

論文の内容の要旨

論文題目 ホエイペプチドの生理機能に関する研究

氏 名 神田 淳

長時間の運動は身体、特に骨格筋の代謝に大きな影響をもたらす。筋中のエネルギー源であるグリコーゲンは枯渇し、骨格筋タンパク質合成の制御は大きく変化する。枯渇した筋グリコーゲンを回復させるには、炭水化物を摂取することが効果的である。近年、炭水化物のみを摂取するのではなく、炭水化物と組み合わせてタンパク質を摂取することにより、効果的に筋グリコーゲンが回復することが報告された。また、骨格筋は筋タンパク質の合成と分解のバランスにより一定量に保たれている。骨格筋量を増加させるための手段として運動が広く実施されているが、運動によって骨格筋タンパク質合成が増加する一方、骨格筋タンパク質分解も増加することが知られている。しかし、運動後にタンパク質を摂取した場合、運動により高まった骨格筋タンパク質合成はさらに増加し、一方、運動により高まった骨格筋タンパク質分解は抑制され、筋タンパク質合成が分解を大きく上回った状態となることが報告されている。

それらの作用メカニズムとして、分岐鎖アミノ酸、特にロイシンの関与が考えられている。ロイシンにより骨格筋における糖の取り込みが促進し、筋グリコーゲン合成が亢進するという研究結果が報告されている。また、ロイシンは筋細胞内のシグナル系を通じて mRNA の翻訳開始を活性化することで、筋タンパク質合成を急速に刺激していると考えられている。つまり、運動と組み合わせてタンパク質、特に分岐鎖アミノ酸、ロイシンを多く含んだものを摂取することが筋肉増強には重要であると考えられている。

一方、近年、特定のジペプチド、トリペプチドがアミノ酸に比べ腸管吸収が優れているのみならず、生理機能を有することが明らかになってきている。そこで、我々は摂取するタンパク質の分岐鎖アミノ酸含量及びロイシン含量のみが重要なのではなく、摂取するタンパク質の分子形態も重要であると仮説を立て、研究を進めてきた。その中で、分岐鎖アミノ酸、ロイシンを多く含むホエイタンパク質を加水分解したホエイペプチド中に含まれる特定のジペプチド (Ile-Val, Leu-Val, Val-Leu, Ile-Ile, Leu-Ile, Ile-Leu, Leu-Leu) にロイシンと同様の骨格筋への糖取り込み促進作用を見出し、報告した。また、運動後に糖質とホエイペプチドを組み合わせる摂取した場合、ホエイタンパク質、分岐鎖アミノ酸を摂取した場合と比較して有意に骨格筋グリコーゲンが高値まで回復すること、つまり、ホエイペプチドがホエイタンパク質や遊離アミノ酸よりも優れたグリコーゲン回復促進作用を有することを報告した。しかし、これは単回投与の報告であり、ホエイペプチドの長期的摂取が筋グリコーゲンに与える影響については明らかではない。また、同様にホエイペプチドの筋グリコーゲン促進作用のメカニズムも明らかにされていない点が多い。そこで、本研究では、まず、マウスを用いて、運動と組み合わせてホエイペプチドを長期的に摂取した場合の筋グリコーゲン量を、ホエイペプチドと同組成のアミノ酸混合物と比較検討した。その結果、ホエイペプチドの長期摂取によりアミノ酸混合物摂取と比較

して有意に筋グリコーゲン量が増加することが明らかになった。また、筋グリコーゲン量は運動パフォーマンスと相関することがよく知られている。本研究において、マウスの運動パフォーマンスを測定した結果、有意差は認められなかったものの、ホエイペプチド群は最も高い運動パフォーマンスを示し、運動パフォーマンスと筋グリコーゲン量の間には正の相関関係が認められた。

ホエイペプチドの筋グリコーゲン増加作用のメカニズムを明らかにするため、グリコーゲン合成に関与するタンパク質であるグリコーゲン合成酵素、ヘキソキナーゼ、GLUT4 の mRNA 量を測定した結果、グリコーゲン合成酵素の mRNA 量はホエイペプチド群で有意に増加していることが明らかとなった。また、ホエイペプチド群のグリコーゲン合成酵素はタンパク質レベルでも増加していることに加え、活性化状態である脱リン酸化状態にあることが明らかとなった。つまり、ホエイペプチドはグリコーゲン合成酵素の活性化を介して筋グリコーゲンを増加させる可能性が示唆された。

ホエイペプチドがタンパク質やアミノ酸よりも優れたグリコーゲン回復促進効果を有することはこれまでに示しているが、筋タンパク質代謝に与える影響がホエイペプチドとアミノ酸で異なるのかについては明らかにされていない。そこで、本研究では、ホエイペプチドの摂取が筋タンパク質代謝に与える影響においてもアミノ酸と比較して優位性があると仮説を立て、運動後のホエイペプチド摂取が骨格筋タンパク質合成に与える影響を同組成のアミノ酸と比較検討することとした。具体的にはラットを用いて水泳運動後にホエイペプチドまたは同組成のアミノ酸混合物を投与し、骨格筋合成速度を調べた。その結果、ホエイペプチドの摂取によりアミノ酸摂取と比較して骨格筋合成速度が有意に増加することが明らかになった。また、骨格筋合成に関与する mTOR シグナルに関するタンパク質のリン酸化量を測定した結果、mTOR、4E-BP1、S6K1 のリン酸化量がホエイペプチド摂取により亢進することが明らかとなった。すなわ

ち、ホエイペプチドは同組成のアミノ酸よりも効果的に mTOR シグナリングを活性化し、骨格筋タンパク質合成を促進する可能性を示した。

本研究において、これら新たなホエイペプチドの生理機能が示されたが、ホエイペプチドの作用メカニズムの詳細をさらに明らかにする目的で、ホエイペプチドの摂取が遺伝子発現に与える影響を網羅的に解析することとした。具体的には、ラットを用いて、運動後にホエイペプチドまたはホエイペプチドと同組成のアミノ酸を摂取した場合の骨格筋中の遺伝子発現を DNA マイクロアレイにより解析した。その結果、ERK1/2 及び HIF-1 α 標的遺伝子群の発現がペプチド摂取とアミノ酸摂取の二群間で変動することを見出した。さらにタンパク質レベルの解析においても、ペプチド摂取によって ERK1/2 及び HIF-1 α が活性化していることを見出し、ホエイペプチドの生理機能の発現において、骨格筋における ERK1/2 及び HIF-1 α の活性化が関与している可能性が示唆された。

本研究により、ホエイペプチドはアミノ酸よりも優れた骨格筋グリコーゲン増加作用、骨格筋合成促進作用を有することが明らかとなった。これらの結果は運動後に摂取するサプリメントとして、ホエイペプチドが効果的であることを示すものである。また、新たに ERK1/2 や HIF-1 α といった因子がホエイペプチドの生理作用に関与している可能性が示された。これらの新たなシグナル因子の影響を詳細に調べていくことにより、ペプチドとアミノ酸の作用機作の違いを明らかにすることができると考えられる。さらには、運動後に摂取するタンパク質源として、どのような種類のタンパク質、ペプチドまたはアミノ酸が最も効果的であるのかが明らかになり、現在の超高齢化社会において課題となっているサルコペニア（加齢に伴う筋量の減少、筋機能の低下）を防ぎうる食品の開発につながることを期待される。