能に障害を与える、との仮説<sup>7,8)</sup>や、アミロイド仮説を補う新たな仮説として「血管仮説」<sup>9)</sup>が提唱されている。この血管仮説は、脂質異常症、高血圧及び糖尿病等の基礎疾患が脳動脈を硬化させ、結果として脳循環不全を生じることがAD発症につながる、といった仮説であり、脂質代謝異常改善作用、血圧降下作用など、魚油の主成分であるn-3系多価不飽和脂肪酸 (n-3PUFA) や微量金属元素の循環系への関与を考えると興味あるところである。

ADの経年変化を考えると、 $A\beta$  の蓄積は50代、神経原線維変化は70代あたりから始まり、そして認知症の前段階にあたる軽度認知機能障害 (mild cognitive impairment: MCI) と呼ばれる症状は70代後半からみられるようになる。そのため、正常と認知症の中間に位置し認知症の診断

基準に満たない患者さんをMCIと分類している。このMCIは表面的には軽症であっても、疾患そのものは進行性で、将来、認知症へと重症化する可能性がある前段階と考えられている。海馬は、記憶を一時的にためておく保管庫の機能を持ち、日々の記憶は先ずここに貯えられる。通常、記憶が海馬に留まるのは数日から数週間だが、その期間が極端に短くなるのがMCIである。このため海馬に障害が起こると、海馬にとどめられた記憶が数分もしないうちに失われるために、会話の中で同じ話を何度も繰り返し話すようになる。MCIを早期に診断でき、この段階で  $A\beta$  の蓄積を阻害・消失させる手段が見つかれば、ADも予防・治療が可能となると思われる。

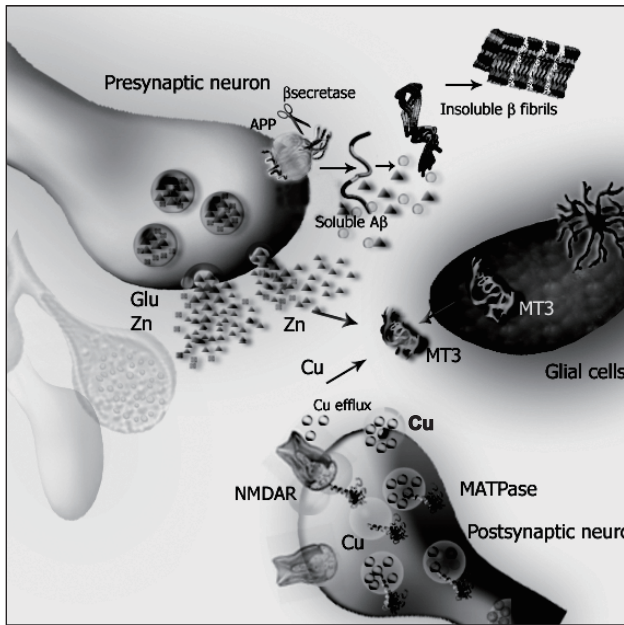
## II 金属元素とアルツハイマー病

食品中の金属元素は生体内に取り込まれ、様々な生理機能と深く関わっている。神経疾患との関わりの中で最近とくに注目されているのは、銅と亜鉛である。これらの多くは、Cu-Zn SODの様に酵素と結合していることから、エネルギー産生、神経ペプチドの活性化、ならびに、神経伝達物質の生成など、神経機能の基本的なプロセスに関与している。たとえば、銅が欠乏した乳幼児では、運動失調と重度の神経病理変化をきたす顕著な特徴をもつメンケス症候群が発症する<sup>10)</sup>。また、ごく少量の銅欠乏でも、ラットの海馬と歯状回の成熟が障害される<sup>11)</sup>ことから、周産期での脳の発達における銅の重要性は推察できる。これらの事象からわかる様に、その詳細は不明であるが、脳の発達や神経機能の維持へ銅・亜鉛や鉄などの金属元素が利用されていることは良く知られている。

### 1. 銅・亜鉛と神経機能

交換型の亜鉛や銅が中枢神経系に多く見出され (亜鉛は全身亜鉛の約1.5%と見積もられている)、特に、神経節前・節後線維の接合部であるシナプス間隙に多く局在する。亜鉛の脳内での生理学的意義は不明であるが、脳内の金属イオンレベルは厳密に調整されており、脳循環血中から血液・脳関門を通過する時が律速段階である。脳内での亜鉛の代謝回転は遅く、高濃度に亜鉛が含まれた海馬などの局所的な領域には、特定の亜鉛輸送活性があり、神経終末のシナプス小胞は、活発に亜鉛を取り込んでいる<sup>12)</sup>。そして、神経が刺激されると亜鉛はシナプス間隙へ放出され、結果的に、脳内に高濃度に蓄積した亜鉛は神経細胞死を誘導する可能性が示唆されている<sup>13)</sup>。

記憶・学習のメカニズムは未だその詳細は不明であるが、現在良く知られているメカニズムのひとつにシナプスの可塑性がある。この可塑性は、長期増強 (long-term potentiation: LTP) と長期抑制 (long-term depression: LTD) に代表される電気生理的機能変化をともない、記憶・学習の形成に関連した主要な細胞内メカニズムである。そのLTPはシナプス後部膜の脱分極に関係し、神経伝達



**Fig. 2** Zinc and copper in the glutamatergic synapse.

APP: amyloid precursor protein; A $\beta$ : amyloid  $\beta$  peptide; Cu: copper; CuATP7a: Menkes CuaATPase; Glu: glutamate; MT3: metallothionein-3; NMDAR: NMDA receptor; Zn: Zinc. This figure was arranged from ref. 14. For more details, refer to the text.

物質であるグルタミン酸がNMDA (N-methyl-D-aspartate) 受容体に結合すると、カルシウムイオンが細胞内に流入し、様々な細胞内伝達系が作動する。Fig. 2<sup>14)</sup>にはシナプス間隙での銅と亜鉛の動態が示されている。亜鉛や銅は、大脳皮質や海馬のグルタミン酸作動性神経のシナプスで多く見出されるが、亜鉛は、グルタミン酸作動性神経のシナプス小胞膜にある亜鉛輸送タンパク ZnT3 の作用によりシナプス小胞に蓄えられる。この亜鉛は、神経に刺激が加わると co-factor としてグルタミン酸と共にシナプス間隙に放出され、後部膜のNMDA 受容体に結合するグルタミン酸の反応性を抑制し、グルタミン酸による異常興奮の発生を防いでいる可能性がある。グルタミン酸が結合してNMDA 受容体が活性化されると、銅は節後ニューロンからシナプス間隙に放出される。海馬では、この放出にメンケス ATPase による銅イオン交換輸送系の亢進が関与する<sup>15)</sup>。さらに最近、銅イオンの生理機能として、海馬でのNMDA 受容体による異常興奮により誘発される神経細胞死を銅イオンは保護し、この保護作用には、海馬の神経細胞から産生される内因性の一酸化窒素が関与することが報告されている<sup>16)</sup>。

## 2. 銅・亜鉛と認知症

神経疾患は加齢と共に増加するが、脳内の鉄イオンなどは加齢と共に増加する。銅や鉄イオンは電子を受けると、ラジカル形成や活性酸素種、ならびに、活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) の産生を促進し、組織の構成成分を酸化させ、神経疾患や、おそらく加齢現象にも関与することは良く理解されている。このことから、シナプス

