

機関番号：13902

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20500706

研究課題名 (和文) 脳タンパク質合成の調節機構におけるタンパク質栄養の役割に関する研究

研究課題名 (英文) Role of dietary protein on the regulation of brain protein synthesis in aged rats

研究代表者

早瀬 和利 (HAYASE KAZUTOSHI)

愛知教育大学・教育学部・教授

研究者番号：10144180

研究成果の概要 (和文)：本研究の目的は、低タンパク質栄養により観察される脳タンパク質合成の低下のメカニズムを、成熟ラットで明らかにすることである。タンパク質合成の開始因子のリン酸化、血中成長ホルモン濃度、脳内のロイシンなどアミノ酸濃度が、低タンパク質食、低栄養価タンパク質食摂取で有意に低下し、一方、脳タンパク質合成は、成長ホルモン欠乏モデルの脳下垂体摘出ラットで低下し、成長ホルモン投与で回復した。以上の結果から、タンパク質栄養による脳タンパク質合成の変動のメカニズムとして、開始因子の重要性並びに成長ホルモンの寄与が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：The purpose of present study was to determine the mechanism by which the quality and quantity affect the brain protein synthesis in aged rats. The plasma concentration of growth hormone (GH), the concentration of leucine in the brain, and the phosphorylation of S6K1 and 4E-BP1 in the brains decreased with a decrease of quality and quantity of dietary protein. The protein synthesis rates in the brains of hypophysectomized rats with GH were significantly greater than those in hypophysectomized rats without GH. The results suggest that the GH treatment and the phosphorylation of eukaryotic initiation factors are at least partly related to the brain protein synthesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：栄養学

科研費の分科・細目：分科：生活科学，細目：食生活学

キーワード：脳タンパク質合成，タンパク質栄養，開始因子，成長ホルモン，アミノ酸

1. 研究開始当初の背景

(1) 幼若ラットで、制限アミノ酸摂取で脳タンパク質合成が増加すること、成長ホルモンにより、脳の遺伝子発現が促進されることは報告があるが、成熟ラットで、タンパク質栄養に脳タンパク質合成が依存していることを

明らかにしたのは、我々が初めてである。

(2) 肝臓、骨格筋におけるタンパク質合成において、アミノ酸・タンパク質栄養による調節において開始因子、特に4E-BP1、S6K1のリン酸化の重要性が明らかにされている

が、脳におけるタンパク質合成の調節機構は不明である。

2. 研究の目的

(1) 脳タンパク質の遺伝子発現や翻訳段階での調節作用が知られている成長ホルモンの脳タンパク質合成速度に及ぼす影響について、脳下垂体摘出ラットを用いて明らかにする。

(2) タンパク質合成開始段階で重要な役割が報告されている 4E-BP1 (eIF 4E binding protein 1), S6K1 (S6Kinase 1) のリン酸化の程度について、脳の各部位 (大脳, 小脳) で検討する。

(3) 血中成長ホルモン, アミノ酸濃度, 脳アミノ酸濃度に及ぼす食餌タンパク質の量的, 質的影響について明らかにする。

以上のことから、高齢者の脳機能におけるタンパク質栄養の役割について飛躍的示唆を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

24 週齢の雄ラットを用いた。

(1) 擬似手術群, 脳下垂体摘出群, 脳下垂体摘出+成長ホルモン投与群の 3 群で, 大脳, 小脳, 海馬, 脳幹のタンパク質合成速度を $^3\text{H-Phe}$ の大量投与方法で決定した。RNA 濃度を決定し, RNA activity を算出した。

(2) ラットを 3 群に分け, 下記の食餌のいずれかを与える。

- ① 0%カゼイン食, 5%カゼイン食, 20%カゼイン食
- ② 20%ゼラチン食, 20%グルテン食, 20%カゼイン食

脳ポリソーム形成でタンパク質栄養の影響が認められた大脳, 小脳における 4E-BP1, S6K1 のリン酸化の程度を測定した。

(3) 血中成長ホルモンは摂取直後に上昇するため, 1 日 5 時間のみ与える meal-feeding 法に慣れさせたラットに (2) と同様の食餌を 5 時間のみ与え, 血中成長ホルモン濃度, 血中, 大脳アミノ酸濃度を決定した。

4. 研究成果

(1) 脳の各部位のタンパク質合成速度並びに RNA activity は脳下垂体摘出 (Hypox) で有意に低下し, 成長ホルモン (GH) 投与で対照群レベルまで回復し, 成長ホルモンの体内濃度に脳タンパク質合成が依存して変動すること, タンパク質合成の翻訳過程との関連が指摘されている RNA activity とタンパク質合成速度の間に正の相関が観察され, 成長ホルモンは, RNA 濃度よりもむしろ RNA activity を調節し, 脳タンパク質合成に影響していることが示唆された。

表 1. 脳タンパク質合成速度に及ぼす成長ホルモンの影響

	Control	Hypox	Hypox + GH
合成速度 (Ks, %/d)			
大脳	20.1	15.4	20.2
小脳	21.9	15.5	21.2
海馬	18.7	15.6	20.4
脳幹	32.4	27.6	36.4

Hypox : 脳下垂体摘出

GH : 成長ホルモン

表 2. 脳 RNA 濃度, RNA activity に及ぼす成長ホルモンの影響

	Control	Hypox	Hypox + GH
RNA/Protein			
大脳	13.2	12.3	12.4
小脳	12.9	11.0	11.4
海馬	10.9	11.1	10.8
脳幹	11.3	10.7	10.8
RNA activity			
大脳	15.2	12.5	16.3
小脳	17.0	14.1	18.6
海馬	17.2	14.1	18.9
脳幹	28.7	25.8	33.7

