

平成 22 年 4 月 20 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：18720052

研究課題名（和文） 加齢に伴う脳機能の変動における女性ホルモン欠乏と GABA 摂取の役割に関する研究

研究課題名（英文） Dietary γ -aminobutyric acid affects the brain function in ovariectomized female rats

研究代表者

辻岡 和代 (TSUJIOKA KAZUYO)

桜花学園大学・保育学部・准教授

研究者番号：90440809

研究成果の概要（和文）：

我々はこれまでに、加齢によりタンパク質合成は低下するが、食事の栄養価を改善することによってタンパク質合成が促進することを明らかにしてきた。また、 γ -アミノ酪酸（GABA）を添加することによって脳機能が改善することを報告した。しかし、これまで行ってきた GABA を用いた研究は、幼若雄ラットを実験動物として用いており、我々の研究を還元できる範囲としては、若年層の男性に限られてしまう。ところが、加齢に伴う機能の低下は男性特有のものでない。特に閉経を迎えた女性の体機能の調節は大きな社会的関心事のひとつであるにもかかわらず閉経後の女性を視野に入れた脳機能の調節において、機能性食品成分の 1 つである GABA がどのように関わっているのか詳細に検討した報告は国内外にも認められない。

そこで本研究では、閉経後の女性の脳機能維持・改善を目的とし、機能性食品成分である GABA 摂取時の、脳タンパク質合成の解明や、女性ホルモンの変化、さらに、学習記憶活動の指標となる成分の測定を行うことによって、高齢女性の脳機能を維持する上での健全な栄養摂取について考察した。

動物は、24 週齢雌ラットを用い、Sham-operated ラット群、卵巣摘出ラット群、卵巣摘出+GABA 摂取群の 3 群で試験食を 10 日間与えた。試験食として Sham-operated ラット群と卵巣摘出ラット群には 20%カゼイン食を、GABA 摂取群には 20%カゼイン+0.5%GABA を用いた。血中成長ホルモンの測定においては、1 日 3 時間のみ摂取させる meal-feeding に慣れさせたラットに試験食を 1 回 3 時間のみ投与した。

実験は、大脳、小脳、海馬、脳幹のタンパク質合成速度を Garlick ら (2) の ^3H -Phe 大量投与方法により決定し、あわせて血中成長ホルモン濃度、RNA/Protein, RNA activity を決定した。(H20 年度)

また、学習、記憶の神経活動において重要なコリン作動性ニューロンの調節因子として知られている神経成長因子 (NGF) について、大脳、海馬で検討した。(H21 年度)

その結果、大脳、小脳におけるタンパク質合成速度、血中成長ホルモン濃度、および RNA activity は、20%カゼイン食摂取群に比べ GABA 添加食摂取で有意に増加した。RNA 量は、各群において有意な差はみられなかった。このことから、GABA 投与における脳タンパク質合成の促進は、RNA 量ではなく、RNA activity に依存していることが考えられた。またこれらの結果は、GABA による脳タンパク質合成の調節メカニズムの一つとして、体内成長ホルモン濃度の関与を示しているものと考えられた。

さらに、大脳、海馬の NGF 量は、20%カゼイン食摂取群に比べ GABA 添加食摂取で有意に増加した。従来からも、コリン作動性ニューロンの神経伝達物質であるアセチルコリンの合成や、ニューロンそのものの維持に NGF が寄与することが報告されており、閉経女性における脳機能の維持において GABA 摂取の重要性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study was to determine whether the γ -aminobutyric acid

(GABA) affects the rate of brain protein synthesis in ovariectomized female rats. Experiments were done on two groups of 24-old-wk ovariectomized female rats given the 0% or 0.5% GABA added to the 20% casein diet. The concentrations of plasma GH increased significantly with the 20% casein + 0.5% GABA compared with the 20% casein diet alone. In the brain regions, GABA treatment to the basal diet elevated significantly the fractional and absolute rates of protein synthesis. In brain regions, the RNA activity [g protein synthesized/(g RNA · d)] significantly correlated with the fractional rate of protein synthesis. The RNA concentration (mg RNA/g protein) was not related to the fractional rate of protein synthesis.

