

ミルクタンパク質摂取による運動能力向上 とその抗疲労作用の機構に関する研究

京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻栄養化学分野 伏 木 亨

緒 言

食品それぞれには、生体に対して何らかの作用、機能をもつ。このような観点で食品をとらえることは近年ようやく盛んになってきた。しかしながら微量で効果を持つような薬品に近いと考えられる成分とは異なり、我々が日常的に摂取する食品タンパク質では単に栄養素として考えられる場合が殆どであり、身体の成長や維持に必要な材料としての認識が一般的であろう。このため動物実験などでは特に体重の増大が第一の指標とされ、より強い活性を持つ成分を検証するための単なるベースとしての役割を持たされるのが普通である。

タンパク質の中で他者に摂取されることを前提として産生されるものはミルクタンパク質が唯一のものであり、身体を構成するたんぱく質を生合成するための材料として好適であるのは当然であろう。我々は食品の質を評価する手段として体重増加とは全く異なる指標である、持久運動能力を正確に測定する方法を開発した。この過程で、実験動物の体重増加に適した市販固型飼料が持久運動能力の増大という面からは必ずしも最適な食餌ではなく、いくつかのタンパク質の中でもミルクタンパク質であるカゼインをベースにした飼料がこの能力増大に有意に貢献することを見いだした。また昨年度の本事業の助成により行った研究で、カゼインだけでなくホエーを含んだ飼料にも同様の効果がある事を示唆する結果を報告した。

本研究においては、このような作用がエネルギー代謝的にどのような効果によって現われるのかを検討した。また持久運動能力の向上には（肉体的能力の向上と不可分と考えられるが）疲労を感じにくいと言う理由ゆえに改善されている部分があると予想される。動物にどの程度疲労が生じているかを測定する系はまだ十分に整備されているとは言えない。そこで摂取する食餌や薬剤によって、動物の疲労度（行動する意欲の大きさを自発行動量によって評価する）が影響を受けるかどうかを検討する実験系を確立し、ミルクタンパク質の効果を測定した。

材料と方法

動物と食餌組成

マウス (Balb/c, オス, 6週齢)、およびラット (Wistar オス, 6週齢) に与えた食餌組成を表1に示した。各々のタンパク質はエネルギー比にして20.7%とした。また各食餌にはメチオニンを2%となるよう添加した。それぞれのタンパク質の純度は、カゼインが88%、ホエーが95%、ダイズタンパク質 (SBP) が85%であった。またそれぞれのタンパク質のアミノ酸組成を表2に示した。この値はカ

表1 飼料組成

	カゼイン食	ホエー食	大豆食
casein 88%	228	—	—
whey 95%	—	210	—
SBP 85%	—	—	235
corn starch	541	541	541
soybean oil	100	100	100
cellose	95	95	95
mineral mix	40	40	40
vitamin mix	22	22	22
L-methionine	2	2	2
合計「g」	1028	1010	1035

表2 各タンパク質のアミノ酸組成

	casein	whey	SBP
Ile	5.7	6.8	4.8
Leu	10.4	11.1	7.9
Lys	8.3	6.8	6
Met	2.8	2.4	1.2
Phe	5.1	3.8	5.5
Thr	4.6	8	3.6
Typ	1.4	2.1	1
Val	6.8	6.8	4.7
Tyr	6	3.5	3.8
Cys	0.3	2.4	1.2
Ala	3.1	5	3.9
Arg	4	3	7.8
Asp+Asn	7.3	11.3	12.6
Glu+Gln	23	19.2	22.4
Gly	2.1	2.2	4.1
His	2.9	2.2	2.4
Pro	11.2	5.2	5.4
Ser	5.8	5.2	5.7

ゼインとホエーについては「ミルクのサイエンス」(全国農協乳業プラント協会)から、SBPについては「食品タンパク質の科学」(食品資材研究会)より引用した。これ以外に特に記述していない場合は一般的な市販固形飼料(MF, オリエンタル酵母工業、東京)を与えた。

運動前単回摂取による効果の測定

まずこれらタンパク質を含む食餌が、1回摂取することにより動物の運動能力にどのような影響を与えるかを検討した。マウスは食餌を供する時間帯に与えられた分量を全て摂取するよう訓練した。実験を行う時間帯、および夜間の2回に分けて1日分の餌に相当する量の1/2ずつを与えた。この方法で3日間摂食を制御し、時間給餌に慣れさせた。

