



- ・東京理科大学  
理工学部講師
- ・柳田 信也  
博士(理学)
- ・共同研究者氏名  
梅澤雅和  
久保田夏子

- 2001年 埼玉大学教育学部卒業
  - 2003年 埼玉大学大学院教育学研究科修了
  - 2007年 東京都立大学理学研究科博士課程修了
  - 2007年 国際学院埼玉短期大学講師
  - 2008年 日本食品衛生協会研究員
  - 2009年 東京理科大学総合研究機構研究員
  - 2010年 東京理科大学理工学部助教
  - 2015年 現職
- 

## 運動習慣形成における必須アミノ酸摂取の効果と その脳内神経システムの解明

---

### 1. 研究の背景と目的

2011年に発表された21世紀における国民健康づくり運動（健康日本21）の最終答申によって、我が国の国民における日常的な運動習慣や運動量は過去10年間で有意に変化していないことが明らかになった。健康に対する関心はメディアなどを通して高まっていると予想されるものの、自発的に運動を行う行動変容を起こすまでには至っていないと言える。日常的な身体活動・運動の量が多い者は、不活発な者と比較して循環器疾患やがんなどの非感染性疾患の発症リスクが低いことが実証されている。また、うつ病などの精神疾患と身体不活動の関係性も示唆されている。これらの疫学研究による知見を踏まえ、WHOは、高血圧、喫煙、高血糖に次いで、身体不活動を全世界の死亡に対する危険因子の第4位であるとする認識を発表した（WHO, 2010）。これらのことから、日常的な自発運動量の増加、すなわち運動習慣の形成は達成されるべき21世紀の健康課題であると言え、その対策は急務である。この問題を解決するためには、行政施策などの社会学的検討はもとより、自発運動という行動の生物学的意義を解明することが重要である。

そこで我々は、運動習慣形成の生物学的基盤を明らかにすることをプロジェクトの目的とし、自発運動量の異なる動物モデル（高活動および低活動ラット）を用い、その差を生み出す脳内メカニズムを探索してきた。その結果、運動習慣が高いレベルで形成されている高活動群では、低活動群よりも脳内ドーパミン量が有意に高いことを明らかにした。また、対照的に低活動群では脳内セロトニン量が有意に高いことがわかった。この結果を基に、我々は脳内モノアミン量が自発運動量を制御する重要な因子であると考えている。現在は、この研究の発展形として、脳内のセロトニン量を増減させる環境要因を探索しており、特に、日常生活の中で必須な栄養素の摂取との関連性の解明に取り組んでいる。セロトニンは、必須アミノ酸であるトリプトファン（Trp）から合成されるため、その合成機能は食事によって受ける影響が大きいことが予想される。それゆえ、運動環境下におけるトリプトファン摂取は、脳内セロトニン量を変化させ、運動習慣形成に作用するキーファクターとなるかもしれない。

そこで、本研究では動物モデルを用い、高濃度のトリプトファンの摂取が自発運動量の変化とセロトニン

神経機能に及ぼす影響について、神経薬理学的手法によって明らかにすることを目的とする。本研究の結果は、運動習慣を効率よく形成するための方法論の確立に貢献するとともに、健康の維持増進のための両輪である運動と栄養の相互作用の重要性を明確にし、食の健康機能性に関する食科学の発展に大きく寄与するものとなると考えられる。

## 2. 方法

### (1) 実験動物

実験には、Wistar 系の雄ラットを用いた (n=12)。3 週齢のラットをランニングホイール付のケージ (Lafayette inst. 製) もしくは通常のプラスチックケージ (コントロール群) で飼育した。飼育環境は、12 時間ごとの明暗サイクル、環境温 23°C が保たれ、水と餌は自由摂取とした。また、体重と摂食量は飼育期間中の毎日、記録を行った。すべての実験は、東京理科大学動物実験倫理委員会の規定に基づき承認、実施された。

### (2) 自発運動量の測定

全てのラットは、それぞれのケージで 4 週間飼育された。ランニングホイール付ケージで飼育されたラットの走行量について、ケージに付属されているデジタルカウンターで測定した。

