

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 (II)

福島 秀夫*, 梶田 昌恵**, 小山 淳子*

(平成7年9月30日受理)

Effect of Branched Chain Amino Acids on Voluntary Exercise by Wheel Running and Diurnal Activity Rhythm in Rat (II)

Hideo FUKUSHIMA, Masae TORADA and Junko KOYAMA

(Received September 30, 1995)

1. 緒 言

ラットの分枝鎖アミノ酸 (BCAA ; バリン, ロイシン, イソロイシン) 添加飼育は, ラットの自発輪回し運動量を増加させることがこれまでのわれわれの研究で明らかになった. さらに本実験において24時間暗期のフリーラン周期はBCAA群が対照群に比べて有意に短縮し, 増加した自発運動が同調因子になっていることが示唆された¹⁾.

今回の実験は種々の明暗条件下において, BCAA添加飼料による自発運動量増加とその日周リズムに対するフリーラン周期を短縮する効果の関連性について追求した.

2. 実験方法および測定項目

(1) 実験飼料組成

18%カゼイン食 (19%BCAA) を対照食とし, これにBCAAをカゼイン食に添加し, 窒素量を等しくした18%BCAA/カゼイン食を前報¹⁾と同じく, 実験食とした.

(2) 対象, 実験器具および環境設定

Wistar系雄性ラット, 体重150g (6週令) 前後のSPF (日本クレア(株)) を購入した. 遮光箱 (室町機械(株)) の内部に回転式 (1回転=116cm) 運動量測定器付飼育かご (独居) を設置し, 明暗調節は明暗コントロールユニット (室町機械(株)) を用い, 回転数はコンピューターに入力するための中継ボックス (室町機械(株)) を

使用し10分間隔で記録した.

恒温 (22~24°C), 恒湿 (約55%) 下で飼育した.

(3) 実験プロフィール

実験の明暗条件は, 図1に示すように, 実験5は, L : D=12 (6⁰⁰~18⁰⁰) : 12 (18⁰⁰~6⁰⁰) で6.4週間飼育. 実験6は, L : D=12 (6⁰⁰~18⁰⁰) : 12 (18⁰⁰~6⁰⁰) で1.7週間経過後, L : D=16 (19⁰⁰~11⁰⁰) : 8 (11⁰⁰~19⁰⁰) に変更し, 5週間の計6.7週間飼育. 実験7は, L : D=12 (6⁰⁰~18⁰⁰) : 12 (18⁰⁰~6⁰⁰) で2週間経過後, D : D=12 (6⁰⁰~18⁰⁰) : 12 (18⁰⁰~6⁰⁰) に変更し2.7週間の計4.7週間飼育.

実験7においてラットの運動量の個体差が大きいため実験8~10は, これまでの体重によるグループ分けではなく, 1週間の固型飼料による予備飼育で運動量を観察後に運動量によるグループ分けを行い, 運動量の多い集合にBCAA/Casein食を投与してBCAA群とし, 少ない集合にCasein食を投与して対照群とした.

実験8, 9は, L : D=12 (6⁰⁰~18⁰⁰) : 12 (18⁰⁰~6⁰⁰) で5週間飼育. 実験10では, L : D=12 (6⁰⁰~18⁰⁰) : 12 (18⁰⁰~6⁰⁰) で1週間後, D : L=12 (6⁰⁰~18⁰⁰) : 12 (18⁰⁰~6⁰⁰) に明暗逆転して4週間飼育の計5週間とした. なお, 実験1~4までの前報の実験プロフィール¹⁾ (Stage区分) を図1に併記して相互の比較に用いた.