図1に示すスケジュールにて安静時のエネルギー代謝に対し摂取タンパク質が及ぼす影響を検討した。マウスを12時間絶食させた後、3時間各々のタンパク質を含む食餌を摂取させ、その後絶食下6時間にわたって安静状態のエネルギー代謝を呼気ガス分析により測定した。

次に図5に示すスケジュールにて、走行運動時のエネルギー代謝に対し摂取タンパク質が及ぼす影響を検討した。マウスを絶食させた後、3時間摂食、さらに140分間安静にした後40分間のトレッドミル走行(21m/min, 最大酸素摂取量の60%に相当する運動強度)を負荷し、その後そのまま40分間安静に保った。食餌摂取終了後30分後に呼気ガス測定チャンバー/トレッドミルに動物を移動し、呼気ガス測定を開始した。以降30分間の安静状態、40分間の走行運動状態、およびその後の40分間の安静状態のエネルギー代謝を測定した。

抗疲労・疲労回復効果の測定

これらのタンパク質を含む食餌を短期間摂取することにより、運動に対して抗疲労・疲労回復効果を持つかどうかを検討した。疲労度の指標として自発行動量を用い、低度と考えられる疲労を引き起こした後どのような経過で自発行動が回復するかを抗疲労・疲労回復の指標とした。疲労を引き起こす負荷として、低い運動強度で動物を運動させた。マウスについては回転カゴ(FRW-30, メルクエスト、富山)を用い、10m/minの速度で歩かせた。ラットについては同じ速度で、トレッドミルを用いて歩行させた。

この実験系の妥当性を判断するため、動物の自発行動を増大させる薬物として選択的セロトニン受容体1型拮抗剤の一種であるシタロプラム(20mg/kg BW)、および自発行動を減少させる薬物としてドーパミンアンタゴニストであるハロペリドール(2.5mg/kg BW)を運動前30分に腹腔内投与し、疲労負荷後の自発行動回復に及ぼす影響を検討した。

呼吸交換比測定

呼吸交換比は呼気ガス分析装置(RL-600, Alco System, 東京)で測定した。動物の呼気中の二酸化炭素濃度、および酸素消費量はGC-Mass分析により算出する。各動物の炭水化物酸化量および脂

脂肪酸酸化量は既報の計算式より算出した。

トレッドミル

マウスおよびラットの走行運動負荷にはトレッドミルを用いた。トレッドミル (Columbus Instruments, Columbus, USA) は同寸法の走行レーン3基からなり、それぞれは代謝チャンバー内で走行運動できるよう設計されている。走行レーンの傾斜は10度とした。マウスについては予備飼育 (市販の配合飼料にて飼育) の7日間に、ラットの一部については短期飼育の10日間にトレッドミル走行に慣れさせるトレーニングを行った。トレーニング効果が生じないように日数と時間を最小限と思われる量に調整した。

自発行動量測定

自発行動の測定には通常のラット用ケージをオープンフィールドとし、初めてそこに投入されたマウスの自発行動を測定した。測定には赤外線センサーによりフィールド内の動物の移動をカウントするシステム (スーパーメックス、室町機械、東京) を用いた。

TGF- β 測定

ラット脳脊髄液中のTGF- β 濃度を測定した。麻酔下のラット大槽より、脳脊髄液を採取した。TGF- β 濃度測定には、レポーターとしてplasminogen-activator inhibitor-1遺伝子のプロモーター領域に存在するTGF- β 応答性エレメントを単離し、その下流にルシフェラーゼ遺伝子をつないだコンストラクトを安定的にミンク肺上皮細胞Mv1Luにトランスフェクトした細胞TMLECによるバイオアッセイを用いた。

血中成分測定

血中成分の測定には各々市販のキットを用いた。グルコースはGlucose-AR2 (和光純薬、大阪)、遊離脂肪酸Non-esterified fatty acids (NEFA) はNEFA C Test Wako (和光純薬、大阪)、ケトン体はKetone Test (三和ケミカル、名古屋)、乳酸はDeterminer LA (協和メデックス、東京)、インスリンはELISAキット (森永生化学研究所、横浜) により定量した。

グリコーゲン測定

グリコーゲンは定法によりアルカリ中で組織を加熱溶解し、グリコーゲンをエタノール沈殿によって回収したものを塩酸酸性下で加水分解後、生成したグルコースを定量してグリコーゲン量を算出した。

