

# 分枝鎖アミノ酸添加食飼育ラットのβ-エンドルフィンとメラトニン分泌に及ぼす自由運動量増加の影響

福島 秀夫\*, 帛田 昌恵\*\*, 小山 淳子\*, 井上 典子\*\*\*

(平成6年9月30日受理)

## Effect of active wheel running on β-endorphin and melatonin secretion in BCAA enriched diet fed rat.

Hideo FUKUSHIMA\*, Masae TORADA\*\*, Junko KOYAMA\* and Noriko INOUE\*\*\*

(Received, 1994)

### 1. 緒言

飼料中分枝鎖アミノ酸 (branched chain amino acid; BCAA) ロイシン, イソロイシン, バリン) の添加は, ラットの自発運動量を増加させ, そのアクトグラムよりフリーラン周期を短縮することを一連の実験1~4で検証した<sup>1)</sup>.

本報告では, 脳内活性ペプチド, エンドルフィンおよびメラトニンの分泌に対して, 自発運動量増加の影響を明暗日リズムとのタイミングにおいて明らかにする目的で, これまでの実験シリーズ<sup>1)</sup>に実験5, 6を加えて追究した.

### 2. 実験方法

#### ・実験飼料組成

18%Casein食 (19%BCAA) を対照食とし, これにBCAA粉末 (Val 0.98, Leu 1.49, Ile 0.90 計3.37%) をCasin 14.63%に加え窒素量を対照食と等しくした18%BCAA/Casein食を実験食<sup>1)</sup>とした. 両飼料中には適正量のビタミン, ミネラルを含有させた.

### 3. 実験内容

#### ・運動量, 体重, 飲水量, 摂食量の測定

体重150g (6週齢)前後のWistar系, 雄性ラットを回転式運動量測定器付飼育ケージ, 各群5セット計10ケージを用い恒温 (22°C~24°C)・恒湿 (約55%) 環境下で飼

育し, 摂食量, 飲水量測定と給餌, 給水を同時に1週間隔で行い, 連日の測定によるラットの行動リズムの乱れや影響を極力避けることにつとめた.

運動量 (回転数) は, 回転かご (1回転走行距離: 116cm) による回転数を全期間を通じて, 10分間隔でコンピュータを用いて記録した.

#### ・明 (L)・暗 (D) 調節と実験期間

実験5 前期間を L : D = 12時間 (6<sup>00</sup>~18<sup>00</sup>) : 12時 (18<sup>00</sup>~6<sup>00</sup>) で6.4週間.

実験6 I期 L : D = 12時 (6<sup>00</sup>~18<sup>00</sup>) : 12時 (18<sup>00</sup>~6<sup>00</sup>) で12日間 (1.7週), II期 13日目のL期 (6<sup>00</sup>~18<sup>00</sup>) を17時間延長し, 翌日11<sup>00</sup>までとし, 次いで8時間のD期 (11<sup>00</sup>~19<sup>00</sup>) をおき, 以後 L : D = 16時 (19<sup>00</sup>~11<sup>00</sup>) : 8時 (11<sup>00</sup>~19<sup>00</sup>) として5週間計6.7週間.

なお前回の実験3, 4<sup>1)</sup>を合わせ実験3~6のプロフィールを表1に示す.

Experiment	Stage					total	Blood sampling (1st day week)
	I	II	III	IV	V		
Exp.3	3 weeks LD-12:12h	4 weeks DD-24h				7 weeks	13.0 w
Exp.4	2 weeks LD-12:12h	4 weeks DD-24h	4 weeks DD-24h	4 weeks LD-12:12h	4 weeks LD-12:12h	18 weeks	24.0 w
Exp.5	6.4 weeks LD-12:12h					6.4 weeks	12.4 w
Exp.6	1.7 weeks LD-12:12h	5 weeks LD-16:8h				6.7 weeks	12.7 w

Feeding	Rat		Diet					
	No.1-3 No.8-10	No.1-3 No.8-10	BCAA	Casein	BCAA	Casein	BCAA	Casein
Exp.3&6	<del>No.1-3</del>	<del>No.8-10</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>
Exp.5	<del>No.1-3</del>	<del>No.8-10</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>
Exp.4	<del>No.1-3</del>	<del>No.8-10</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>	<del>BCAA</del>	<del>Casein</del>

(Diet cross-over)