The results suggest that the treatment of GABA to ovariectomized female rats are likely to increase the concentrations of plasma GH and the rate of protein synthesis in the brain, and that RNA activity is at least partly related to the fractional rate of brain protein synthesis. The concentrations of NGF increased significantly with the 20% casein + 0.5% GABA compared with the 20% casein diet alone. The results suggest that the treatment of GABA to ovariectomized female rats increases NGF.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1,900,000	570,000	2,750,000
21年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,570,000

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：脳機能・タンパク質・神経成長因子・GABA・女性ホルモン・ラット

1. 研究開始当初の背景

本研究に関連する国内・国外の研究動向として、以下の3点に分類される。

(1) 加齢、食餌成分と脳タンパク質合成

Waterlow ら、Goldspink らの研究グループにより、内臓、骨格筋のタンパク質合成は、加齢に伴い低下することが証明された。また、Hayase らは、脳におけるタンパク質合成は、タンパク質栄養に依存し、高栄養価タンパク質の摂取により改善することを明らかにしている。我々は、通常食に GABA を添加することにより、幼若雄ラットの脳内タンパク質合成が増加することを明らかにした。

(2) 女性ホルモンとタンパク質合成、学習、記憶活動

Pan らは、閉経モデル雌ラットにおいて、脳における NGF 濃度、コリンアセチルトランスフェラーゼ活性ならびにその遺伝子発現が低下すること、Hayase らは、脳のタンパク質合成速度が、閉経モデルラットで低下する

ことを示した。

(3) エストロゲンによる GABA の放出

Mitsushima らは、エストロゲンが視床下部の GABA の放出を促進することを報告した。また、GABA の放出の変化が成長ホルモンの放出を調節する可能性があると示唆した。

2. 研究の目的

我々はこれまでに、加齢によりタンパク質合成は低下するが、食事の栄養価を改善することによってタンパク質合成が促進することを明らかにしてきた。また、 γ -アミノ酪酸 (GABA) を添加することによって脳機能が改善することを報告した。しかし、これまで行ってきた GABA を用いた研究は、幼若雄ラットを実験動物として用いており、我々の研究を還元できる範囲としては、若年層の男性に限られてしまう。ところが、加齢に伴う機能の低下は男性特有のものでない。特に閉経を

迎えた女性の体機能の調節は大きな社会的関心事のひとつであるにもかかわらず閉経後の女性を視野に入れた脳機能の調節において、機能性食品成分の1つである GABA がどのように関わっているのか詳細に検討した報告は国内外にも認められない。

そこで本研究では、卵巣摘出による閉経モデル雌ラットを用いて、脳機能に及ぼす女性ホルモンと GABA 摂取の影響について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 飼育方法 24 週齢雌ラットを用いる。Sham-operated ラット, 卵巣摘出ラット, 卵巣摘出+GABA 摂取の3群で試験食を10日間与える。試験食として Sham-operated ラットと卵巣摘出ラットは20%カゼイン食を, GABA 摂取群は, 20%カゼイン+0.5%GABA を摂取させた。血中成長ホルモンの測定においては, 1日3時間のみ摂取させる meal-feeding に慣れさせたラットに試験食を1回3時間のみ投与した。

(2) 実験内容 大脳, 小脳, 海馬, 脳幹のタンパク質合成速度を Garlick らの ³H-Phe 大量投与法により決定し, あわせて RNA/Protein, RNA activity を決定した。大脳, 海馬の NGF 濃度を ELISA 法により測定した。

4. 研究成果

食事摂取量および, 10 日間の体重増加量, 脳組織重量は, 3 群とも有意な差はみられなかった (Table 2) 血中成長ホルモン濃度は, 20%カゼイン食摂取群に比べ GABA 添加食摂取で有意に増加した (Table 3)。大脳, 小脳におけるタンパク質合成速度, および RNA activity は, 20%カゼイン食摂取群に比べ GABA 添加食摂取で有意に増加した (Table 4)。一方, RNA 量は, 各群において有意な差はみられなかった (Table 3)。このことから, GABA 投与における脳タンパク質合成の促進は, RNA 量ではなく, RNA activity に依存していることが考えられた。またこれらの結果は, GABA による脳タンパク質合成の調節メカニズムの一つとして, 体内成長ホルモン濃度の関与を示しているものと考えられた。

さらに, 大脳, 海馬の NGF 量は, 20%カゼイン食摂取群に比べ GABA 添加食摂取で有意

に増加した (Table 5)。従来からも, コリン作動性ニューロンの神経伝達物質であるアセチルコリンの合成や, ニューロンそのものの維持に NGF が寄与することが報告されており, 閉経女性における脳機能の維持において GABA 摂取の重要性が示唆された。

Table 1. Composition (g/100 g of diet) of experimental diets

Ingredient	20% Casein	20% Casein + 0.5% GABA ¹
Casein	20.0	20.0
GABA	0.00	0.50
Cystine	0.3	0.3
Cornstarch ²	43.3	43.0
Sucrose ²	21.7	21.5
Corn oil	5.0	5.0
AIN-93G mineral mix ³	3.5	3.5
AIN-93VX Vitamin mix ³	1.0	1.0
Cellulose ²	5.0	5.0
Choline chloride	0.2	0.2

¹ γ -Aminobutyric acid

² Supplied by Oriental Yeast, Tokyo Japan.