### (3) トリプトファン摂取

ラットは 1 週間の適応期間後に、運動環境の有無およびコントロール飼料摂取もしくは高トリプトファン飼料摂取 (HTrp) の 4 群に分類された (図 1)。コントロール飼料を摂取する群のラットは、一般的に実験動物用として用いられる固形の飼料から、トリプトファン含有量を正確に定量するためにガゼインを取り除き、マルチアミノ酸を添加したもの自由に摂取した (Trp 濃度は 2%)。一方で、高トリプトファン飼料は、コントロール群の飼料に高濃度のトリプトファンを混合したものを特別に作成した。

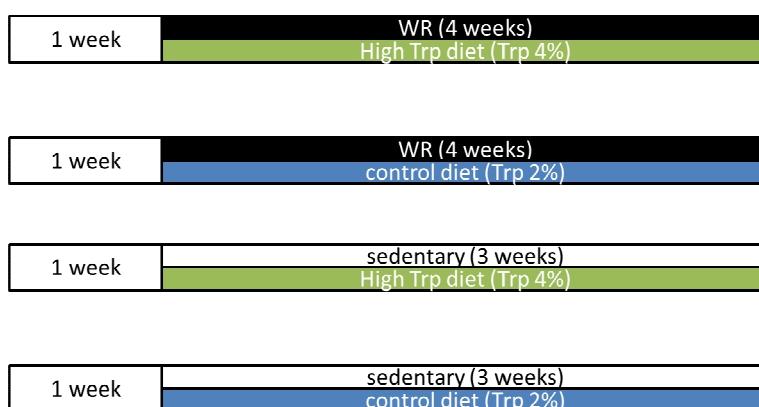


図 1 実験条件

### (4) 血中グルコースおよび血漿 ACTH 量の測定

4 週間の飼育後、すべてのラットは麻酔下で脳と副腎の摘出および心採血を行った。採取された血液は、グルコース濃度および血漿中の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) レベルの測定に用いられた。グルコース濃度の測定は、グルコース測定器によって行った。血漿中の ACTH レベルは、EDTA 含有チューブに採取した血液を遠心分離し、上清から得られた血漿サンプルについて ELSA 法で測定した。

(5) 脳内セロトニン量の測定

トリプトファン摂取によって、脳内セロトニン量が実際に変化したかどうかを検討するために、先行研究と同様の8部位（前頭前野；PFC、尾状核；CPu、側坐核；NAc、視床下部室傍核；PVN、海馬；Hipp、扁桃体中心核；CeA、腹側被蓋野；VTA、背側縫線核；DRN）をマイクロディセクションし、ホモジナイズサンプルについて高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いてモノアミン量の定量を行った。

3. 結果

(1) 体重と摂食量

4週間の飼育後の体重については、運動環境にいた2群のラットにおいて低い値を示す傾向がみられたが、高トリプトファン飼料摂取による影響は認められなかった（図2A）。また、摂食量においても4群間に大きな差は認められなかった（図2B）。