間隙に集積した銅は神経機能障害を誘発酸化促進物質として作用することが考えられる。

Sparks ら<sup>17)</sup>は、高コレステロールで飼育したウサギにごく微量の銅を添加した飲料水 (0.12 ppm) を与えると、海馬と側頭葉に A $\beta$  が蓄積し、学習機能に障害を来すことを報告した。Morris ら<sup>18)</sup>は、1993 年からシカゴを中心とした大規模な疫学調査 (CHAP: シカゴ健康・加齢プロジェクト疫学調査) を行い、飽和脂肪酸とトランス型脂肪酸摂取量の高いヒト、あるいは血中コレステロール値が高いヒトは、銅の摂取量が多くなると加齢に伴う認知機能の低下がより加速されることを報告している。これらの結果は、飽和脂肪酸やトランス脂肪酸、あるいはコレステロールをより多く摂取するヒトが銅を多く摂取すると、加齢に伴う認知機能の低下がより加速されることが示唆している。この低下を誘発する機序としては、銅により促進される A $\beta$  の沈着の関与が考えられる。

アルツハイマー病発症の主要な原因蛋白である A $\beta$  の前駆体蛋白である APP (amyloid protein precursor) の生理機能は不明であるが、最近、銅の恒常性に関与することが報告されている<sup>19, 20)</sup>。すなわち、シナプス間隙に放出された銅は、生理的濃度範囲では可溶性の A $\beta$  と結合して脳脊髄液に移行して血中に運ばれ、脳内から除去される。一方、銅/鉄複合体は、A $\beta$  の毒性に関係する過酸化水素の様な活性酸素種 (ROS) を産生する<sup>19)</sup>。また、最近の報告によると、多くの生物学的遷移金属は A $\beta$  を凝集させるが、グルタミン酸作動性神経が活性化されるときに遊離される銅と亜鉛だけが、A $\beta$  と直接結合して A $\beta$  を脳内に沈着させ、老人斑を形成することが明らかにされている<sup>21, 22)</sup>。そのため、老人斑には高濃度の銅と亜鉛が含まれる<sup>23)</sup>。アルツハイマー病の脳では、主要な病理所見のひとつに強い酸化ストレス傷害があり、タンパク質カルボニル、8-ヒドロキシグアニンおよび脂質過酸化の増加が認められる<sup>24)</sup>。それ故に、銅イオンが A $\beta$  の毒性を介して酸化ストレスを誘発していることは想像に難くない。Fig. 2 にはシナプス間隙に放出された銅・亜鉛と A $\beta$  との関係が示されている。放出された銅や亜鉛はシナプスから遊離された A $\beta$  と結合し、神経毒性作用の強い A $\beta$  のオリゴマーを形成し、その後、A $\beta$  の架橋が形成されると A $\beta$  は凝集・沈着する。しかしながら健常者では、銅・亜鉛に結合する Metallothionein-3 (MT3) が近傍のアストロサイトから産生され、A $\beta$  と拮抗することにより、銅・亜鉛と A $\beta$  との結合・沈着を防いでいる。AD 患者では、MT3 が低下している<sup>14)</sup>。

さらに、APP は銅と結合することで神経細胞内の銅の排出を調節しているが<sup>25)</sup>、興味ある事に、銅は APP から A $\beta$  を切り出す酵素である  $\beta$ -セクレターゼや  $\gamma$ -セクレターゼを阻害することにより、A $\beta$  の産生を調節している可能性が推察されている<sup>26, 27)</sup>。

これらをまとめると、グルタミン酸作動性神経のシナプスには交換性の亜鉛と銅が非常に多く含まれ、これら金属イオンにより A $\beta$  が凝集・沈着し易くなり、さらに A $\beta$  相

互が架橋を組み易くなると、ますます凝集・沈着が促進する。このことが、ADにおいてA $\beta$ がシナプス部位に最初に沈着する理由であると推察される。すなわち、銅・亜鉛などの金属元素は神経機能を維持するには必須であるが、多量に存在する場合は、ADなどの神経疾患を発症させる要因になると思われる。

### Ⅲ ドコサヘキサエン酸とアルツハイマー病

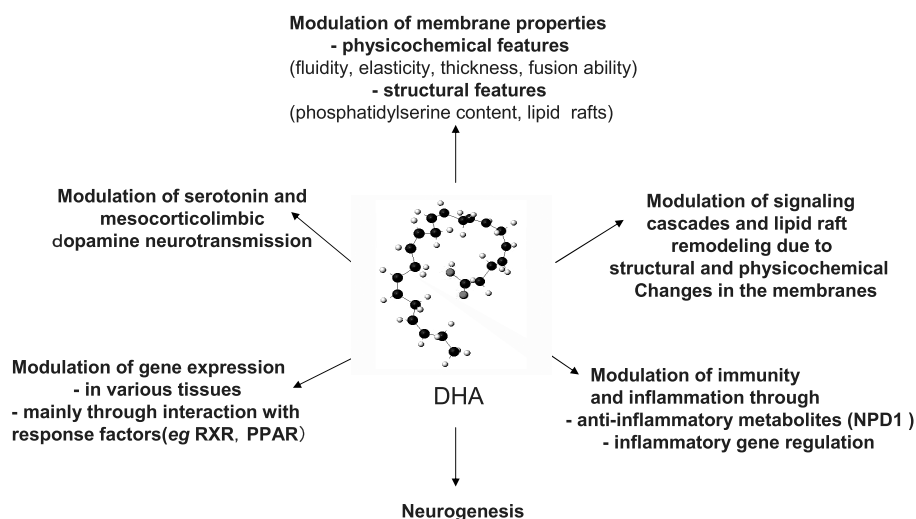
ドコサヘキサエン酸 (DHA, C22:6n-3) は $\alpha$ -リノレン酸 (C18:3n-3) から合成される必須脂肪酸であり、我々はDHAを多く含む魚介類や、 $\alpha$ -リノレン酸が比較的多く含まれるエゴマ油や紫蘇油等から、食事栄養として摂らなければならない。DHAは、脳、網膜、及び精子に多く存在し、脳内では大脳皮質・灰白質のリン脂質脂肪酸の約30~40%を占め、神経細胞のシナプトゾーム膜、シナプス顆粒、ならびに軸索に多く含まれる<sup>28)</sup>。この様にDHAは脳に豊富に含まれることから、従来から中枢神経機能、特に学習・記憶機能に重要な役割を担っていることが推察されていた。動物実験により、脳内のn-3系多価不飽和脂肪酸 (n-3PUFA) 量が低下したラットでは学習機能が低下し<sup>29)</sup>、反対に、このラットにDHAを投与すると脳内DHA量の増加と共に学習機能が向上することが明らかにされている<sup>30,31)</sup>。さらに、多くの欧米の大規模な疫学調査研究では、DHAが多く含まれる魚の消費が高ければ高い程、加齢や認知症による認知機能の低下が抑えられること<sup>5,6)</sup>、さらには中枢神経疾患であるアルツハイマー病<sup>32)</sup>やパーキンソン病<sup>33)</sup>の罹患者は魚の摂取量が少ないことが報告されている。このように最近の多くの研究成果により、DHAの脳機能や神経疾患の予防に対する必須性が明らかにされている。Fig. 3には神経科学領域におけるDHAの脳機能への主要な作用が示されている。これらDHAの生理機能に関する詳細は、著者らを含めた最近の総説<sup>34-36)</sup>を参照されたい。以下では、DHAによるアルツハイマー病