統計

全ての結果は平均値±標準誤差で示した。2群以上の実験群で、時間経過を比較する場合2-way ANOVAを行いpost-hoc testにBonferoni法を用いた。血液性状を比較する場合は1-way ANOVAを行い、post-hoc testにTukey法を用いた。単純な2群間の値の比較にはunpaired t-testを用いた。

結果

(1)運動前単回摂取による効果の測定

安静時における効果

図1のスケジュールにて、安静状態のエネルギー代謝に及ぼす各タンパク質食の影響を検討した。測定前のマウス体重当たりの各食餌摂食量に有意な差は見られなかった(図2)。安静時の呼吸交換比はカゼインを摂取した群でわずかに高く推移する傾向が見られたが有意な差ではなかった。ホエー食、ダイズタンパク質食とも同様の变化を示し、3群間に差は見られなかった(図3)。またこのときの酸素消費量の推移を図4に示した。ダイズタンパク質食群でやや低く推移する傾向があったが、3群間に統計的に有意な差はなかった。以上より、単回摂取では安静状態においてエネルギー代謝におけるタンパク質摂取による効果は見られなかった。

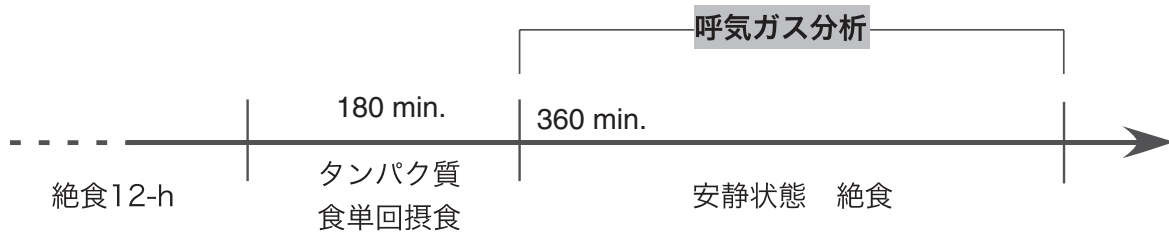


図1. タンパク質食単回摂取による安静時エネルギー代謝に対する効果測定スケジュール



図2. 安静時エネルギー代謝測定時のマウス摂食量
体重当たりの摂取量として表した。

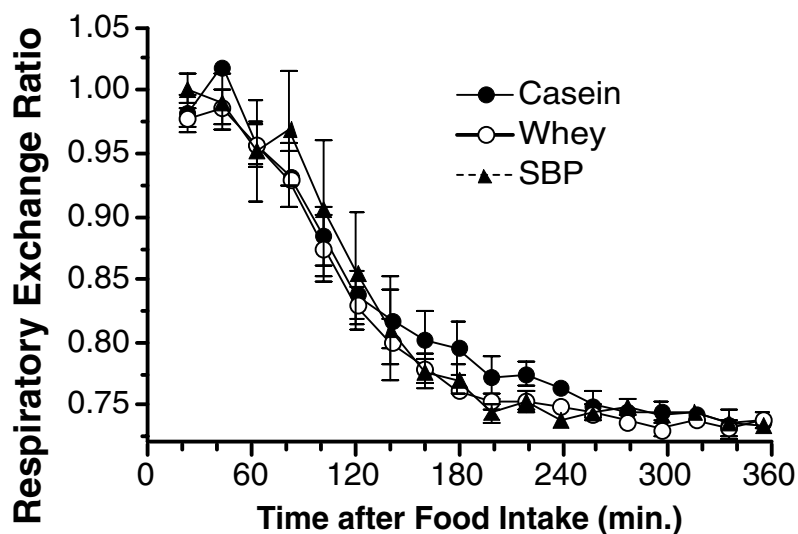


図 3. タンパク質摂食後の安静時呼吸交換比の変化

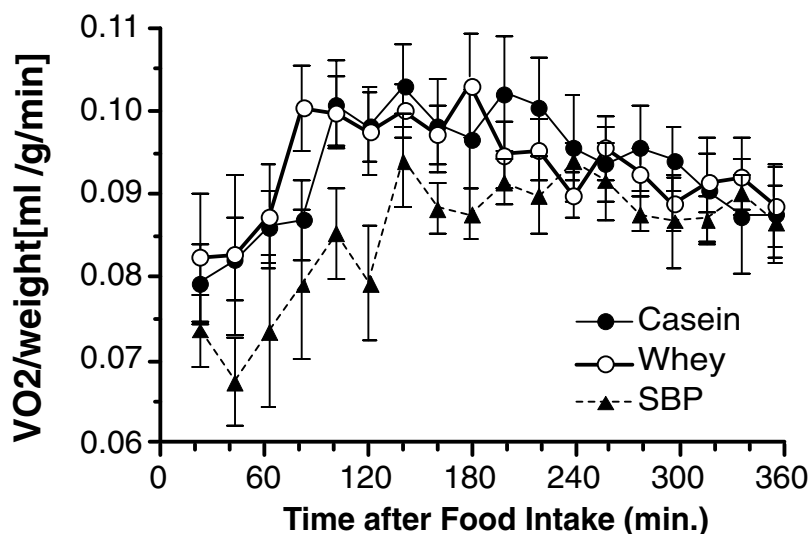


図 4. タンパク質摂食後の安静時酸素消費量の変化

運動時における効果

次に図 5 のスケジュールにて、運動時のエネルギー代謝に及ぼす各タンパク質食の影響を検討した。安静群と同様に 3 時間の食事摂取時間を設けたが、直後に運動することを避けるためさらに 140 分間の安静時間を設けた。3 時間の食事摂取量に 3 群間で差は見られなかった(図 6)。運動時の呼吸交換比はホエー群でより早く低下、低く推移し、カゼイン食群に対し運動終了後の 50 分、および 54 分、70 分で有意に低い値を示した ($p < 0.05$)。ダイズタンパク質食群はいずれの群とも有意な差を示さなかった(図 7)。酸素消費量はホエー食群で低く推移し、運動終了後の 70 分でカゼイン食群に対し有意に低い値を示した(図 8)。炭水化物酸化量はホエー食群で低く(図 9)、逆に脂肪酸酸化量は高めに推移した(図 10) が、各測定時間ごとの値に統計的な有意差は観察されなかった。