Table 1 Experimental profile

#### ・測定項目

(1) 自発運動量: 輪回し回転数 (rev), 輪回し走行距離

\* 栄養学科 臨床栄養学第2研究室

\*\* 栄養学科 給食管理第2実習室

\*\*\* バイオックス(株) (元 東京家政大学臨床栄養学第2研究室)

(回転数×1.16m)

(2) 体重増加, 摂食量, 飲水量 (1週毎の測定値より求める (g/day))

(3) 血液生化学

- ・メラトニン: RIA (二抗体法)
- ・β-エンドルフィン: RIA (PEG法)
- ・血漿遊離アミノ酸: HPLC法

血液の測定は, メラトニン, β-エンドルフィンについては, SRL(株)エスアールエル(八王子ラボ, 東京都八王子市小宮町51)に依頼し, 血漿遊離アミノ酸分析は, 日立液体高速クロマトグラフィー-L6200型を用いて, 日立#2619F充填カラム, 37°C, リチウム緩衝液, 分析時間210分で行った。

#### 4. 結果および考察

1) 運動量 (rev/day)

実験5 (図1) では全期間L:D=12時(6<sup>00</sup>~18<sup>00</sup>)で全期間を通じてBACC群 (BCAA-G) が対照群 (Control-G) を上廻ることが多く, これまでの実験群<sup>1)</sup>と同様に実験開始3~4週目に変曲点を示して以後両群とも下降する。

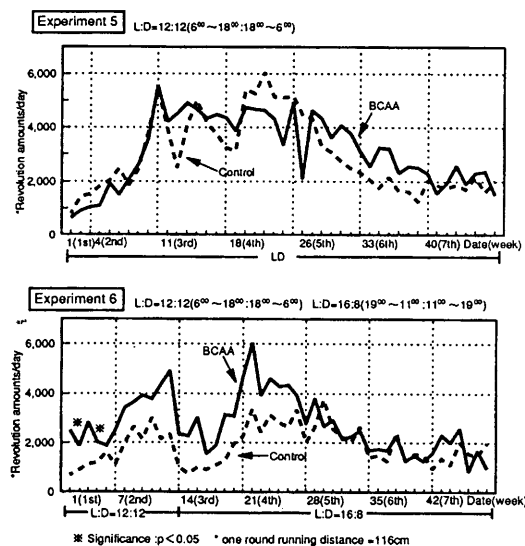


Fig 1 Revolution amounts measured by running wheel

実験6 (図1) においても, 実験開始3~4週目に変曲点を迎えるまで比較的明瞭にBCAA群が対照群を上

廻る経過をとる。その後の下降期に入ると差はそれ程明瞭でなくなる。

2) 体重, 摂食量および飲水量

実験5 (図2) は, 1週毎測定の日平均体重増加 (g) は実験開始2週間以後はBCAA群は対照群に比へ有意に上廻り, 摂食量 (g), 飲水量 (g) はBCAA群が対照群以下となって経過している。

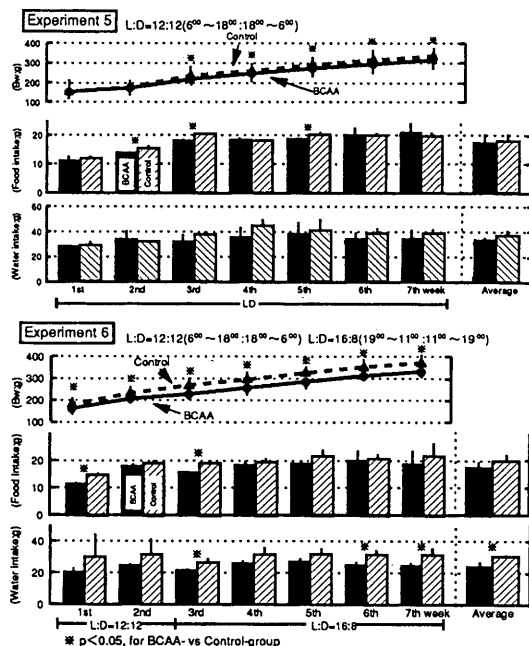


Fig 2 Changes of body weight, food intake and water intake per day

実験6 (図2) では前記の実験5の変化を更に著しい差となって観察された。

なお, L:D=12:12をL:D=16:8にLD条件を変化させた実験開始後13日目の前後でもこの傾向はほとんど変化が認められなかった。

3) 血液生化学

測定は暗期 (ラットの活動期) のほぼ中央の時間帯の前3時間空腹 (自由飲水) 後へパリン採血し, 得られた測定値は前回報告<sup>1)</sup>した実験3, 4の結果と合わせて検討した。なお, 採血時間帯は実験3, 4でそれぞれほぼ活動期終了, 活動期間開始時に, 実験5, 6では暗期 (活動期) 中央で行った。