(4) 測定項目と測定方法

① 体重, 摂食量, 飲水量

連日の測定による行動リズムの乱れや影響を避けるため, 1週間隔で, 給餌, 給水時に体重・摂食量・

* 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

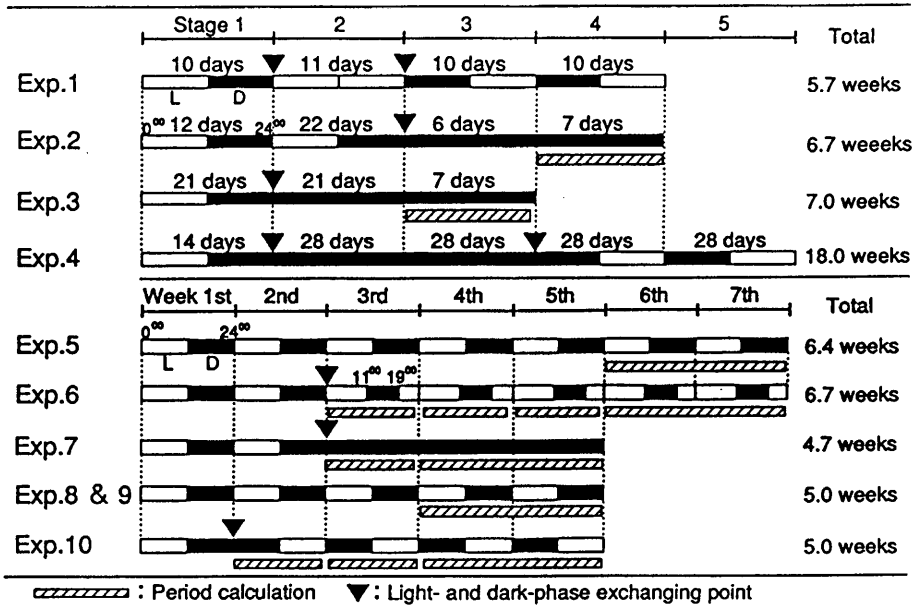


Fig. 1 Experimental profile

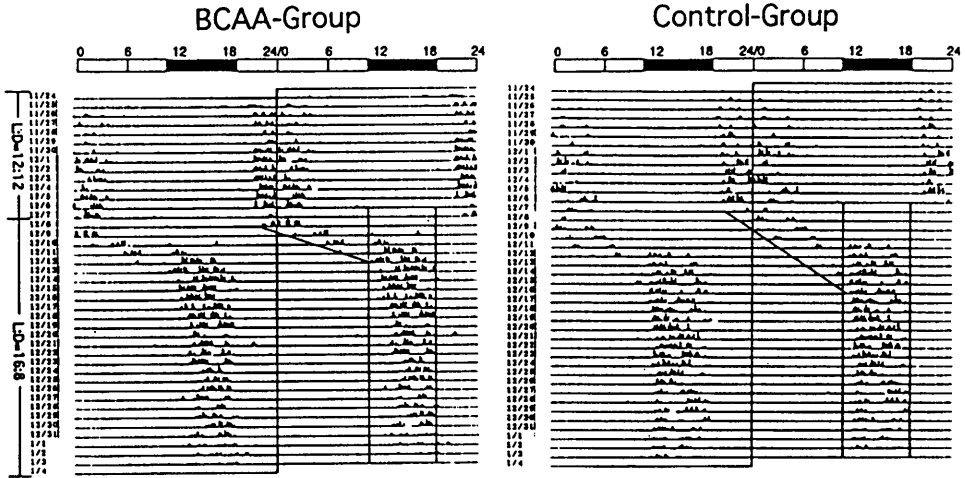


Fig. 2 Actograms shown by double plotted method including free running pattern in both groups of branched chain amino acids (BCAA) and control on experiment 6.

飲水量測定を行った。

② ラット自発輪回し運動量とアクトグラム

回転かご（1回転=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ーを用いて記録し、行動リズムをグラフ化してダブルプロット法でアクトグラムを描写した。図2は、実験6のアクトグラムである。L : D=12 : 12からL : D=16 : 8に変更すると活動周期の後退が起こり、やがてシフトした暗期に活動相が移動するが、対照群に比べBCAA群が短時間でシフトした暗期に同調し、BCAA群の短縮効果がより著しい結果を示している。

③ フリーラン周期の周期計算

今回の周期計算は周期計算プログラムソフト（データ集録・解析プログラムCompACT AMS）（室町機械(株)）を使用し計算した。

3. 結果

(1) 体重, 体重増加量, 摂食量および飲水量

体重または体重増加量は、実験8を除きBCAA群と比較して対照群が上回っていた(表1)。しかし、実験8でみられた対照群の体重減少は全期間中下痢がみられ飼料中のコーンスターチの酸化が原因と推察された。