予防・改善効果とその臨床応用への可能性について焦点をあて、我々の研究成果をも含めて、その科学的根拠について述べることにする。

#### 1. 脳におけるDHAの代謝

神経細胞(ニューロン)には、DHAやアラキドン酸(ARA, C20:4n-6)を合成する酵素が欠損していることから、これらの脂肪酸は直接食事から、あるいは肝臓においてこれらの前駆物質である $\alpha$ -リノレン酸やリノール酸(C18:2n-6)からそれぞれが合成され、血液-脳関門(blood-brain barrier)を経て、脳内に輸送される。取り込まれた脂肪酸は、acyl CoA synthetaseとacyltransferaseを介して、ニューロンの細胞膜リン脂質のグリセロールの2位の炭素と結合する。n-3PUFAは、n-6PUFAやコレステロールに対して拮抗的にニューロン膜へ取り込まれるので、膜のDHAが増加するときにはコレステロールやn-6PUFAであるARAは減少する<sup>37)</sup>。ARAの代謝産物であるエイコサノイドには脳の虚血・再還流時に産生され脳障害を来す物質も含まれ、DHAはこのエイコサノイドの産生を抑制することから、間接的にDHAによるニューロンへの保護作用が推察される。

ARAと同様に、結合したDHAは、必要に応じてphospholipase A<sub>2</sub>の作用により細胞膜から遊離され、代謝産物であるドコサノイドとして利用される。最近、ドコサノイドである10,17s-docosatriene (neuroprotectin D1: NPD1)による神経保護作用に関して興味ある報告がなされている<sup>38)</sup>。このNPD1は、マウス脳での虚血・再還流時には抗アポトーシス作用により神経保護作用を発揮し<sup>39)</sup>、また、ニューロンのアポトーシスを保護する様々な関連遺伝子の発現を増強することにより、不溶性のA $\beta$ <sub>1-42</sub>誘発性脳神経細胞死を阻止する。これらの結果から、DHAやその代謝産物であるNPD1の代謝系アゴニストやアナログは、アルツハイマー病とその関連する神経疾患の新規な機能性物質や治療物質になりうる可能性が推察される。



**Fig. 3** The neuroprotective properties of docosahexaenoic acid (DHA) likely rely on various molecular mechanism. This figure was arranged from ref. 36. For more details, refer to the text.

## 2. ニューロンでの DHA の機能性の概略

### (1) 膜流動性の亢進

食餌性 DHA はシナプス膜流動性と脂肪酸不飽和度に影響を及ぼす。著者らは、ニューロン膜に取り込まれた n-3 と n-6 脂肪酸による膜脂肪酸不飽和度の増加や、それら不飽和脂肪酸バランス (n-6/n-3 比) の偏りは、ともに膜流動性を変える事を見出した<sup>40)</sup>。また、コレステロールが膜に過剰に存在する時には膜が硬くなるが、PUFA の摂取はニューロンの膜結合型コレステロール量を減少させる<sup>41)</sup>。細胞膜流動性の変化は細胞内シグナル伝達に關与する膜結合タンパクの機能にも影響を及ぼす。さらにはシグナル伝達に關連する多くの酵素タンパクの遺伝子発現の調節への關与<sup>42-44)</sup>、などが報告されている。DHA の脳機能への作用は、かつて考えられていた以上に多彩なものになっている (Fig. 3)。

### (2) 脳内抗酸化増強作用

生体内に入った多価不飽和脂肪酸は酸化され過酸化脂質となり活性酸素やフリーラジカルを生じることから、脳内 DHA 量の増加は酸化ストレスによる神経障害を増大させ認知機能障害をもたらす<sup>45)</sup>、と長い間考えられていた。しかし著者らは、n-3PUFA 欠乏 100 週齢ラットに DHA を 12 週間投与すると、大脳の DHA 量は増加するにもかかわらず大脳の抗酸化酵素 (カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ) の活性の上昇と共に、逆に過酸化脂質量が減少し<sup>46)</sup>、さらには、DHA を長期投与した若・加齢ラットでは、大脳皮質・海馬の DHA 量が増加すると共に過酸化脂質量は低下し、空間認知機能が亢進すること<sup>30, 31)</sup>などを見出した。同様に他のグループから、DHA 入りミルクを与えた母親から生まれた新生児ラットの脳内では DHA 量が増加するにもかかわらず脂質過酸化量は減少することが報告されている<sup>47)</sup>。これらの結果から、DHA が多量に存在する大脳皮質海馬領域では、DHA は脂質過酸化を受けるよりむしろ、加齢や脳循環不全によって引き起こされる酸化ストレスから神経細胞を保護する作用を持つ可能性がある。

### (3) 神経再生促進作用

脳機能研究の進歩には目覚ましいものがあるが、最近、特に注目すべき研究成果の一つとしては、ヒトを含めた成熟動物での神経幹細胞の存在が明らかになり、その細胞機能が解明されつつあることである。成人の脳室下帯から採取した神経幹細胞がニューロンに分化すること<sup>48)</sup>や、成人脳で神経新生が継続的に起きること<sup>49)</sup>などは、外傷や神経変性疾患などによって失われた中枢機能を再生し得る可能性を示唆する。神経幹細胞を用いた中枢機能再生療法のストラテジーとしては、神経幹細胞を採取・培養した後に病変部に移植する方法と、内在性神経幹細胞のニューロンへの分化を促進して症状の軽減をはかる方法の二通りが考えられる。前者では、脊髄損傷モデルマウスの運動機能

改善効果<sup>50)</sup>や、パーキンソン病モデルラットの症状軽減作用<sup>51)</sup>などが報告されている。

著者らは、培養神経幹細胞に DHA を作用させると、ニューロンへの分化が亢進し、アポトーシスが抑制されること、そして DHA を投与したラットでは、海馬歯状回の新生ニューロン数が増加することを報告した<sup>52)</sup>。また、魚を摂取したヒトでは、感情の情動を司る大脳辺縁皮質 (辺縁系の一部には海馬がある) の灰白質 (神経細胞体の集積部) が増大する<sup>53)</sup>。海馬での神経新生は記憶機能の維持に重要であるため、DHA の投与により AD のみならず幅広い認知症状の改善効果が期待できる。また、さまざまな分化誘導物質に DHA を添加する事で、神経幹細胞の特定のニューロンサブタイプへのコミットを促進できれば、神経幹細胞の移植治療の進歩にも貢献し得ると思われる。

