

論文の内容の要旨

論文題目： Significance of amino acid intake during postexercise recovery phase
(運動後の回復過程におけるアミノ酸摂取の意義)

氏名： 加藤弘之

運動後は、運動中に消費された物質の補給、運動によって生じた損傷の回復、さらには、運動に伴う適応変化に必要な栄養素の補給が必要である。アミノ酸は、運動中のエネルギー源として使われ、また、損傷を受けたタンパク質の修復や、適応に必要なタンパク質合成の基質となるため、運動後の必要性が高まると考えられる。さらに、運動により起こる消化管障害は、タンパク質の消化・吸収の悪化につながるため、タンパク質よりも、アミノ酸を摂取することが望ましい場合がある。しかし、運動後の回復期におけるアミノ酸の摂取タイミングや他素材との併用方法や回復促進効果の有無については、未解明である。

運動に伴うアミノ酸要求量の増大は、窒素出納法を用いて検討されてきたが、最低でも1週間程度の期間が必要であるため、運動選手の非運動日と運動日のアミノ酸要求量の違いは不明である。アミノ酸の中でも、mammalian target of rapamycin(mTOR)経路を活性化するロイシンを多く含むロイシン高配合必須アミノ酸は、運動数時間後における筋タンパク質合成亢進を相加的に増加する。しかし、運動後の筋タンパク質代謝変化は、運動後24時間以降まで持続するが、運動24時間後でのロイシン高配合必須アミノ酸の効果は不明である。また、同化ホルモンであるインスリンは、筋タンパク質合成を促進する。しかし、ロイシン高配合必須アミノ酸と炭水化物の同時摂取による筋タンパク質合成に対する相加効果については、不明である。

mTOR 経路の活性化が、運動誘発性筋損傷の回復過程を促進すると言われている。そのため、運動後のロイシン高配合必須アミノ酸の摂取は、筋損傷の回復を早める可能性がある。そこで本研究では、運動後の回復過程におけるアミノ酸摂取の意義について検討するために、第1章では、短期間でアミノ酸要求量の測定を可能とする指標アミノ酸酸化法を用い、運動日、非運動日のアミノ酸要求性の違いについて検討した。第二章では、ロイシン高配合必須アミノ酸の効果的な摂取方法を見出すため、運動翌日の摂取の効果、および、糖質との併用効果について、検討を行った。第三章では、ロイシン高配合必須アミノ酸を用いて、筋損傷の回復に対する効果を検討した。

第1章 指標アミノ酸酸化法を用いた運動日、非運動日のアミノ酸要求量の違い

Fischer 系雄性ラットを非鍛錬群、鍛錬群の二群に分け、運動群は、トレッドミルを用いた6週間のトレーニング負荷した後、鍛錬群のうち半分は、運動(26 m/min、18%傾き、60分間のトレッドミル走)後に代謝実験に用い(鍛錬群・運動後)、残りの半分は、非鍛錬群とともに、安静時(鍛錬群・安静時)に、一晚絶食下において、代謝実験に供した。様々な用量(2.0-

37.9 g/kg BW/day)のアミノ酸、および、[1-¹³C]フェニルアラニンを含有する実験食を作成し、代謝状態の安定のため、1日の摂餌量の1/24量に相当する量の餌を、一時間に一度7時間給餌した。呼気中の¹³CO₂排泄速度からフェニルアラニン酸化速度を求め、アミノ酸摂取量との関係をプロットし、二分節からなる直線による回帰で求められた変曲点のアミノ酸摂取量をアミノ酸要求量とした。各群の変曲点は、それぞれ、非鍛錬群：15.1 g/kg/d (95% CI: 11.1–19.1)、鍛錬群・安静時：13.3 g/kg/d (95% CI: 10.9–15.7)、鍛錬群・運動後：26.8 g/kg/d (95% CI: 21.5–32.1)と算出された、鍛錬群・運動後では、アミノ酸要求量が、非鍛錬群、鍛錬群・安静時に対して、有意に高い値を示した。以上の結果より、トレーニング後であっても、非運動日のアミノ酸要求量は、高まらないことが分かった。

第2章—筋タンパク質合成促進のためのロイシン高配合必須アミノ酸摂取方法の検討

第一節：運動翌日におけるロイシン高配合必須アミノ酸摂取による筋タンパク質、筋コラーゲンタンパク質合成に対する影響

Wistar系雌性ラットを用い、ダウンヒル運動(17 m/min、-13.5°、5分×26set)を負荷し、運動直後、運動1、4時間、1、2、4、7日後の筋タンパク質合成速度の推移を確認した。運動直後、運動1日後に、ロイシン高配合必須アミノ酸(1 g/kg)もしくは、対照群として、蒸留水を経口投与した。安定同位体標識プロリンを用い、外側広筋の筋タンパク質、および、筋コラーゲンタンパク質の合成速度を算出した。筋タンパク質合成速度は、運動1時間後、1日後において、ロイシン高配合必須アミノ酸投与によって、水投与群に対して有意に高い値を示した。筋コラーゲンタンパク質合成速度は、運動1時間後、1日後ともに、ロイシン高配合必須アミノ酸投与による変化は見られなかった。運動1日後において、ロイシン高配合必須アミノ酸によって、相加的な筋タンパク質合成促進作用がみられることから、運動直後のみならず、運動翌日の摂取も運動後の回復に重要である可能性が示唆された。