摂食量は実験7, 8を除き、BCAA群と比べて対照群が高値を示した。

飲水量は実験5, 6, 7, 10でBCAA群よりも対照群が高値を示したが全実験とも有意な差ではなかった。

(2) 運動量変化について

運動量は、実験5~10で一般にBCAA群は対照群よりも高値を保ちながら経過し、特に実験8, 9, 10で著しい(図3)。実験開始後運動量は増加し、両群とも3~4週目(9~10週令)に運動量は最高値を示し、その後は徐々に減少していく。

(3) フリーラン周期と運動量

実験6, 10はL : D=12 (6°~18°) : 12 (18°~6°)で、実験6で2週間、実験10で1週間飼育した後に明暗条件を実験6では、L : D=16 (19°~11°) : 8 (11°~19°)と暗期の短縮を行い、実験10では、D : L=12 (6°~18°) : 12 (18°~6°)の明暗の逆転を行った。1週間後には両実験ともBCAA群で約1.3時間、対照群で約2時間のフリーラン周期の後退が観察された(図4)。明暗位相がシフトして3週目以降は両群とも24時間周期に回復していたが両群間の差はほとんど認められなかった。

実験7はL : D=12 (6°~18°) : 12 (18°~6°)で2週間飼育した後にD : D=12 (6°~18°) : 12 (18°~6°)(24時間暗)と暗期の延長を行うと、1週間後(実験開始3週目)は両群とも約0.3時間程度の後退がみられ実験6, 10のような大幅な後退はなくフリーラン周期が続いた。4~5週目で、BCAA群は対照群よりも有意にフリーラン周期を短縮し、前報告¹⁾した実験2, 3と同様の結果となった。

Table 1 Changes of body weight, body weight increased, food intake, water intake and movement

Group	Body weight (g/day)	ΔBody weight (g/day)	Food intake (g/day)	Water intake (g/day)	Movement (★rev/day)
Experiment 5	BCAA 265.9±6.20(2.3)	3.80±0.28(7.4)	17.7±0.78(4.4)	33.4±5.91(17.7)	2975.3±1539.7(51.7)
	Control 283.9±5.97(2.1)※	4.38±0.18(4.2)※	18.0±0.72(4.0)	37.0±3.83(10.4)	2779.2±966.3(34.8)
Experiment 6	BCAA 254.6±9.01(3.5)	3.83±0.17(4.4)	17.4±0.79(4.5)	24.5±2.01(8.2)	2857.3±1431.8(50.1)
	Control 291.0±11.03(3.8)※	4.71±0.31(6.5)※	19.5±1.60(8.2)	30.74±4.20(13.7)	1840.2±741.5(40.3)
Experiment 7	BCAA 236.8±15.39(6.5)	3.94±0.51(13.0)	18.4±2.03(11.0)	25.0±3.18(12.7)	3113.8±1308.8(42.0)
	Control 245.6±10.03(4.1)	4.10±0.37(9.0)	16.6±0.77(4.6)	28.3±2.93(10.4)	3380.0±341.1(10.1)
Experiment 8	BCAA	4.18±0.55(13.3)	18.7±1.80(9.6)	33.5±4.13(12.3)	4169.9±857.6(20.6)
	Control	2.99±0.38(12.6)※	15.6±0.38(2.4)※	32.7±6.87(21.0)	2654.6±1188.9(44.8)
Experiment 9	BCAA	4.10±0.31(7.5)	17.7±1.01(5.7)	34.1±2.78(8.2)	3826.1±611.6(16.0)
	Control	4.65±0.27(5.7)※	18.9±1.45(7.7)	33.4±3.17(9.5)	1939.0±1182.6(61.0)※
Experiment 10	BCAA	4.07±0.55(13.6)	17.3±1.07(6.2)	31.3±3.02(9.7)	4816.2±1356.5(28.2)
	Control	5.10±0.40(7.8)※	17.9±0.62(3.5)	34.2±4.03(11.8)	2462.9±1088.0(44.2)※