分枝鎖アミノ酸添加飼育ラットのβ-エンドルフィンとメラトニン分泌に及ぼす自由運動量増加の影響

(1) 血漿遊離アミノ酸 (n mol/ml) (図3)

ヒトでサッカー<sup>2)</sup>, マラソン, 30kmクロスカントリー競技<sup>3)</sup>によりBCAA液剤又は錠剤投与群はプラセボ群に比べ競技による血中BCAA低下を著明に改善すると報告されている。

Amino Acid (nmol/ml)	Exp.3		Exp.4		Exp.5		Exp.6	
	BCAA-G	Control-G	BCAA-G	Control-G	BCAA-G	Control-G	BCAA-G	Control-G
Leucine	115.9(47)	48.5(31)	163.7(23)	115.8(19)	202.8(10)	188.9(5)	211.7(19)	160.8(13)
Isoleucine	60.1(32)	30.6(24)	101.0(29)	48.0(34)	86.7(9)	77.4(5)	212.4(52)	172.0(34)
Valine	146.3(49)	55.0(30)	223.9(20)	263.1(24)	164.5(9)	150.2(7)	264.4(46)	280.5(42)
(Leu-Ile-Val)	322.3(33)	134.1(23)	498.6(33)	428.9(63)	454.0(32)	416.6(33)	688.4(11)	613.0(26)
Phenylalanine	37.7(27)	23.3(25)	83.0(27)	43.9(16)	101.8(5)	86.5(7)	123.3(41)	130.0(40)
Tyrosine	54.4(14)	27.6(28)	75.5(35)	45.6(37)	109.5(7)	104.0(15)	126.8(23)	158.5(31)
(Phe+Tyr)	92.1(18)	50.9(8)	158.5(5)	89.5(2)	211.3(4)	200.5(4)	250.1(1)	288.5(10)

\* Mean(CV%), \*\* p<0.01, # p<0.05, for BCAA- vs Control-group

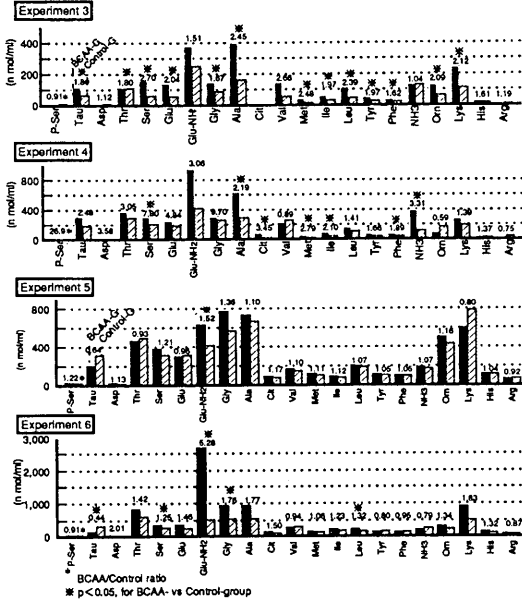


Fig 3 Rat plasma aminogram

今回著者らの実験(図3)ではラット血漿アミノグラムは実験3, 4は何れもBCAA群が多くのアミノ酸特に分枝鎖アミノ酸(実験4のバリンを除く)で有意の増加が認められた。

それに対し実験5, 6はBCAA群で有意に増加するものは少なく, グルタミン(実験5), グルタミン, ロイシン, タウリン, セリン, グリシン(実験6)で増加した。

BCAAを4つの実験群(3, 4, 5, 6)で比較すると(表2)実験3は対照群に比べBCAA群が極めて高値で3種のBCAAの総量も何れもBCAA群で高い値を示した。

芳香族アミノ酸(aromatic amino acid;AAA)(フェニールアラニン, チロシン)は, 実験3~5でBCAA群が高く実験6は対照群が高い値を示し, 以上は文献2), 3)の報告とほぼ同様の傾向を示した。

(2) メラトニン (p g/ml) (図4)

両群とも実験3, 4が低く, 実験5, 6は高いが, こ

Table 2 Changes of Branched Chain Amino Acid (BCAA) and Aromatic Amino Acid in Plasma