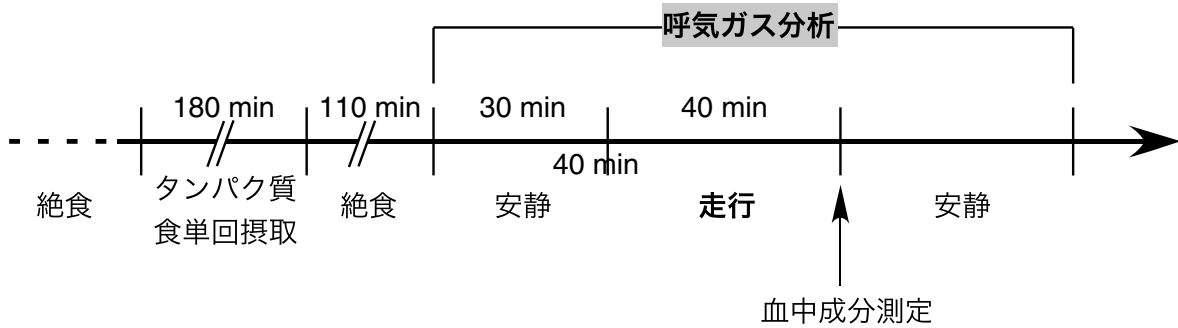


図5. タンパク質単回摂取による運動時エネルギー代謝に対する影響測定のスケジュール

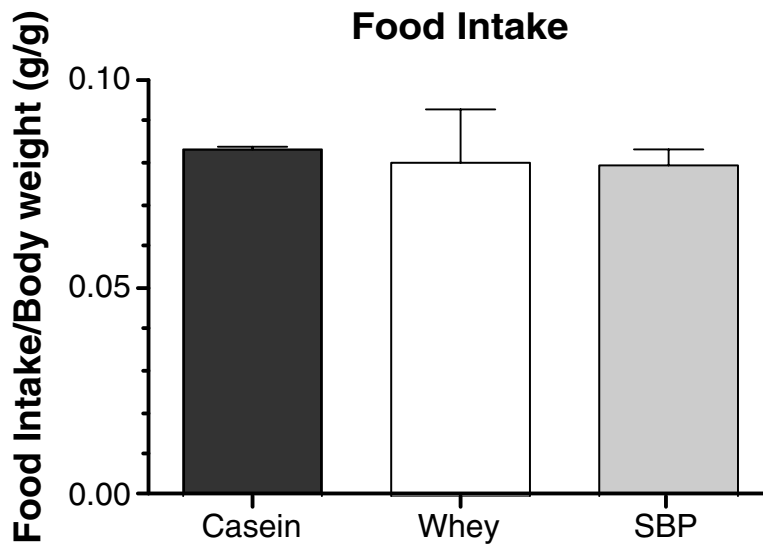


図6. 運動時エネルギー代謝測定におけるマウス摂食量
体重当たりの摂取量として表した。

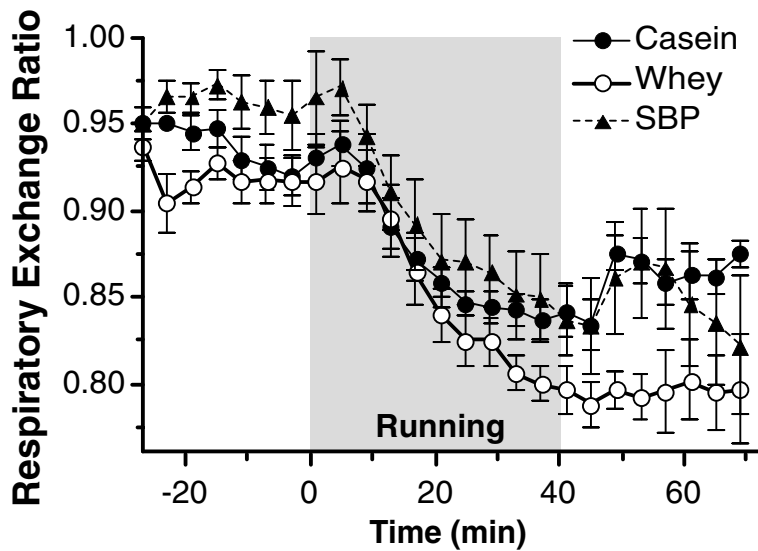


図7. タンパク質単回摂取による運動時呼吸交換比に対する影響

運動開始前安静状態30分、トレッドミル走行40分、運動終了後安静状態30分の呼吸交換比の変化を示した。図中灰色の背景にした部分でトレッドミル走行を行っている。有意差についてはグラフを見やすくするため表示を省略した。