## 3. アルツハイマー病と DHA

### (1) 「AD と食事栄養」に関する鳥根県での疫学調査

前述の様に、魚の消費が高ければ高い程、認知症の発症リスクを低下させ、また加齢や AD による認知機能の低下を抑えることが推察されている<sup>5, 6)</sup>。しかしながら、日本人でのエビデンスはほとんど報告されていない。著者らは、平成 16, 17 年度に、鳥根県の 3 地区を対象として「認知症の予防・治療と食事栄養」に関する疫学調査を行ったところ、横断調査では改訂長谷川式簡易知能スケール (HDS-R: revised Hasegawa dementia rating scale) の下位項目のうち、計算の項目と赤血球膜脂肪酸の EPA, DHA/ARA, EPA/ARA とは有意な正の相関が、ARA とは逆の負の相関が認められた。また、縦断調査 (2 年連続検診参加者 95 名) では、HDS-R の 1 年間の変化で改善群 (2-6 ポイント増加)、不変群 (1 ポイント以内)、悪化群 (2-6 ポイント低下) の 3 群に分け食事栄養を比較検討したところ、タンパク質、n-3 系脂肪酸と魚介類、ならびに調味料の項目において、改善群のほうが悪化群に比べてそれぞれの摂取量が有意に高値を示した (Table 1)。亜鉛、銅に関しては、改善群で高値を示したものの、有意差は認められなかった。鳥根県での横断的・縦断的疫学調査においても、魚介類の摂取は認知機能低下の進行を遅らせる可能性が明らかにされた<sup>54)</sup>。

### (2) DHA による AD 予防・改善効果の実験的実証

#### (2)-1 AD モデル実験動物による検証

著者らは、DHA による若・加齢ラットの空間認知機能向上効果を明らかにしたことから<sup>30, 31)</sup>、臨床応用への前段階として、側脳室に  $A\beta_{1-40}$  を持続的に注入して作製した AD モデルラットを用いて、AD に対する DHA の効果を検討した。この AD モデルラットは、 $A\beta_{1-40}$  を注入して一定期間後に空間認知機能の障害を発症するラットである (Fig. 4A)。n-3PUFA 欠乏食で飼育した 20 週齢のラットに DHA をあらかじめ 15 週間投与しておく、側脳室内への  $A\beta_{1-40}$  注入によって生じる学習障害が抑制される<sup>22)</sup>。

**Table 1** Conditions of friction testing

	Improved group (n = 29)	No-Change group (n = 48)	Aggravation group (n = 19)
Food intake (g)	2990.8 ± 679.2	2913.4 ± 694.9	2609.8 ± 825.3
Energy (kcal)	2149.1 ± 633.0	2009.4 ± 505.9	1846.7 ± 462.5
Protein (g)	86.6 ± 48.4**	72.4 ± 19.5	74.6 ± 19.7**
Lipid (g)	53.9 ± 26.6	49.7 ± 19.0	42.3 ± 19.5
Carbohydrate (g)	304.1 ± 67.0	291.4 ± 65.8	283.3 ± 66.3
Ca (g)	622.9 ± 195.7	610.9 ± 234.4	519.5 ± 223.9
Fatty acids (g)	45.9 ± 22.4	42.1 ± 16.2	36.0 ± 16.4
SFA (g)	14.6 ± 7.0	14.1 ± 6.5	12.7 ± 6.9
MUFA (g)	18.1 ± 9.5	16.4 ± 6.7	13.9 ± 6.2
PUFA (g)	13.2 ± 6.7**	11.6 ± 3.9	9.4 ± 3.8**
n-3 Fatty acid (g)	3.8 ± 2.9**	2.9 ± 1.2	2.2 ± 1.1**
n-6 Fatty acid (g)	10.6 ± 4.8	9.9 ± 3.7	8.4 ± 3.7
Cholesterol (mg)	374.5 ± 247.7	321.2 ± 142.4	272.5 ± 162.9
Zn (mg)	629.7 ± 466.0	613.9 ± 549.6	524.4 ± 438.3
Cu (mg)	20.8 ± 13.7	21.6 ± 18.1	18.0 ± 15.2
Cereals (g)	489.1 ± 135.4	441.8 ± 116.3	462.3 ± 117.6
Potatoes (g)	21.6 ± 16.0	35.2 ± 33.2	30.9 ± 38.3
Sugar (g)	9.6 ± 12.1	7.6 ± 6.6	9.5 ± 9.0
Sweets (g)	43.1 ± 34.7	49.0 ± 64.1	42.4 ± 51.3
Oil salad (g)	17.2 ± 13.1	14.2 ± 10.9	11.3 ± 6.6
Oil mixed (g)	0.43 ± 1.09	0.48 ± 1.30	0.19 ± 1.11
Bean (g)	68.9 ± 32.4	74.2 ± 30.7	53.5 ± 28.1
Fruits (g)	193.7 ± 196.1	182.3 ± 138.7	116.4 ± 95.9
Green or yellow vegetables (g)	137.2 ± 79.2	151.8 ± 88.8	110.2 ± 138.3
Other vegetables (g)	177.9 ± 81.0	178.2 ± 73.8	167.5 ± 102.4
Seaweed (g)	21.3 ± 18.4	25.8 ± 29.9	16.5 ± 16.2
Seasoning (g)	12.2 ± 9.4*, **	8.5 ± 3.8*	6.5 ± 3.6**
Alcohol (g)	134.1 ± 200.0	135.0 ± 369.3	110.3 ± 162.9
Fish (g)	150.8 ± 107.9*	120.0 ± 72.8	90.7 ± 67.8*
Meat (g)	37.5 ± 22.4	36.8 ± 29.0	30.7 ± 22.2
Egg (g)	29.3 ± 27.6	26.4 ± 19.7	29.7 ± 39.4
Milk (g)	176.7 ± 99.9	170.5 ± 100.9	188.8 ± 157.5
Water (g)	199.2 ± 228.6	220.4 ± 221.8	183.5 ± 250.6

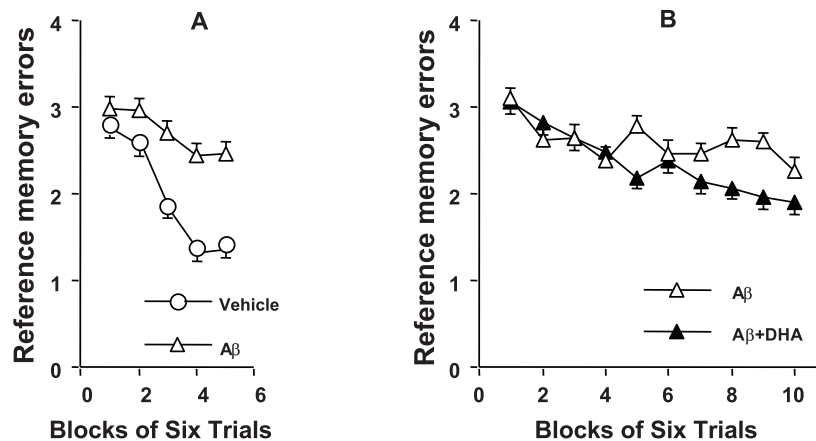
\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$  平均値 ± 標準偏差

さらに  $A\beta_{1-40}$  の注入によって学習障害をきたしたラットに DHA を投与すると、低下した学習能が改善する (Fig. 4B)<sup>56</sup>。同様に、この DHA による学習機能障害改善効果は、AD モデルマウスとして繁用されている APP 過剰発現マウス (APPsw) でも報告されている<sup>57, 58</sup>。これらの結果は、DHA が AD に対して予防効果のみならず、認知症状の改善効果も有する可能性を示唆している。