● Mean±SD(CV%) ※ Significance:p<0.05
★ 1 revolution(rev) = 116 cm

4. 考 察

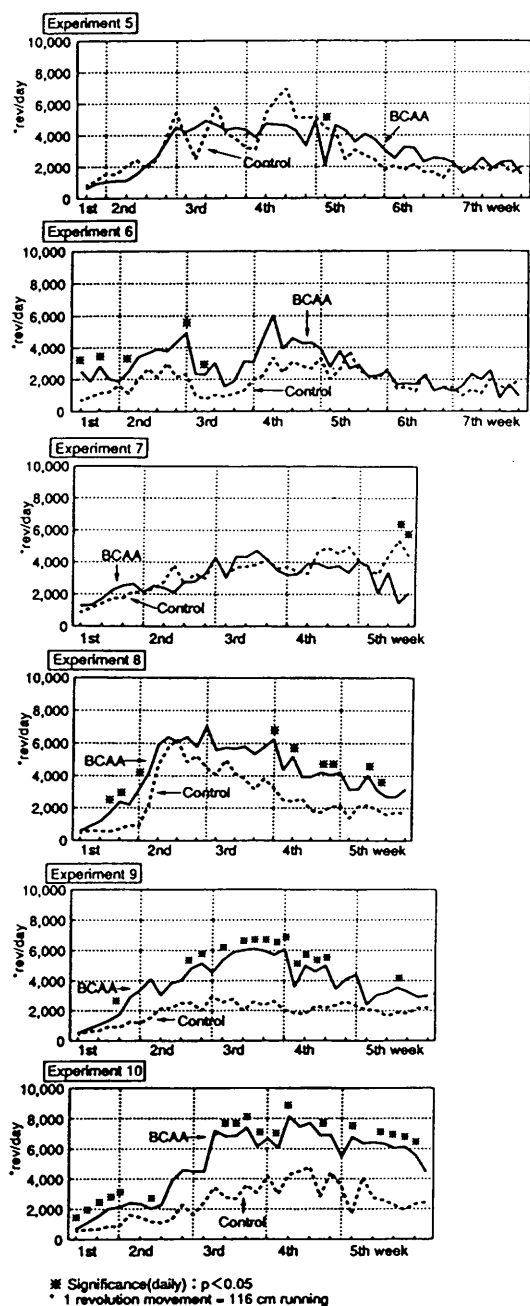


Fig. 3 Revolution amount measured by running wheel in the voluntary running

われわれのこれまでの実験(実験1~4)より分枝鎖アミノ酸添加飼料による自発運動量の増加はサーカディアンリズムに同調因子として働き、そのフリーラン周期を短縮することを明らかにした。

運動が同調因子となることに関して、高橋ら²⁾は、生後直ちに実験的に盲目にしたラットの自発輪回し走行運動といわゆる探索運動(Automexで測定)において、自発輪回し運動群は、フリーラン周期を有意に短縮し、一方、探索運動群はフリーラン周期を延長し、運動の種類による効果の相違を明らかにした。

また、高橋ら¹⁾は同様の実験でフリーラン周期と飲水リズムは、同一の活動パターンを示しそのフリーラン周期の相違となる因子は明らかにされなかったと報告している。一方、Pittendrighら⁸⁾は、齧歯類のフリーラン周期は、若年より老年のものが短縮しているとして年齢による相違を報告している。

現在までサーカディアンリズムの同調因子として報告されているものに光の他に摂食行動や社会的接触(母性行動を含む)、メラトニン投与^{3) 4) 5)}などがある。これはいずれも環境の変化の違いによるもので、われわれのような飼料組成の相違によるラットのフリーランリズムの短縮効果の報告は見当たらない。