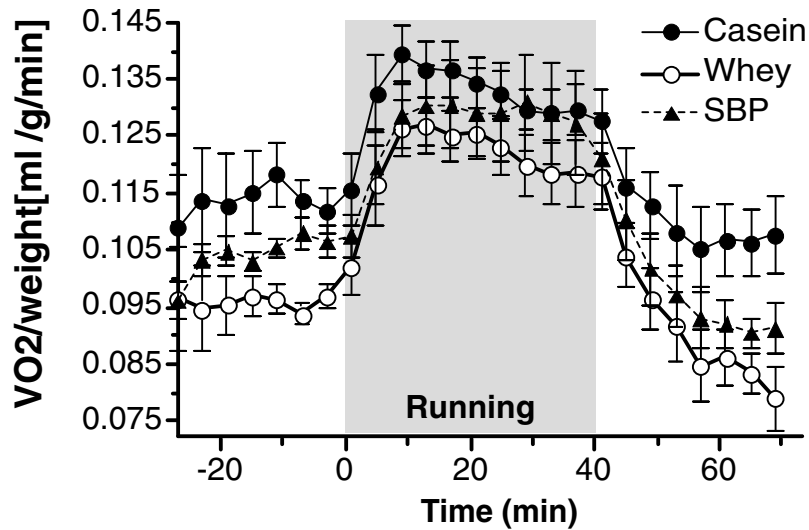


図8. タンパク質単回摂取による運動時酸素消費量に対する影響
 図7と同じ測定で酸素消費量を示した。有意差についてはグラフを見やすくするため表示を省略した。

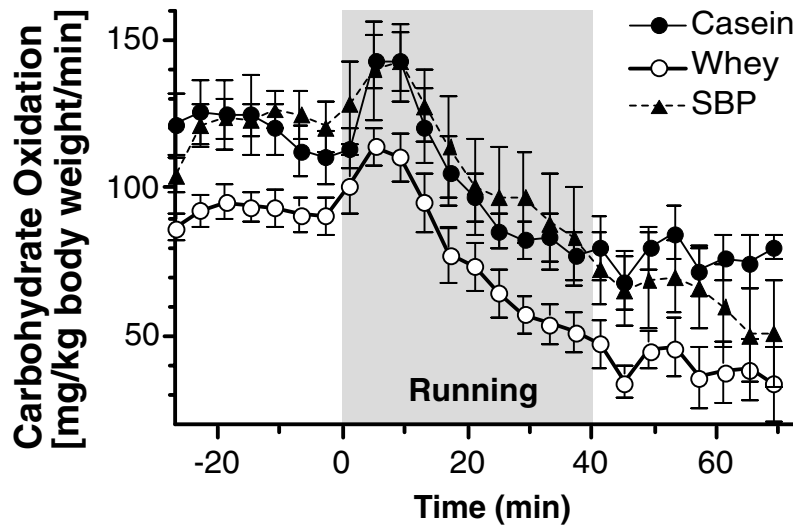


図9. タンパク質単回摂取による運動時炭水化物酸化量に対する影響
 図7および8の測定値から算出した炭水化物酸化量を示した。

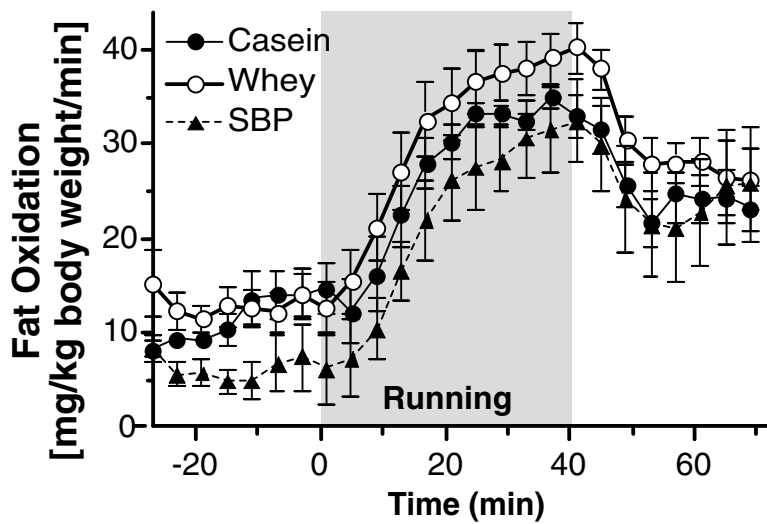