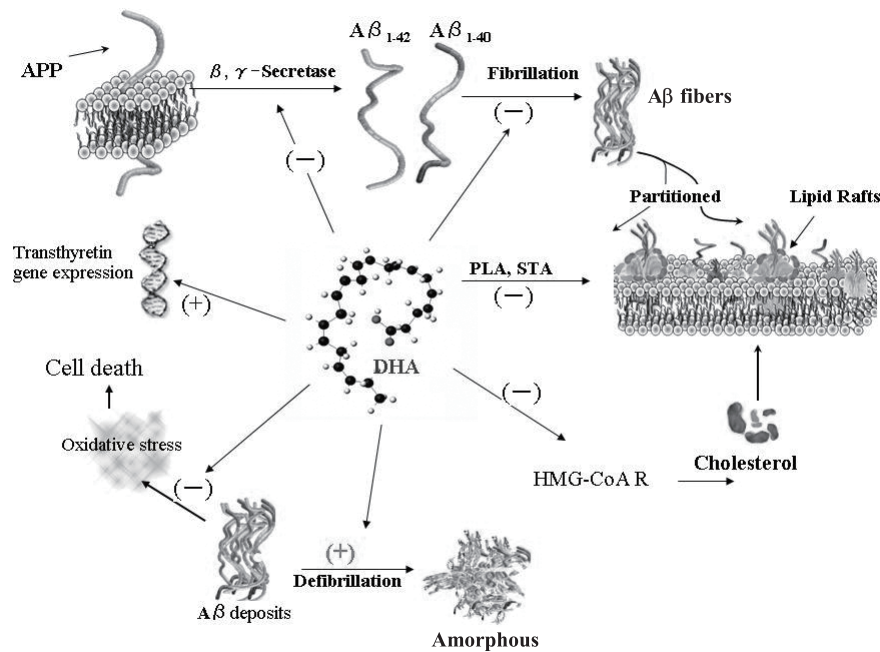
(2)-2 AD 予防・改善効果に対する DHA の作用機序

最近、*vivo* や *vitro* の系で DHA による  $A\beta$  消失・沈着

抑制作用が報告されている。 $A\beta$  の前駆体蛋白である APP が過剰に発現するトランスジェニックマウス (APPsw) に DHA を投与すると、APPsw の空間認知機能が向上し、 $A\beta$  により誘発される後シナプスのタンパク変性が保護され<sup>57</sup>、さらには APP から  $A\beta$  を切り出す APP 分解酵素の  $\beta$ -,  $\gamma$ -セクレターゼを阻害して、海馬での  $A\beta$  の沈着を著明に減少させる<sup>60</sup>。また、DHA を摂取した加齢ラットは、海馬の transthyretin (thyroxin 輸送関連タンパクであり、 $A\beta$  に対するスカベンジ効果をもつ) の遺伝子発現が著明

**Table 1** Conditions of friction testing

**Fig. 4** Effect of the infusion of amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) peptide (1-40) into the rat cerebral ventricle (A) and the effect of docosahexaenoic acid (DHA) administered to the  $A\beta$ -infused rats on reference memory-related learning ability in the radial maze task. Each value represents the number of reference memory errors as the mean  $\pm$  SEM in each block of six trials.  $A\beta$  =  $A\beta$ -infused rats (n = 9);  $A\beta$  + DHA = DHA-administered  $A\beta$ -infused rats (n = 10). Groups without a common letter for the main effects of groups are significantly different at  $P < 0.05$ . This figure was arranged from ref. 56.



**Fig. 5** Protective effect of DHA on the Aβ<sub>1-40</sub>-induced neurotoxicity.

The Aβ<sub>1-40</sub> after *in vivo* infusion (or *in vivo* sequential cleavage by β, γ-secretase enzymes) partitioned into the cholesterol-glycosphingolipids-enriched detergent-insoluble membrane microdomains (lipid rafts). DHA inhibits the harboring of Aβ<sub>1-40</sub> into the rafts by inhibiting fibrillation, by decreasing their cholesterol, probably by inhibiting the cholesterol biosynthesizing enzyme 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGCoA-R), and by decreasing palmitic (PLA) and stearic acid (STA) levels. DHA, by activating antioxidative defenses, scavenges the Aβ<sub>1-40</sub>-induced oxidative and protects neuronal death. DHA directly inhibits the β, γ-secretase enzyme and/or, DHA-induced antioxidative enzymes shields the cleavage sites of amyloid precursor protein (APP), wherein the protease enzymes (β, γ-secretases) cuts to produce Aβ<sub>1-40</sub> and Aβ<sub>1-42</sub>. For more details, refer to the text.

に増加する<sup>44)</sup>。Fig. 5には、著者らの研究成果と最近の報告をもとに作成したAβ誘発性神経細胞毒性に対するDHAの神経保護作用の機序が示されている。このうち、1) Aβオリゴマーの形成、2) 細胞膜ラフトの脂質組成、ならびに3) アポトーシス、に対するDHAの影響について説明する。

#### 1) Aβオリゴマー形成への阻害・消失効果

APPから切り出されたAβは、α-ヘリックス構造からβ-シート構造へと変化し、分子間相互作用により凝集して重合体を形成する(Fig. 6A)。この低分子の重合体(Aβオリゴマー)をラットの脳室に注入すると、シナプス可塑性の指標である長期増強現象(LTP)が阻害され<sup>60)</sup>、Tg2576マウス脳の高溶性Aβオリゴマーの量がモリス水迷路の学習成績と逆相関する<sup>61)</sup>ことなどから、最近では、Aβによる認知機能障害はAβオリゴマーによる神経毒性に起因するとの考え方が主流になりつつある<sup>62)</sup>。

著者らは、ADモデルラットへのDHAの長期投与は認知機能障害改善効果とともに神経細胞膜脂質ラフトのAβ量が低下する事を見出した<sup>63)</sup>。V*itro*の系では、Aβ<sub>1-40</sub>モノマーをDHA存在下で37℃に24時間保温すると、DHAの濃度依存的に10-14 kDaのAβオリゴマーの形成が抑制され(Fig. 6B)、また、あらかじめ形成させたAβ<sub>1-40</sub>の凝集塊(Fig. 6C)にDHAを添加すると、凝集塊が顕著に減少する(Fig. 6D)。これらの結果は、DHAが脳内Aβ

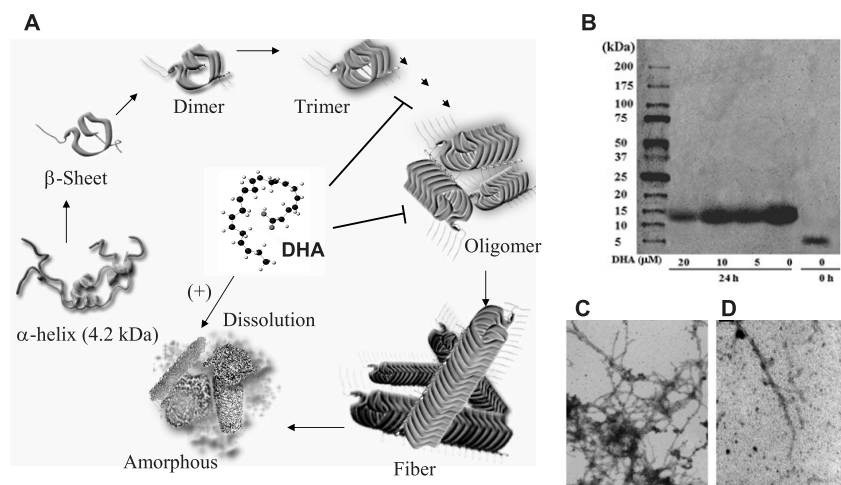
オリゴマー量を減少させるのに有効であることを示唆すると同時に、我々が以前見出したDHAによるADの予防・改善効果を*in vitro*で証明するものと思われる。