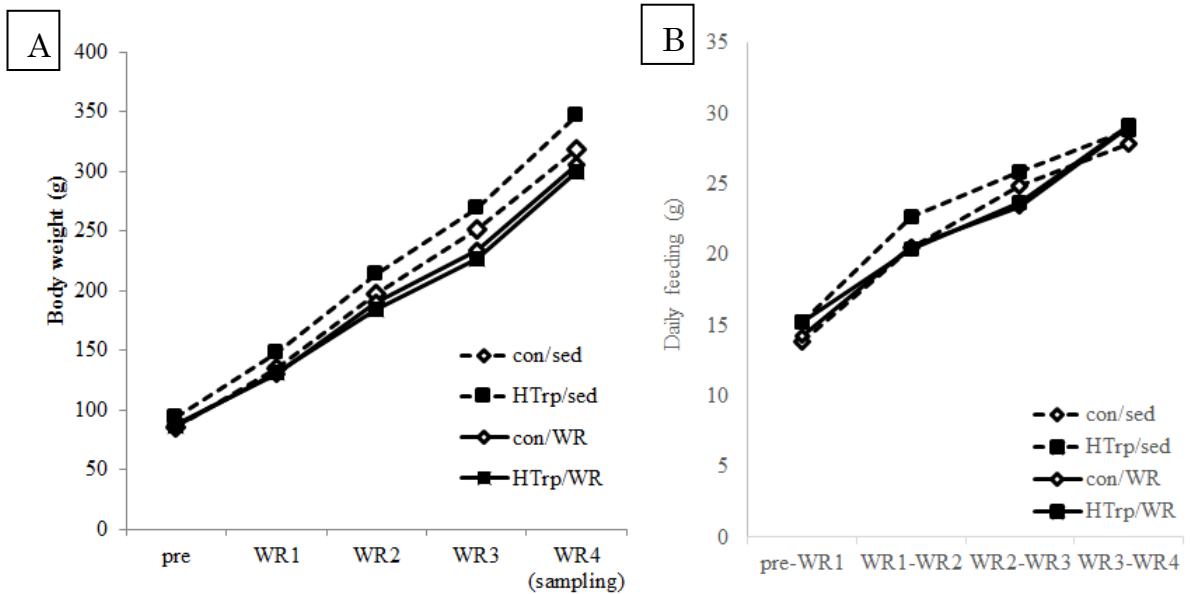


図2 体重(A)と摂食量(B)の推移

## (2) 自発運動量の変化

図3に、運動環境にいた2群における自発運動量の推移を示した。高トリプトファン摂取による統計的に有意な変化は認められないものの、コントロール飼料を摂取した群の自発運動量では、走行量の多い個体と少ない個体の差が大きいのに対して、高トリプトファン摂取群では中程度の走行量を示す個体が多くみられた。