Hypox : 脳下垂体摘出

GH : 成長ホルモン

RNA/Protein (mg RNA/g protein) : RNA 濃度

RNA activity (g protein synthesized/g RNA · d)

: 単位 RNA 当たり 1 日当たりのタンパク質合成能力

(2) タンパク質合成の翻訳過程の指標の一つであるポリソーム形成は、脳において大脳と小脳のみタンパク質栄養に依存していること、骨格筋、肝臓において、開始因子の S6K1 並びに 4E-BP1 のリン酸化が、タンパク質・アミノ酸栄養によるタンパク質合成の調節において重要性が報告されている。そこで、脳において検討したところ、大脳、小脳での S6K1 のリン酸化、大脳での 4E-BP1 のリン酸化の程度が、低栄養価タンパク質食、低タンパク質食摂取で有意に低下し、一方、小脳における 4E-BP1 のリン酸化は、タンパク質栄養の影響を受けなかった。これらの結果から、成熟ラットにおいて、食餌タンパク質の栄養価や量が、タンパク質合成翻訳過程の開始因子の S6K1 並びに 4E-BP1 のリン酸化を調節し、脳タンパク質合成に影響する要因の一つとして示唆された。

表 3. 脳の S6K1, 4E-BP1 リン酸化に及ぼすタンパク質栄養の影響

	0% Casein	5% Casein	20% Casein
S6K1 (%)			
大脳	18.5	16.9	50.5
小脳	16.5	13.7	54.5
4E-BP1 (%)			
大脳	21.5	37.5	55.4
小脳	38.4	38.7	20.8

(3) 肝臓、骨格筋の検討から、mTOR 系の情報伝達系に含まれる開始因子の S6K1, 4E-BP1 のリン酸化の調節は、細胞内アミノ酸（ロイシンなど）に依存していることが示され、また本研究により、脳タンパク質合成が体内成長ホルモン濃度にも依存して変動することが明らかになった。そこで、血中成長ホルモン濃度、脳内、血中アミノ酸濃度を決定したところ、血中成長ホルモン濃度、大脳並びに血中のロイシンを含む必須アミノ酸濃度が、低栄養価タンパク質食、低タンパク質食摂取で有意に低下した。食餌タンパク質の栄養価や量が、脳内のロイシンを含むアミノ酸濃度や体内成長ホルモン濃度を調節していることが明らかになった。

表 4. 血中成長ホルモン濃度、血中、大脳ロイシン濃度に及ぼすタンパク質栄養の影響

	0% Casein	5% Casein	20% Casein
血中 GH (μ g/L)	9.83	9.38	62.31
血中 Leu (mmol/L)	0.063	0.105	0.268
大脳 Leu (μ mol/g)	0.063	0.071	0.102

GH : 成長ホルモン

Leu : ロイシン

(4) 以上の結果から、食餌タンパク質の質的影響並びに量的影響による脳タンパク質合成の調節には、開始因子に係る S6K1, 4E-BP1 のリン酸化の程度が寄与していること、さらに、成長ホルモンや脳内のアミノ酸濃度が寄与している可能性が示唆された。従来、脳タンパク質合成のメカニズムを翻訳段階に着目して研究を実施した例はないため、タンパク質栄養学に貢献するとともに、高齢者のタンパク質栄養に重要な問題提起となると考えられる。

(5) アミノ酸の中でも、分岐鎖アミノ酸のロイシンは、肝臓、骨格筋で S6K1, 4E-BP1 のリン酸化を促進することが報告されているが、脳においては現在、まだその役割は不明である。また、成長ホルモンは、従来、脳におけるタンパク質合成の転写過程を促進すること、内臓、骨格筋では、翻訳過程への寄与が知られている。そこで、今後さらに、タンパク質栄養と脳タンパク質合成の相互関係を明らかにするには、脳において、ロイシンなどアミノ酸や成長ホルモンが、開始因子へどのように影響するか明らかにすることが不可欠であり、検討が望まれる。

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1件)

- ① Ohsumi, M., Yoshizawa, F., Hayase, K. and Yokogoshi, H. (2010) Effect of quality and quantity of dietary protein on 4E-BP1 and S6K1 phosphorylation of brains in aged rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 56: 319-325. 査読有

[学会発表] (計2件)

- ① 大住美穂, 渥美祐太, 吉澤史昭, 早瀬和利, 横越英彦 : 「食餌タンパク質の量的, 質的影響による脳タンパク質合成の変動における4E-BP1並びにS6K1リン酸化の役割」 第62回日本栄養・食糧学会大会, 女子栄養大学, 2008年5月4日.
- ② Tujioka, K., Ohsumi, M., Hayase, K. and Yokogoshi, H. : The growth hormone affects the brain protein synthesis rate in hypophysectomized aged rats. 11th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins. Vienna, Austria, August 3-7, 2009.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早瀬 和利 (HAYASE KAZUTOSHI)
愛知教育大学・教育学部・教授
研究者番号 : 10144180

(2) 研究分担者

分担者なし

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

辻岡 和代 (TUJIOKA KAZUYO)
桜花学園大学・保育学部・准教授
研究者番号 : 90440809

横越 英彦 (YOKOGOSHI HIDEHIKO)
静岡県立大学・食品栄養科学部・教授
研究者番号 : 70109320