#### 2) 脂質ラフトの脂質組成への影響

前述のADモデルラットにDHAを12週間経口投与すると、非投与ADモデルラットに比べて、大脳皮質の神経細胞膜の界面活性剤不溶性膜分画(いわゆる脂質ラフト)中のステアリン酸、オレイン酸、コレステロール量、ならびにAβ量が有意に減少する。この脂質ラフト中のコレステロール量の増加は、膜流動性を減少させ<sup>63)</sup>、さらにはAβ産生とその沈着を増大させることから<sup>64)</sup>、DHA投与ADモデルラットの大脳皮質で見られたAβの減少は、脂質ラフトを構成するコレステロールの低下に起因することが示唆される。

#### 3) アポトーシスへの影響

著者らは、DHAによる予防効果に、DHAによる酸化増強作用と共に抗アポトーシス作用が関連することを見出したが、その詳細な機序は不明であった<sup>55)</sup>。最近、Aβ誘発性神経細胞死に対するDHAの抗アポトーシス作用の機序が明らかになりつつある。Aβ<sub>1-40</sub>重合体が神経細胞に作用すると神経細胞死が誘導される。しかしながら、DHA存在下では、Aβによる細胞骨格の破壊やカスパーゼの活性化が阻害されるばかりではなく、細胞内シグナル経路が



**Fig. 6** Effects of DHA on *in vitro* A $\beta$ <sub>1-40</sub> fibrillation and dissolution.

A: Process of the formation from monomer to fibers of A $\beta$  and the amorphous and the action site of DHA.

B: Band density of 4–20 % Tris-Glycine gradient gel electrophoresis of soluble amyloid oligomers. A $\beta$ <sub>1-40</sub> (50  $\mu$ M) was incubated with 0 (A $\beta$  control), 5, 10 and 20  $\mu$ M DHA. Non-incubated sample was also prepared in parallel. At the end of incubation, all samples were filtered through ultrafilter with 10 kDa molecular mass limit, centrifuged at 100,000 g for 30 min to pellet insoluble species. Soluble oligomers were separated and stained with coomassie brilliant blue.

C & D: Electron micrographs of destabilized amyloid fibrills. The preformed aggregated A $\beta$  peptides (20  $\mu$ M) were incubated at 37°C with 20  $\mu$ M DHA (D) or without (C) for 24 h. The matured fibrils were destabilized something like amorphous consistency after 24 h of incubation with DHA (D).

作動しアポトーシスは回避され、神経細胞の生存率が高まる事が報告されている<sup>65)</sup>。

## おわりに

### (3) ヒト介入試験

我が国では、AD患者に対して食事介入による治療はまだほとんど行われていないが、AD患者に対する食行動全体の改善を目指した行動修正療法の報告がある<sup>66)</sup>。魚を一日一回(約80g)、緑黄色野菜と果物を一日350g以上摂取する事を推奨し、約30ヶ月介入した結果、介入を行った群のうち栄養指導を良く守った群(遵守群)はよく守らなかった群(非遵守群)と比較すると、ミニメンタルテスト(Mini-mental state examination: MMSE)の変化が30ヶ月の段階で平均5.2点高値を示した(介入前を起点とすると遵守群は+2.2、非遵守群は-3.0)。また非介入群でのMMSEの変化は非遵守群と酷似しており、栄養指導をよく受け入れる事が認知機能の維持あるいは改善に重要である事が明らかにされた。

最近、スウェーデンのカロリンスカ研究所から発表されたヒト介入試験結果によると、AD患者に対して、DHA(1.7g/日)とEPA(0.6g/日)をサプリメントとして6ヶ月間投与すると、MMSEスコアが27点以上の超軽度AD患者の場合には、認知機能の低下を有意に抑制出来る事が明らかにされた<sup>67)</sup>。6ヶ月間という短期間であることや、サプリメントによる摂取は食事で摂取するよりも効果が希薄であるとの問題点もあるが、この介入試験結果は、従来の考え方によれば認知症とは判断されないが、自ら記憶障害を訴えて受診する患者にはDHA/EPAは有用であることを示唆している。

戦後、我が国の食習慣は、魚肉・野菜を中心とした和食から獣肉と動・植物油を中心とした欧米型に移行し、これまで若年層に顕著であった魚離れが、いまや中高年層にまで及んでいる<sup>68)</sup>。この欧米型食習慣への変化は、健康寿命を延ばす上では得策であったかもしれないが、アレルギー・炎症性疾患、さらには精神疾患の増加を伴っていたと考えられる。一方、魚油摂取による致死性心筋梗塞への予防効果に関するガイドラインや勧告が米国心臓病学会やヨーロッパ心臓病学会から相次いで発表され、皮肉にも、欧米では、我が国とは反対に、健康志向が強い欧米人や中国の富裕層の人々により魚肉中心の和食文化が評価されて、今や魚の消費拡大は世界的規模に広がっている。本稿では、前半では銅・亜鉛とADとの関連性について、後半では魚の主成分であるDHAの神経機能への役割と、認知症への予防・治療効果への有用性を中心に解説した。我が国の魚離れの現状は、本稿の主旨と反した状況にある。日本人と欧米人とは遺伝的背景や食習慣などの様々な環境因子が異なるので、欧米の研究成果をそのまま日本人に当てはめるには問題が多い。しかしながら神経疾患と栄養に関する日本人のエビデンスに関するデータは極めて少ないのが現状である。来るべき少子超高齢化社会を健全で豊かな社会にする為にも、今後一層、日本人のエビデンスを集積して、脳機能・神経疾患と栄養との関係を明らかにする必要がある。

## 謝辞

本研究の一部は、平成17-18年度日本学術振興会科学研究



究費補助金(基盤研究(C):17590205)(研究代表者 橋本道男)と平成19~21年度日本学術振興会科学研究費補助金(基盤研究(C):19500324)(研究代表者 橋本道男)による援助を受けて施行したものである。