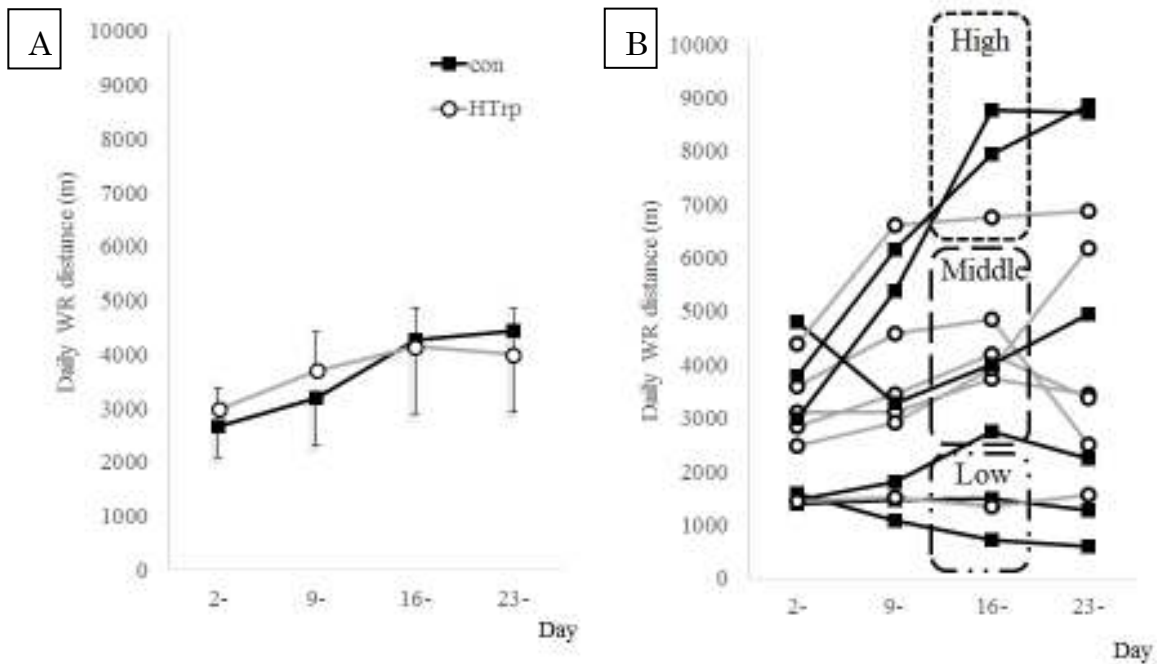


図3 自発運動量の推移  
(A) 平均値, (B) 個体ごとの値

## (3) 血中グルコースレベル

全体的な栄養摂取状態の影響を調べるために、血中グルコース濃度を測定した結果、運動を行った群においては、血中グルコースレベルが低い傾向がみられたが、高トリプトファン摂取の影響は認められなかった(図4)。

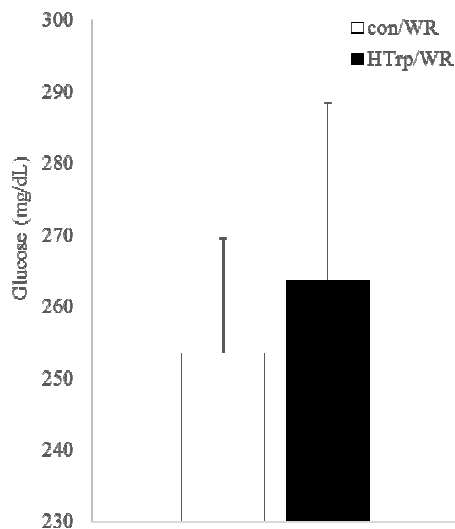


図4 運動を行った群における血中グルコース量の比較

#### (4) 血漿 ACTH レベルと副腎重量

通常と異なる飼料を摂取することに対する生体のストレス反応を評価するために、ストレス反応の使用となる血漿 ACTH レベルおよび副腎重量を測定した。その結果、血漿 ACTH レベルおよび副腎重量ともに、運動を行った 2 群において、運動を行っていない群よりも高い値を示すことが明らかとなった。しかし、飼料の違いによる影響は認められなかった (図 5)。

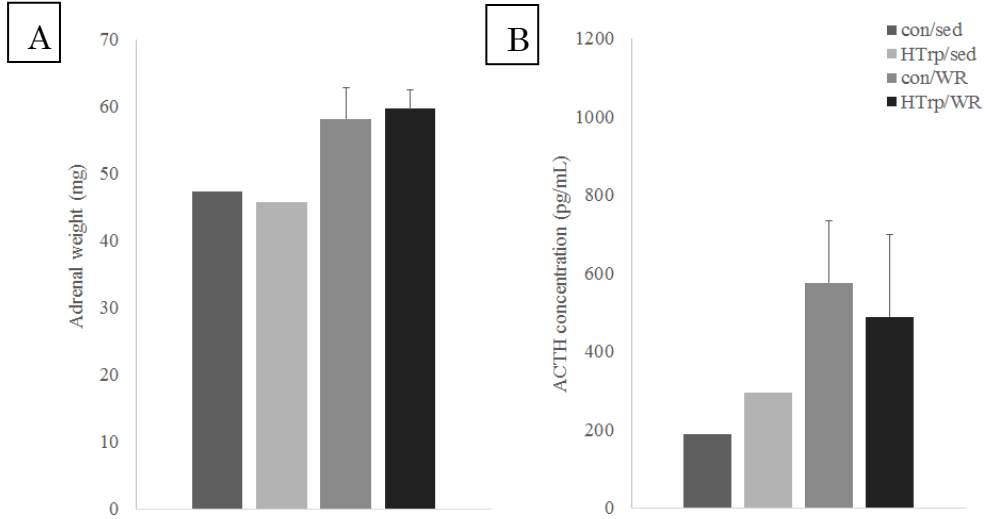


図 5 ストレス反応系の比較  
(A)副腎重量 (B)血漿 ACTH レベル

(5) 脳内セロトニンおよび代謝産物量

本研究における高トリプトファン飼料の摂取は、脳内のセロトニン量を生理的環境下において増加させることを目的としたものである。そのため、実際に脳内セロトニンレベルを、脳内の複数の部位においてHPLC法を用いて測定した。その結果、脳内セロトニン量については、高トリプトファン摂取による顕著な影響は認められなかった。しかしながら、セロトニンの代謝産物である5-HIAAおよび代謝回転(5-HIAA量と5-HT量の比)は、運動の有無にかかわらず高トリプトファン飼料摂取によって、CPuやNAc、Hippにおいて顕著に増加していた(図6)。