³ Supplied by Nihon Nosan K. K., Yokohama, Japan.

Table 2. Effect of the addition of GABA¹ to a basal diet on body weight gain and brain relative weights in ovariectomized female rats.²

	Control	GABA ¹
Body weight gain (g/10 d) ³	28.2±2.2	27.6±1.7
Food intake (g/d)	16.7±0.5	16.9±1.1
Tissue weight (g/100 g body weight)		
Cerebral cortex	0.17±0.01	0.17±0.01
Cerebellum	0.11±0.004	0.12±0.004
Hippocampus	0.046±0.003	0.047±0.003
Brain stem	0.063±0.001	0.070±0.004
Tissue protein (mg/g tissue)		
Cerebral cortex	155±2	159±2
Cerebellum	158±3	158±2
Hippocampus ⁴	157	158
Brain stem ⁴	166	164

¹ γ -Aminobutyric acid

² Values are means and SEM, n=5.

³ Initial body weight of rats was 190-220 g.

⁴ Data were obtained by a single analysis of pooled samples from five rats.

Table 3. Effect of the addition of GABA¹ to a basal diet on plasma concentration of growth hormone in ovariectomized female rats.²

	Control	GABA ¹
Final body weight (g)	217±4	215±5
Plasma GH ³ (μ g/L)	18.6±2.6 ^b	51.6±7.8 ^a

¹ γ -Aminobutyric acid.

² Values are means and SEM, n=5. Means with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

³ Growth hormone.

Table 4. Effect of the addition of GABA¹ to a basal diet on protein synthesis in brain regions of ovariectomized female rats.²

	Control	GABA ¹
Protein synthesis, Ks(%/d)		
Cerebral cortex	14.7±0.8 ^b	21.0±1.1 ^a
Cerebellum	15.9±0.7 ^b	21.2±0.9 ^a
Hippocampus	21.9	26.8
Brain stem	20.5	29.5
Absolute protein synthesis (mg protein synthesized/(tissue·d))		
Cerebral cortex	8.7±0.5 ^b	12.8±0.9 ^a
Cerebellum	6.3±0.3 ^b	8.8±0.4 ^a
Hippocampus ³	3.6	4.6
Brain stem ³	5.0	7.7
RNA/Protein, mgRNA/g protein		
Cerebral cortex	13.3±0.2	12.9±0.4
Cerebellum	13.0±0.3	13.4±0.2
Hippocampus ³	14.2	13.4
Brain stem ³	9.6	10.4
RNA activity, μ g protein synthesized/ μ g RNA·d		
Cerebral cortex	11.1±0.5 ^b	16.3±0.8 ^a
Cerebellum	12.2±0.4 ^b	16.0±0.8 ^a
Hippocampus ³	15.0	20.0
Brain stem ³	21.4	28.4

¹ γ -Aminobutyric acid

² Values are means and SEM, n=5. Means with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

³ Data were obtained by a single analysis of pooled samples from five rats.

Table 5. Effect of the addition of GABA¹ to a basal diet on Concentration of NGF in brain regions of ovariectomized female rats.²

	Control	GABA ¹
Initial body weight (g)	195.6±2.2	195.6±2.1
Changes in body weight (g/10 d)	27.8±2.9	30.6±2.2
Food intake (g/d)	17.1±0.3	17.5±0.4
NGF (ng/g tissue)		
Cerebral cortex	4.08±0.37 ^b	5.22±0.29 ^a
Hippocampus	9.46±0.40 ^b	11.30±0.31 ^a

¹ γ -Aminobutyric acid

² Values are means and SEM, n=5. Means with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

³ Data were obtained by a single analysis of pooled samples from five rats.

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)

〔学会発表〕 (計 1 件)

Dietary γ -Aminobutyric Acid Affects the Brain Protein Synthesis Rate in Ovariectomized Female Rats.

K. Tujioka, M. Ohsumi, K. Hayase, and H. Yokogoshi

11th International Congress on Amino Acids and Proteins

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻岡 和代 (TSUJIOKA KAZUYO)

桜花学園大学・保育学部・准教授

研究者番号：90440809