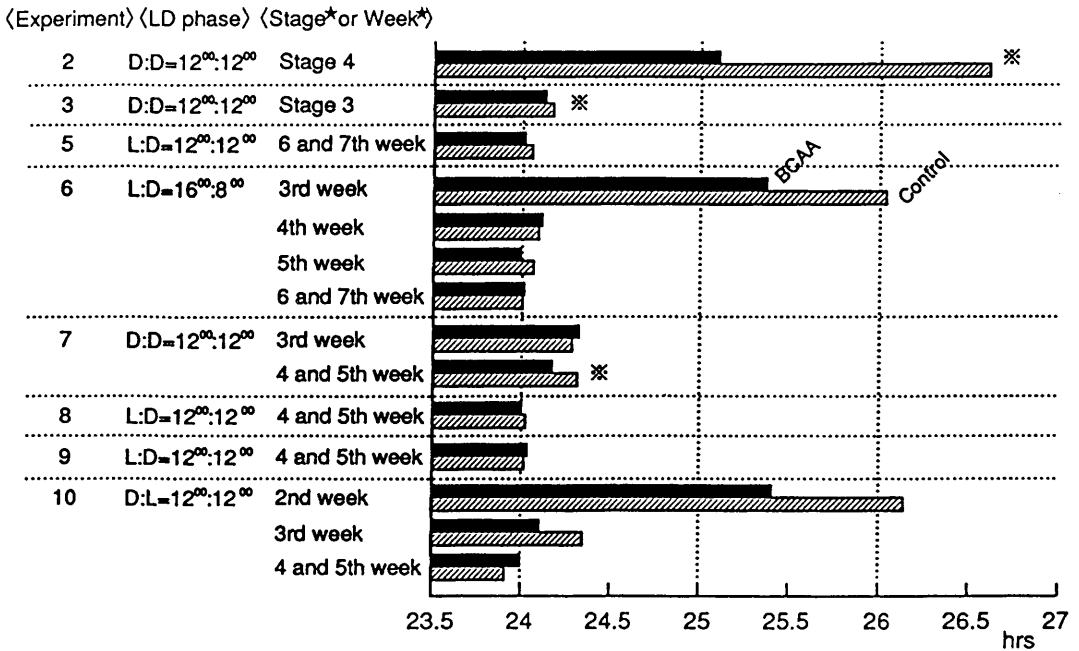
われわれの実験ではフリーラン周期の短縮効果が分枝鎖アミノ酸摂取によるものか輪回し自発運動量の変化によるものか、どちらに依存性が高いのかに関して追求してきた。特にBCAA群の特徴的な運動量の増加がみられなかった実験7において、BCAA群のフリーラン周期短縮の明確な効果が認められたことは、今後の研究の1つの方向性を示唆していると思われる。

4. むすび

前回の実験(実験2, 3)においては運動量の変化がフリーラン周期の短縮に関連する結果が得られた。引き続き行った今回の実験については、

1. L : D = 12 : 12で飼育した後に明暗条件を変更した実験(実験6は暗期の短縮と前進、実験10は明暗の逆転)では、変更して1週間後のフリーラン周期はBCAA群は対照群に比べ後退は軽度であり、BCAA群の短縮の効果は、より顕著であった。このときの運動量とフリーラン周期の短縮との間に相関はなくフリーラ

自発運動と日周リズム



※ Significance : p<0.05

★ The stage or Week on period calculation performed are shown in Fig.1

Fig. 4 Changes of free running period of activity rhythm measured by running wheel in the light- and dark-phases of rat

ン周期短縮に運動量は直接関連していなかった可能性がある。

- 上記の実験群(実験6, 10)で明暗条件を変更して3週目以降は両群との運動量の多少に関わらず24時間周期に回復していた。
- L : D=12 : 12から暗期を延長して, D : D=12 : 12 (24時間暗) のフリーラン周期(実験7)は, 実験開始6~7週目(24時間暗にして2~3週目)においてBCAA群が対照群よりも有意に短縮していた。このときのBCAA群の運動量は対照群と差はみられず, フリーラン周期短縮効果は, 運動量の増加では説明が困難であり, 分枝鎖アミノ酸摂取により, 栄養・薬理学的効果の他に中枢的な作用も加わっている可能性が推察された。

参考文献

- 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,

32(2), 79~84, 1994

- 2) N.Yamada, K.Shimoda, K.Takahashi and S.Takahashi, Relationship between free-running period and motor activity in blinded rats, Brain res bull, 25(1), 115~119, 1990
- 3) 高橋清久, 大井健, 高嶋瑞夫, 杉下真理子, サークリアリズムの同調機構, 精神医学, 31(1), 25~32, 1989
- 4) 高橋清久, 大川匡子, 村上昇, 哺乳動物のリズム同調機構, 神経進歩, 34(6), 892~900, 1990
- 5) 出口武夫, 脳のはたらきと生体リズム, 日本医師会雑誌, 107(10), 1774~1780, 1992
- 6) 佐々木三男, 時差ボケの予防は可能か, 日本医師会雑誌, 107(10), 1837~1842, 1992
- 7) N.Yamada, K.Shimoda, K.Takahashi and S.Takahashi, Change in period of free-running rhythms determined by two different tools in blinded rats, Physiol behav, 36(2), 357~362,

1986

8) C.S.Pittendrigh and S.Dann, Circadian
oscillations in rodents : A systematic increase

of their frequency with age, Science, 186,
548~550, 1974