の測定値は明暗期採血時のタイミングの相違(明期で低く暗期で急速に上昇する<sup>4)</sup>)が関連するが, さらに加齢<sup>5)</sup>の影響の可能性もあると思われた。両群間の相違は, 実験3でみられBCAA群24.6, 対照群34.2とBCAA群は有意の低下を示したが運動負荷による血中メラトニン値については増加<sup>6) 7) 8)</sup>, 不変又は低下<sup>9) 10) 11) 12)</sup>, と多くの報告がみられるがその結果は一致していない。

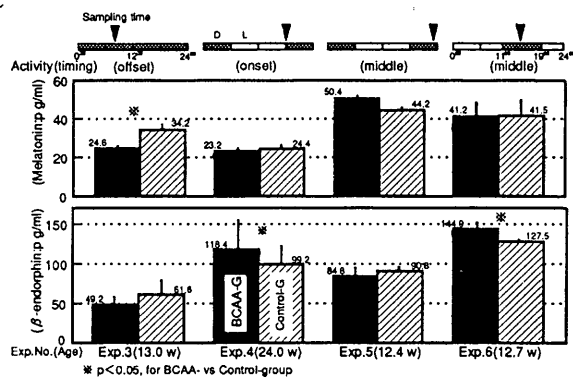


Fig 4 Rat plasma melatonin and beta-endorphin in light-dark diurnal rhythm

本実験で摂取したトリプトファン量は対照群がBCAA群に比べて高く(未発表), 血液脳関門(blood brain barrier; BBB)通過時に遊離トリプトファンの輸送量が増加し, 対照群のメラトニン生成(トリプトファンが前駆物質)が有意に増加したものと考えられる。

(3) β-エンドルフィン (p g/ml) (図4)

β-エンドルフィンは持続性運動開始後一般に上昇することが報告<sup>13), 14), 15), 16)</sup>されているが, 今回比較した4つの実験群中, 実験4と6で運動量の増加がみられるB

CAA群で有意の上昇が見られた。

(4) メラトニン・β-エンドルフィンの血中分泌量と運動量の相関性

相関係数  $r$  ( $r \geq 0.7$  又は  $r \leq -0.7$ ),  $P < 0.05$  に関して血中遊離ロイシン濃度, ロイシン摂取量などについての相関性を調べた(表3)。運動量, アミノ酸摂取量については採血前2週間の平均値を使用した。(かっこ内は  $r$  を示す)

Experiment	Group	(1)	(2)	$r^*$
Exp.3	BCAA-G	Melatonin	Plasma leucine	-0.927
"	BCAA-G	"	Plasma isoleucine	-0.889
"	BCAA-G	"	Movement	0.943
Exp.6	BCAA-G	"	Leucine-intake	0.880
Exp.3	BCAA-G	β-endorphin	Leucine-intake	0.945
Exp.4	BCAA-G	"	Plasma leucine	0.810
Exp.6	Control-G	"	Leucine-intake	-0.993
Exp.3	BCAA-G	Movement	Plasma leucine	-0.916
Exp.4	BCAA-G	"	Plasma leucine	0.914
Exp.6	Control-G	"	Plasma leucine	-0.980

\* Correlation coefficient:  $r \geq 0.7$  or  $r \leq -0.7$ ,  $p < 0.05$

Table 3 Correlation between subject (1) and (2)

a) 血液メラトニン

実験3はBCAA群で血漿ロイシン (-0.927), イソロイシン (-0.889), 運動量 (0.943), 実験6ではロイシン摂取量 (0.880) 間に強い相関をみとめた。

b) 血液β-エンドルフィン

実験3はBCAA群でロイシン摂取量 (0.945), 実験4で血漿ロイシン (0.810), 実験6は対照群でロイシン摂取量 (-0.993) との負の相関を示した。

c) 運動量

血漿ロイシン濃度との関係はBCAA群で実験3 (-0.916), 4 (0.914) と対照群は実験6 (-0.980) で相関が認められた。

以上実験6においてメラトニン生成量はBCAA摂取量および血漿BCAA濃度との相関においてはBLOMST RAND (1988<sup>9)</sup>, 1991<sup>10)</sup> の報告が示すようにBBB輸送系を介し中心性(脳), 末梢性(骨格筋)のアミノ酸代謝の相互に関連し運動量に影響したと思われる。

