

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：13902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350125

研究課題名(和文) 加齢に伴う脳機能の変動におけるオルニチン摂取の役割

研究課題名(英文) Role of dietary ornithine on the regulation of brain function 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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、オルニチン摂取により観察される脳タンパク質合成の増加のメカニズムを明らかにすることである。脳タンパク質合成速度は、対照群でオルニチン摂取で有意に増加したが、脳下垂体摘出によりオルニチンの効果は消失した。脳タンパク質合成の促進作用は、アルギニンよりもオルニチンの方が明らかに高かった。海馬の神経成長因子は、その濃度が、オルニチン摂取で有意に増加し、mRNAレベルはオルニチンの影響を受けなかった。以上の結果から、オルニチン摂取による脳タンパク質合成のメカニズムには、オルニチン自身の重要性、成長ホルモンの寄与が示され、mRNAレベルでは寄与していないことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of present study was to determine the mechanism by which the dietary ornithine affect the brain protein synthesis in aged rats. The protein synthesis rates of brain regions increased significantly in ornithine-treated rats. However, the ornithine injection did not affect the protein synthesis rates of brain in the hypophysectomized rats. The effect of arginine on brain protein synthesis was lower than that of ornithine. The concentration of Nerve Growth Factor (NGF) in the hippocampus were significantly greater in rats fed the ornithine. The level of NGF mRNA in the hippocampus did not differ by the dietary ornithine. The results suggest that the ornithine-induced increase in the concentration of growth hormone may be primarily responsible for changes in the brain protein synthesis. The mRNA level may be not related to the brain protein metabolism when the dietary ornithine is manipulated.

研究分野：栄養学

キーワード：オルニチン 脳タンパク質合成 成長ホルモン 脳下垂体摘出 アルギニン 神経成長因子 転写過程  
ラット

1. 研究開始当初の背景

(1) オルニチン摂取, オルニチン代謝産物のアルギニン摂取で血中成長ホルモンが上昇すること, 成長ホルモンにより, 脳のタンパク質合成並びに遺伝子発現が促進されることは報告があるが, ラットにおいてオルニチン摂取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) 脳組織の維持・生存や学習・記憶活動に係わるタンパク質成分である脳における神経成長因子 (Nerve growth factor, NGF) の濃度, mRNA は, 低タンパク質栄養で低下することが明らかにされているが, NGF の代謝変動におけるオルニチンの役割は不明である。

2. 研究の目的

本研究では, 成熟ラットを用いた。

(1) オルニチンによる脳タンパク質合成の変動における成長ホルモンの役割について, 脳下垂体摘出による成長ホルモン欠乏ラットを用いて明らかにする。

(2) 血中成長ホルモン濃度を上昇させることが知られているアルギニンの脳タンパク質合成への影響を血中成長ホルモンへの影響とともに検討する。

(3) 低タンパク質栄養で低下が判明している海馬 NGF の濃度, 並びに mRNA について, オルニチンの役割を検討する。

以上のことから, 高齢者の脳機能におけるタンパク質を構成しないアミノ酸のオルニチンの役割について詳細に検討し, 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, 擬似手術+オルニチン摂取群, 脳下垂体摘出群, 脳下垂体摘出+オルニチンの 4 群に分け, 試験食として 20%カゼイン食, 20%カゼイン+0.7%オルニチン食を摂取させた。大脳, 小脳, 海馬, 脳幹のタンパク質合成速度を <sup>3</sup>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) 血中成長ホルモンは摂取直後に上昇するため, meal-feeding に慣れさせたラットを 5 群に分け, 20%カゼイン食, 0.25%アルギニン, 0.5%アルギニン, 0.7%アルギニン, 0.7%オルニチンのいずれかを添加した食餌を 3 時間のみ与え, 血中成長ホルモン濃度を決定した。さらに, ラットを 3 群に分け, 20%カゼイン食, 20%カゼイン+0.7%アルギニン食, 20%カゼイン+0.7%オルニチン食のいずれかを摂取させ, (1)と同様の方法で, 大脳, 小脳, 海馬のタンパク質合成速度を決定した。

(3) ラットを 2 群に分け, 20%カゼイン食, 20%カゼイン+0.7%オルニチン食のいずれかを与える。これまでタンパク質栄養の影響が観察された海馬において, NGF の濃度, mRNA レベルを決定した。

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, 擬似手術群(Control)ではオルニチン摂取で有意に増加したが, 脳下垂体摘出(Hypox)によりオルニチンの効果は消失した。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 とタンパク質合成の間に正の相関が観察され, オルニチン摂取による脳タンパク質合成の増加メカニズムは, 体内成長ホルモン濃度の関与が強く示唆された。本条件における脳タンパク質合成の調節機作として RNA activity の変化が考えられた。

表 1. 脳タンパク質合成速度に及ぼす  
オルニチンの影響

	Control	Control + Orn	Hypox	Hypox + Orn
合成速度 (Ks, %/d)				
大脳	19.0	22.8	14.7	15.0
小脳	20.8	25.1	16.8	17.1
海馬	20.6	24.3	17.5	17.9
脳幹	31.4	37.3	26.8	27.0