### 参考文献

- 1) Goodwin JS, Goodwin JM, Garry PJ (1983) Association between nutritional status and cognitive functioning in a healthy elderly population. *JAMA* 249: 2917–2921.
- 2) Tucker DM, Penland JG, Sandstead HH, Milne DB, Heck DG, Klevav LM (1990) Nutrition status and brain function in aging. *Am J Clin Nutr* 52: 93–102.
- 3) Riggs KM, Spiro A III, Tucker K, Rush D (1996) Relations of vitamin B-12, vitamin B-6, folate, and homocysteine to cognitive performance in the Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr* 63: 306–314.
- 4) Ortega RM, Reguejo AM, Andres P, López-Sobaler AM, Quintas ME, Redondo MR, Navia B, Rivas T (1997) Dietary intake and cognitive function in a group of elderly people. *Am J Clin Nutr* 66: 803–809.
- 5) Barberger-Gateau P, Letenneur L, Deschamps V, Peres K, Dartigues JF, Renaud S (2002) Fish, meat, and risk of dementia: cohort study. *Br Med J* 325: 932–933.
- 6) Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Bennett DA, Wilson RS, Aggaewal N, Schneider J (2003) Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol* 60: 940–946.
- 7) Gouras GK, Almeida CG, Takahashi RH (2005) Intraneuronal A $\beta$  accumulation and origin of plaques in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 26: 1235–1244.
- 8) 岩田修永, 樋口真人, 西道隆臣(2008)脳内プロテアーゼの活性制御によるアルツハイマー病の治療戦略. *日本薬理学雑誌* 131: 320–325.
- 9) de la Torre JC (2004) Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurol* 3: 184–190.
- 10) Prohaska JR, Hoffman RG (1996) Auditory startle response is diminished in rats after recovery from perinatal copper deficiency. *J Nutr* 126: 618–627.
- 11) Hunt CD, Idso JP (1995) Moderate copper deprivation during gestation and lactation affects dentate gyrus and hippocampal maturation in immature male rats. *J Nutr* 125: 2700–2710.
- 12) Hambidge M, Cousins RJ, Costello RB (2000) Introduction. *J Nutr*, 130: 1341S–1343S.
- 13) Canzoniero LM, Manzerra P, Sheline CT, Choi DW (2003) Membrane-permeant chelators can attenuate Zn<sup>2+</sup>-induced cortical neuronal death. *Neuropharmacology*, 45: 420–428.
- 14) Barnham KJ, Bush AI (2008) Metals in Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Curr Opin Chem Biol* 12: 222–228.
- 15) Schlieff ML, Craig AM, Gitlin JD (2005) NMDA receptor activation mediates copper homeostasis in hippocampal neurons. *J Neurosci* 25: 239–246.
- 16) Schlieff ML, West T, Craig AM, Holtzman DM, Gitlin JD (2006) Role of the Menkes copper-transporting ATPase in NMDA receptor-mediated neuronal toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 14919–14924.
- 17) Sparks DL, Schreurs BG (2003) Trace amounts of copper in water induce  $\beta$ -amyloid plaques and learning deficits in a rabbit model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 11065–11069.
- 18) Morris MC, Evans DA, Tangney CC, Bienias JL, Schneider JA, Wilson RS, Scherr PA (2006) Dietary copper and high saturated and trans fat intakes associated with cognitive decline. *Arch Neurol* 63: 1085–1088.
- 19) Adlard PA, Bush AI (2006) Metals and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 10: 145–163.
- 20) Kong GK, Adams JJ, Harris HH, Boas JF, Curtain CC, Galatis D, Masters CL, Barnham KJ, Mckinsrory WJ, Cappai R, Parker MW (2007) Structural studies of the Alzheimer's amyloid precursor protein copper-binding domain reveal how it binds copper ions. *J Mol Biol* 367: 148–161.
- 21) Opazo C, Huang X, Cherny R, Moir R, Roher A, White A, Cappai R, Masters C, Tanzi R, Inestrosa N, Bush AI (2002) Metalloenzyme-like activity of Alzheimer's disease  $\beta$ -amyloid. Cu-dependent catalytic conversion of dopamine, cholesterol, and biological reducing agents to neurotoxic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Biol Chem* 277: 40302–40308.
- 22) Dong J, Atwood CS, Anderson VE, Siedlak SL, Smith AM, Perry G, Carey PR (2003) Metal binding and oxidation of amyloid- $\beta$  within isolated senile plaque cores: Raman microscopic evidence. *Biochemistry* 42: 2768–2773.
- 23) Stoltenberg M, Bruhn M, Sondergaard C, Doering P, West MJ, Larsen A, Troncoso JC, Danscher G (2005) Immersion autometallographic tracing of zinc ions in Alzheimer  $\beta$ -amyloid plaques. *Histochem Cell Biol* 123: 605–611.
- 24) Butterfield DA, Perluigi M, Sultana R (2006) Oxidative stress in Alzheimer's disease brain: new insights

- from redox proteomics. *Eur J Pharmacol* 545: 39–50.
- 25) Bellingham SA, Ciccotosto GD, Needham BE, Fodero LR, White AR, Masters CL, Cappai R, Camakaris J (2004) Gene knockout of amyloid precursor protein and amyloid precursor-like protein-2 increases cellular copper levels in primary mouse cortical neurons and embryonic fibroblasts. *J Neurochem* 91: 423–428.
  - 26) Angeletti B, Waldron KJ, Freeman KB, Bawagan H, Hussain I, Miller CC, Lau KF, Tennant ME, Dennison C, Robinson NJ, Dingwall C (2005) BACE1 cytoplasmic domain interacts with the copper chaperone for superoxide dismutase-1 and binds copper. *J Biol Chem* 280: 17930–17937.
  - 27) Hoke DE, Tan JL, Ilaya NT, Culvenor JG, Smith SJ, White AR, Masters CL, Evin GM (2005) *In vitro*  $\gamma$ -secretase cleavage of the Alzheimer's amyloid precursor protein correlates to a subset of presenilin complexes and is inhibited by zinc. *FEBS J* 272: 5544–5557.
  - 28) Scott BL, Bazan NG (1989) Membrane docosahexaenoate is supplied to the developing brain and retina by the liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2903–2907.
  - 29) Yamamoto N, Saitoh M, Moriuchi A, Nomura M, Okuyama H (1987) Effect of dietary  $\alpha$ -linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J Lipid Res* 28: 144–151.
  - 30) Gamoh S, Hashimoto M, Sugioka K, Hossain M, S Hata N, Misawa Y, Masumura S (1999) Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory-related learning ability in young rats. *Neuroscience* 93: 237–241.
  - 31) Gamoh S, Hashimoto M, Hossain S, Masumura S (2001) Chronic administration of docosahexaenoic acid improves the performance of radial maze task in aged rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28: 266–270.
  - 32) 植木 彰 (1999) アルツハイマー病の危険因子としての食事栄養素；脂肪酸摂取バランスの重要性. *Dementia Japan* 13: 69–77.
  - 33) Ueki A, Otsuka M (2004) Life style risks of Parkinson's disease: Association between decreased water intake and constipation. *J Neurol* 251: VII/18–VII/23.
  - 34) 橋本道男 (2006) ドコサヘキサエン酸による脳機能改善作用と神経疾患への応用. *オレオサイエンス* 6: 67–76.
  - 35) Calon F, Cole G (2007) Neuroprotective action of omega-3 polyunsaturated fatty acids against neurodegenerative disease: Evidence from animal studies. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 77: 287–293.
  - 36) Florent-Bechard S, Malaplate-Armand C, Koziel V, Kriem B, Olivier JL, Pillot T, Oster T (2007) Towards a nutritional approach for prevention of Alzheimer's disease: Biochemical and cellular aspects. *J Neuro Sci* 262: 27–36.
  - 37) Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI (2002) The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging* 23: 843–853.
  - 38) Lukiw WJ, Cui JG, Marcheselli VL, Bodker M, Botkjaer A, Gotlinger K, Serhan CN, Bazan NG (2005) A role for docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. *J Clin Invest* 115: 2774–83.
  - 39) Marcheselli VL, Hong S, Lukiw WJ, Tian XH, Gronert K, Musto A, Hardy M, Gimenez JM, Chiang N, Serhan CN, Bazan NG (2003) Novel docosanoids inhibit brain ischemia-reperfusion-mediated leukocyte infiltration and pro-inflammatory gene expression. *J Biol Chem* 278: 43807–43817.
  - 40) Shahdat H, Hashimoto M, Shimada T, Shido O (2004) Synaptic plasma membrane-bound acetylcholinesterase activity is not affected by docosahexaenoic acid-induced decrease in membrane order. *Life Sci* 74: 3009–3024.
  - 41) Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI (1998) Modulation of learning and neural membrane composition in the rat by essential fatty acid preparation: time-course analysis. *Neurochem Res* 23: 627–634.
  - 42) Farkas T, Kitajka K, Fodor E, Csengeri I, Lahdes E, Yeo YK, Krasznai Z, Halver JE, (2000) Docosahexaenoic acid-containing phospholipid molecular species in brains of vertebrates. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 6362–6366.
  - 43) Kitajka K, Puskas LG, Zvara A, Hackler LJ, Barcelo-Coblijn, Yeo YK, Farkas T, (2002) The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in brain: modulation of rat brain gene expression by dietary n-3 fatty acids. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 2619–2624.
  - 44) Puskas LG, Kitajka K, Nyakas C, Barcelo-Coblijn G, Farkas T (2003) Short-term administration of omega-3 fatty acids from fish oil results in increased transthyretin transcription in old rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 1580–1585.
  - 45) Eddy DE, Harman D (1977) Free radical theory of aging: effect of age, sex and dietary precursors on rat-brain docosahexanoic acid. *J Am Geriatr Soc* 25: 220–229.
  - 46) Hossain M, Hashimoto M, Gamoh S, Masumura S (1999) Antioxidative effects of docosahexaenoic acid in the cerebrum versus cerebellum and brainstem of