5. まとめ

1. BCAA群は対照群に比べ運動量は増加し, 体重増加, 飲水量は抑制された。
2. 血液遊離アミノ酸はBCAA群で増加の傾向があり, 運動によるアミノ酸減少を防止していることが示され

た。

3. 活動終末期(実験3)にはBCAA群は血漿アミノ酸濃度の上昇が著明になり, ロイシン, イソロイシン濃度の上昇とメラトニン生成には負の有意の相関が認められた。
4. BCAA群は血漿ロイシン濃度と運動量の変動が活動開始期(実験4), 活動終末期(実験3)で, それぞれ有意の正および負の相関がみられた。
5. β-エンドルフィンと血漿ロイシンは活動開始期(実験4)には有意の正の相関がみられた。
6. 暗期の中間時点ではメラトニン分泌が高まる傾向があるが, BCAA群と対照群で差がみられなかった。

文 献

- 1) 福島秀夫, 市川文華, 小山淳子, 井上典子, 分枝鎖アミノ酸によるラットの自発輪回し運動量および日周リズムに対する効果について, 東京家政大学研究紀要 第34集(2), 79~84, 1994
- 2) Blomstrand E., Hassen P. and Newsholme E.A., Effect of branched-chain amino acid supplementation on mental performance. Acta Physiol Scand 143, 225~226, 1991
- 3) Blomstrand E., Celsing F. and Newsholme E.A., Changes in plasma concentrations of aromatic and branched-chain amino acids during sustained exercise in man and their possible role in fatigue. Acta Physiol Scand 133, 115~121, 1988
- 4) Hattori A., Murakami T., Suzuki T. and Wada M., Rhythms of blood melatonin in individual japanease quail. St.Marianna Med.J. 18, 241~248, 1990
- 5) Strassman R.J., Appenzeller O., Lewy A.J., Qualls C.R. and Peake G.T., Increase in plasma melatonin, β-endorphin and cortisol after a 28.5-mile mountain race: relationship to performance and lack of effect of nalterxone. The Endocrine Society 69, 540~545, 1989
- 6) L'Hermite-Baleriaux M., Casteels S., De Meirleir K., Baeyens L. and L'Hermite

- M., Running increase melatonin. *J Neural Transm(Suppl 21)*, 46, 1986
- 7) Carr D.B., Reppert S.M., Bullen B., Skrinar.G., Beitins I., Arnold M., Rosenblatt M., Martin B. and McArthur. J.W, Plasma melatonin increase during exercise in woman. *J Clin Endocr Metabol* 53,224~225,1981
- 8) Monteleone P., Maj M.,Fusco M., Orazzo C. and Keemil D., Physical exercise at night blunts the nocturnal increase of plasma melatonin levels in healthy humans. *Life Sciences* 47, 1989~1995, 1990
- 9) Thientz G., Lang U.,Deriaz O. and Ceretelli P., Day-time plasma melatonin response to physical exercise in humans. *J Steroid Biochem* 20, 1470, 1984
- 10) Vaughan G.M., McDonald S.D., Jordan R.M., Allen J.P., Bell R. and Stevens E.A., Melatonin pituitary function and stress in humans. *Psychoneuroendocr* 4, 351~362, 1979
- 11) Ronkainen H.,Vakkuri O. and Kauppila A., Effects of physical exercise on the serum concentration of melatonin in female runners. *Acta Obstet Gynecol Scand* 65, 827~829, 1986
- 12) Elias A.N., Wilson A.F., Pandian M.R., Rojas F.J., Kayaleh R., Stone S.C. and James N., Melatonin and gonadotropin secretion after acute exercise in physically active males. *Eur J Appl Physiol* 60, 357~361, 1993
- 13) 福島秀夫, 三輪泰子ほか, 青年男子鍛錬者における血漿中β-エンドルフィンおよび副腎皮質刺激ホルモンの持久性激運動負荷による変動について, 筑波大学体育科学系紀要 11, 329~339, 1988
- 14) 福島秀夫, 飯島潤一ほか, 女子競泳選手における血漿中β-エンドルフィンおよび副腎皮質刺激ホルモンの運動反応性のトレーニングによる変化について, 筑波大学体育科学系紀要 8,269~280,1985
- 15) Carr D.R., Bullen B.A., Skrinar G.S., Arnold M.A., Rosenblatt M., Beitens I.Z., Maryin J.B. and McArthur J.W., Physical conditioning facilitates the exercise induced secretion of beta-endorphin and beta-lipotropin in women. *N Engl J Med* 305, 560~563,1983
- 16) Edward W.D.C., Sharon L.W. and Andrew G.F., The effect of running on plasma β-endorphin. *Life Sciences* 28, 1637~1640, 1981