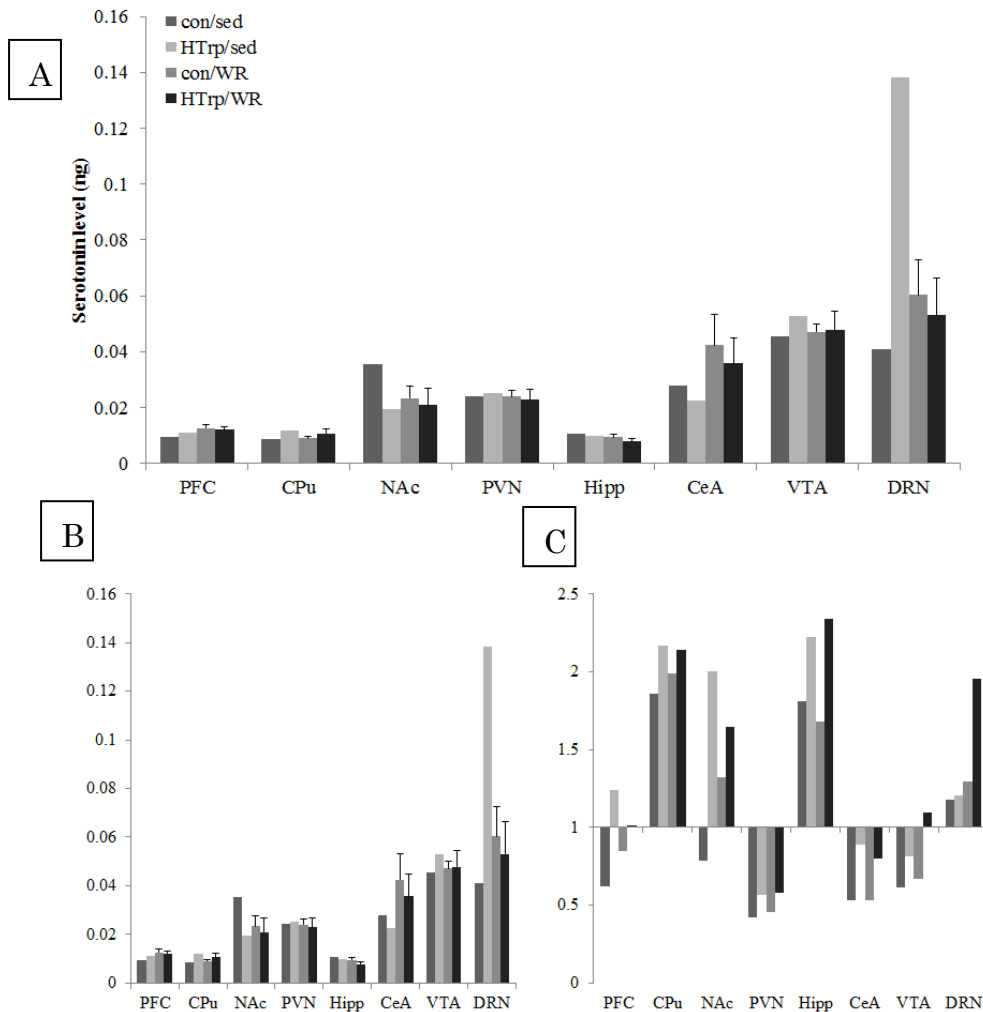


図6 脳内セロトニンレベルの比較  
(A)セロトニン (B)5-HIAA (C)5-HIAA/5-HT

4. 考察

本研究では、運動習慣形成に向けた基礎的研究として、脳内セロトニンの役割に注目し、その量を変化させる実験的検討として、高濃度のトリプトファン摂取による自発運動量への影響が検討された。