Hypox: 脳下垂体摘出

Orn: オルニチン

(2) オルニチンとともにアルギニンの摂取で血中成長ホルモン(GH)濃度が上昇すること, 脳タンパク質合成がオルニチン摂取に依存していることが報告されている。そこで, 代謝産物アミノ酸の役割について検討したところ, 脳の各部位のタンパク質合成速度, 血中成長ホルモン濃度は, オルニチン並びにアルギニンの摂取により有意に増加し, オルニチン摂取で最も高い値を示した。これらの結果から, 脳タンパク質合成への促進作用はアルギニンよりもオルニチンの方が明らかに高く, オルニチンによる脳タンパク質合成の増加において, アルギニンの寄与は少ないと考えられ, 主としてオルニチン自身が成長ホルモンを増加させ, 脳タンパク質合成を促進させる可能性が示唆された。

表 2 . 血中成長ホルモン濃度に及ぼすアルギニンの影響

	血中 GH ( $\mu\text{g/L}$ )
Control	10.4
+0.25% Arg	10.6
+0.5% Arg	18.7
+0.7% Arg	24.9
+0.7% Orn	50.3

Arg : アルギニン

Orn : オルニチン

表 3 . 脳タンパク質合成速度に及ぼすアルギニン並びにオルニチンの影響

	Control	Control + 0.7% Arg	Control + 0.7% Orn
合成速度 (Ks, %/d)			
大脳	18.7	20.9	23.8
小脳	22.3	23.7	27.6
海馬	22.0	23.2	26.3

Arg : アルギニン

Orn : オルニチン

(3) 脳における検討から、成長ホルモンにより脳の遺伝子発現が促進されること、また本研究により、オルニチンによる脳タンパク質合成の変動が、体内成長ホルモン濃度に依存していることが明らかになった。そこで、従来、低タンパク質栄養で低下が報告されている海馬 NGF の濃度、mRNA を決定したところ、海馬の NGF 濃度は、食餌からのオルニチン摂取で増加し、他方海馬における NGF mRNA レベルは、オルニチン摂取の影響を受けなかった。オルニチンが脳組織の維持や学習・記憶活動に関与している可能性が考えられるとともに、脳タンパク質合成の転写過程において、少なくとも mRNA レベルでは調節していない可能性が示された。

表 4 . 海馬 NGF の濃度並びに mRNA に及ぼすオルニチンの影響

	Control	Control + 0.7% Orn
NGF 濃度 (ng/g)	8.06	9.32
NGF mRNA	1.000	1.023

NGF : 神経成長因子

mRNA : Control 群の値との相対的な比  
の値で示された

Orn: オルニチン

(4) 以上の結果から、オルニチン摂取による脳タンパク質合成の調節メカニズムには、体内成長ホルモン濃度の関与が示唆されること、代謝産物アミノ酸であるアルギニンの寄与は少なく、主としてオルニチン自身が脳タンパク質合成を促進させる可能性が示唆されたこと、脳タンパク質合成の mRNA レベルでは寄与していない可能性が明らかとなった。これまで、タンパク質を構成しないアミノ酸のオルニチンによる脳タンパク質合成のメカニズムを実施した研究はなく、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・アミノ酸栄養に対しての重要な問題提起となると考えられる。

(5) 低タンパク質栄養により、大脳、小脳のポリソ - ム形成並びに開始因子に係わる S6K1, 4E-BP1 のリン酸化の程度が低下すること、成長ホルモンは、内臓、骨格筋で翻訳過程への寄与が報告されているが、オルニチンについては、まだその役割は不明である。そこで、今後さらにオルニチンと脳タンパク質合成の相互関係を明らかにするには、オルニチンが開始因子にどのように影響するか明らかにしていくことが重要であり、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0件)

〔学会発表〕(計3件)

早瀬和利, 鈴木昌子, 竹本智香,  
早田由佳, 辻岡和代, 秋月さおり,  
菱田幸宏, 山田貴史, 横越英彦: 「オル  
ニチンによる脳タンパク質合成速度の変  
動におけるアルギニンの役割」 第68回  
日本・栄養食糧学会大会, 酪農学園大学  
(北海道・江別市),  
2014年5月30日 - 6月1日.

Tujioka, K., Yamada, T., Yokogoshi, H.,  
Akiduki, S., Hishida, Y. and Hayase, K.  
: The effect of dietary ornithine  
on the nerve growth factor and the  
choline acetyltransferase in the brain  
regions in aged rats.  
12th Asian Congress of Nutrition.  
Pacifico Yokohama, Yokohama, Kanagawa,  
Japan, May 14-18, 2015.

Tujioka, K., Yamada, T., Yokogoshi, H.,  
Akiduki, S., Hishida, Y. and Hayase, K.  
: Role of thyroid hormone on the brain  
protein synthesis in rats fed the  
ornithine. 14th International Congress  
on Amino Acids, Peptides and Proteins.  
Vienna, Austria, August 3-7, 2015.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

早瀬 和利 (HAYSE 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)  
中部大学・応用生物学部・教授  
研究者番号: 70109320