第二節：運動誘発性低インスリン状態下における、ロイシン高配合必須アミノ酸による筋タンパク質合成促進作用に対する炭水化物添加効果

SD系雄性ラットを用い、運動後の低インスリン状態を惹起するために、一晩絶食の後に跳躍運動(高さ35cm、200回)を負荷し、ロイシン高配合必須アミノ酸(1g/kg)もしくは、ロイシン高配合必須アミノ酸(1 g/kg)+グルコース(1 g/kg)もしくは蒸留水を経口投与した。対照群として、非運動の動物に蒸留水を投与した。安定同位体標識フェニルアラニンを用い、腓腹筋の筋タンパク質合成速度を算出した。ロイシン高配合必須アミノ酸に対してグルコースを併用することで、血中インスリン濃度は、運動前のレベルに回復した。グルコースの併用は、ロイシン高配合必須アミノ酸投与による筋タンパク質合成速度の上昇に対して、相加的な増加を起こさなかった。運動後のインスリン濃度低下時において、ロイシン高配合必須アミノ酸に対するグルコースの添加は、さらなる筋タンパク質合成促進を促さないことが確認された。

第3章—ロイシン高配合必須アミノ酸による運動後筋損傷の回復に対する影響

第一節：ロイシン高配合必須アミノ酸による運動後の遅発性筋痛軽減効果

SD系雄性ラットを運動なし群、収縮負荷+水投与群、収縮負荷+ロイシン高配合必須アミノ酸投与(1g/kg)の三群に分けた。麻酔下にて、総腓骨神経に電気刺激を加える同時に、収縮と逆方向へ筋肉を伸張させ、筋痛を発生させた。筋痛の測定は、改良型 Randal Sellito 鎮痛計を用い、筋肉の圧痛閾値の低下を筋痛と定義した。収縮負荷+水投与群では、収縮負荷翌日に圧痛閾値が有意に低下、つまり、筋痛の発生を確認した。一方、ロイシン高配合必須アミノ酸投与後では、水投与群に比べて、圧痛閾値の低下がみられず、筋痛の軽減が観測された。

第二節：ロイシン高配合必須アミノ酸による運動後の筋損傷回復促進効果

SD系雄性ラットを非運動群、収縮負荷+水投与群、収縮負荷+ロイシン高配合必須アミノ酸投与群の3群に分けた。麻酔下にて、皮膚電極を用い電気刺激による強制伸張性収縮負荷を用い、筋損傷を誘発した。収縮負荷+ロイシン高配合必須アミノ酸投与群には運動負荷2日前から実験終了までロイシン高配合必須アミノ酸(1 g/kg)を一日1回経口投与した。非運動群、収縮負荷+水投与群には蒸留水を投与した。収縮負荷直後、1, 3, 7, 14 日後に、筋力の測定を行った。また、前脛骨筋における炎症性サイトカイン遺伝子、筋分化制御遺伝子の発現量の測定、組織学的解析を行った。筋力は、収縮負荷直後に低下した後に、14 日後まで回復を続けたが、14 日後でも非運動群に対して有意に低い値を示した。一方、収縮負荷+ロイシン高配合必須アミノ酸投与群は、収縮負荷 14 日後において非運動群と変わらぬ筋力を示した。収縮負荷 1 日後において、水投与群では、IL-6 の遺伝子発現が上昇したが、ロイシン高配合必須アミノ酸投与によって、IL-6 の遺伝子発現上昇を有意に抑制した。また収縮負荷 3 日後に観測された炎症性細胞の浸潤の亢進が、ロイシン高配合必須アミノ酸投与によって、有意に抑制された。一方、収縮負荷 3 日後に見られた筋再生因子の遺伝子発現については、ロイシン高配合必須アミノ酸投与の有無で差は見られなかった。以上のことから、ロイシン高配合必須アミノ酸は、運動後初期における過剰な炎症を抑制することで、筋損傷に伴う筋損傷の軽減を引き起こし、筋力低下からの回復を促進していると考えられた。

以上の結果より、運動日には急性的にアミノ酸要求性が亢進するため、アミノ酸摂取の必要性が高まることを示した。一方、ロイシン高配合必須アミノ酸を用いて、筋タンパク質合成を高めるための効果的な方法として、運動翌日における摂取の意義を示し、また、炭水化物の添加は、不要であることを示した。その摂取方法を実践することで、ロイシン高配合必須アミノ酸が、運動後の過剰炎症を抑制することで、筋組織構造の回復を促進し、筋力の回復を促進することを示し、また、筋損傷の主徴の一つである筋肉痛を軽減することを確認した。以上のことから、運動後の回復期において、アミノ酸の摂取が重要であると考えられた。