ランニングホイールによる自発運動は、げっ歯類を用いた運動の効果を検証する実験系における代表的な手法として広く普及している。一方で、これまでの研究において、その自発運動量には非常に大きな個体差が認められることが明らかとなっている。我々は、この特徴的な個体差を利用し、日常的な自発運動

量の異なる動物モデルの確立を試みてきた。いくつかの実験的検討の結果、およそ3週間で走行量には明確な個体差が出始めること、および積算した走行量の平均値を基にし、平均値±0.5標準偏差でスクリーニングすることで統計的に有意な差がみられる群分けが可能となることを明らかにした。また、日常的な自発運動量の多い高活動群では脳内のドーパミン量が有意に高い値を示し、自発運動量の少ない低活動群では脳内セロトニン量が有意に高い値を示すことを報告している。この結果は、日常的な身体活動量の増加を制限する要因として、セロトニン神経系の働きが関与することを示唆する。そこで、本研究では、この自発運動量の低下とセロトニン神経系の関係性をより明らかにするために、セロトニン合成に必須なアミノ酸であるトリプトファンの量を高めることで、ラットの自発運動量が変わるかどうかについて検討を行った。その結果、高トリプトファン飼料の摂取による自発運動量の明確な低下やそれに伴う生理的指標の有意な変化も認められなかった。

しかしながら、我々が、これまでの研究において相当数のラットの自発運動量を解析してきたデータベースを精査すると、本研究に用いた Wistar ラットにおいては、その多くの個体が4週間の走行量の平均値±0.5標準偏差を上回る高活動ラットと平均値±0.5標準偏差を下回る低活動ラットに二分化され、平均値付近の走行量を示す個体は数少ないことが明らかとなっている。本研究の結果では、高トリプトファン飼料を摂取した群の走行距離が、中程度を示す割合が高いこと（6個体中4個体）が示された。このことからすると、セロトニン前駆体の投与など直接的にセロトニン量増加に寄与する手法と比較すると影響は少ないものの、高トリプトファン摂取によってある程度は自発運動量を低下させる作用がみられた可能性も否定できない。セロトニン前駆体に比べ、影響が弱かった要因としては、餌からの摂取であるが故に、摂取されたトリプトファンが消化器系において、相当量の分解や吸収を受けたことや、血液脳関門における他のアミノ酸との競合による影響などが考えられる。今後はこれらの問題を解決するような摂取方法の改善を行うことによって、高トリプトファン摂取による影響はより詳細に明らかになってくるものと思われる。

本研究における実験系において、摂食量や体重などの生理的指標およびストレス反応に関連する副腎重量、血漿中 ACTH レベルなどのデータは、高トリプトファン飼料摂取によって影響を受けるものではないことが明らかとなった。動物モデルを用いた介入実験において、ストレス反応などの生体の恒常性を変化させる指標に通常環境と差が見られないことは非常に重要なことである。すなわち、本研究において独自に開発した高トリプトファン飼料摂取方法は、実験動物に必要以上の外乱を与えずに実験を遂行することが可能とする方法として確立することができたと言える。これは、今後の研究推進における非常に大きな一歩となったと考えられる。この手法を基に、遺伝子改変動物など、より表現型の明らかなモデルを解析することによって、自発運動量の多寡と脳内モノアミン量の関係に対するアミノ酸摂取の役割が明らかになっていくことが期待される。

## 5. 結論

本研究では、自発運動量に影響を及ぼす脳内セロトニン量を変化させる方法として、高トリプトファン摂取の機能を明確に示すことができなかったものの、食事による生活習慣改善に向けた基礎的研究を遂行するための解析系を確立することができ、今後の有効利用が望まれるものとなった。

## 6. 謝辞

本研究は、公益財団法人サッポロ生物科学振興財団研究助成のサポートにより遂行された。ここに記して、関係各位に心より御礼申し上げます。