- aged hypercholesterolemic rats. *J Neurochem* 72: 1133–1138.
- 47) Green P, Glozman S, Yavin E (2001) Ethyl docosahexaenoate-associated decrease in fetal brain lipid peroxide production is mediated by activation of prostanoid and nitric oxide pathways. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Bio Lipids* 1531: 156–164.
  - 48) Pincus DW, Keyoung HM, Harrison-Restelli C, Goodman RR, Fraser RA, Edgra M, Sakakibara S, Okana H, Nedergaard M, Goldman SA (1998) Fibroblast growth factor-2/brain-derived neurotrophic factor-associated maturation of new neurons generated from adult human subependymal cells. *Ann Neurol* 43: 576–585.
  - 49) Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH (1998) Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4: 1313–1317.
  - 50) Iwanami A, Kaneko S, Nakamura M, Kanemura Y, Mori H, Kobayashi S, Yamasaki M, Momoshima S, Ishii H, Ando K, Tanioka Y, Tamaoki N, Nomura T, Toyama Y, Okano H (2005) Transplantation of human neural stem cells for spinal cord injury in primates. *J Neurosci Res* 80: 182–190.
  - 51) Goldman S (2005) Stem and progenitor cell-based therapy of the human central nervous system. *Nat Biotechnol* 23: 862–871.
  - 52) Kawakita E, Hashimoto M, Shido O (2006) Docosahexaenoic acid promotes neurogenesis in vitro and in vivo. *Neuroscience* 139: 991–997.
  - 53) Conklin SM, Gianaros PJ, Brown SM, Yao JK, Hariri AR, Manuck SB, Muldoon MF (2007) Long-chain omega-3 fatty acid intake is associated positively with corticolimbic gray matter volume in healthy adults. *Neurosci Letts* 421: 209–212.
  - 54) 橋本道男, 山下一也 (2008) 食事で防ぐ認知症 – 特に魚摂取との関連 – . *最新精神医学* 13 : 75–82.
  - 55) Hashimoto M, Hossain S, Shimada T, Sugioka K, Yamasaki H, Fujii Y, Ishibashi Y, Oka J, Shido O (2002) Docosahexaenoic acid provides protection from impairment of learning ability in Alzheimer's disease model rats. *J Neurochem* 81: 1084–1091.
  - 56) Hashimoto M, Tanabe Y, Fujii Y, Kikuta T, Shibata H, Shido O (2005) Chronic administration of docosahexaenoic acid ameliorates impairment of spatial cognition learning ability in amyloid  $\beta$ -infused rats. *J Nutr* 135: 549–555.
  - 57) Calon F, Lim GP, Yang F, Morihara T, Teter B, Ubeda O, Rostaing P, Tyiller A, Salem N Jr, Ashe KH, Frautschy SA, Cole GM (2004) Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuron* 43: 633–645.
  - 58) Cole GM, Frautschy SA (2006) Docosahexaenoic acid protects from amyloid and dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Nutr Health* 18: 249–259.
  - 59) Lim GP, Calon F, Morihara T, Yang F, Teter B, Ubeda O, Salem N Jr, Frautschy SA, Cole GM (2005) A diet enriched with the  $\omega$ -3 fatty acid docosahexaenoic acid reduced amyloid burden in an aged Alzheimer mouse model. *J Neurosci* 25: 3032–3040.
  - 60) Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, Wolfe MS, Rowan MJ, Selkoe DJ (2002) Naturally secreted oligomers of amyloid  $\beta$  protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416: 535–539.
  - 61) Lesné S, Koh MT, Kotilinek L, Kaye R, Glabe CG, Yang A, Gallagher M, Ashe KH (2006) A specific amyloid- $\beta$  protein assembly in the brain impairs memory. *Nature* 440: 352–357.
  - 62) FINDER VH, GLOCKSHUBER R (2007) Amyloid- $\beta$  aggregation. *Neurodegener Dis* 4: 13–27.
  - 63) Hashimoto M, Hossain S, Agdul H, Shido O (2005) Docosahexaenoic acid-induced amelioration on impairment of memory learning in amyloid  $\beta$ -infused rats relates to the decreases of amyloid  $\beta$  and cholesterol levels in detergent-insoluble membrane fractions. *Biochim Biophys Acta* 1738: 91–98.
  - 64) EHEHALT R, KELLER P, HAASS C, THIELE C, SIMONS K (2003) Amyloidogenic processing of the Alzheimer-amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J Cell Biol* 160: 113–123.
  - 65) Florent S, Malaplate-Amand C, Youssef I, Kriem B, Koziel V, Escanyé MC, Fifre A, Sponne I, Leininger-Muller B, Olivier JL, Pillot T, Oster T (2006) Docosahexaenoic acid prevents neuronal apoptosis induced by soluble amyloid- $\beta$  oligomers. *J Neurochem* 96: 385–395.
  - 66) 大塚美恵子 (2006) 食事・栄養. *CURRENT THERAPY* 24: 51–55.
  - 67) Freund-Levi Y, Jonhagen ME, Cederholm T, Basun H, Faxén-Irving G, Garling A, Vedin I, Vessby B, Walund LO, Palmblad J (2006) Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderate Alzheimer disease: OmegaAD study: a randomized double-blind trial. *Arch Neurol* 63: 1402–1408.
  - 68) (水産白書 平成 19 年版) : 水産庁. 水産白書 平成 19 年度 – 我が国の魚食文化を守るために. 農林統計協会 2007.