図10. タンパク質単回摂取による運動時脂肪酸酸化量に対する影響
 図7および8の測定値から算出した脂肪酸酸化量を示した。

運動後の血中エネルギー基質濃度などについて比較した。血糖値については、カゼイン食群の値がホエイ食群に対し有意に高い値を示した(図11)。またインスリン濃度はカゼイン食群が他の群に比べ有意に高い値を示した(図12)。血中乳酸値については各群に有意な差は見られなかった(図13)。

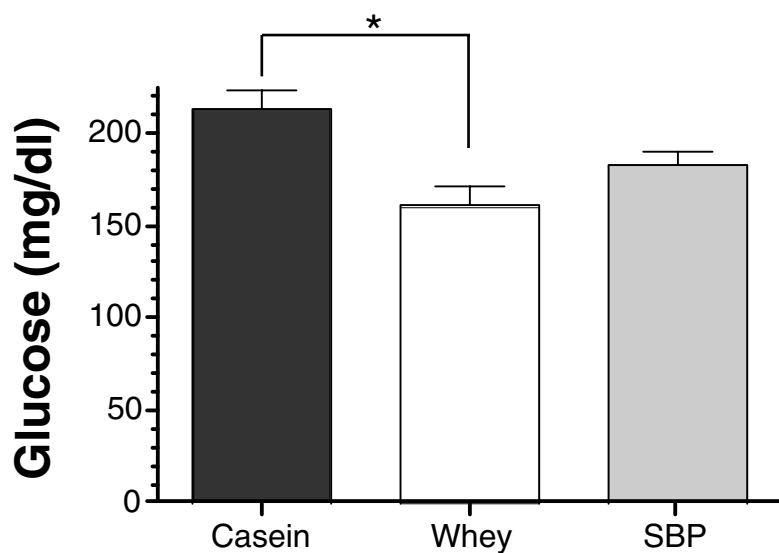


図11. タンパク質単回摂取が運動後の血糖値に与える影響

*: $p < 0.01$

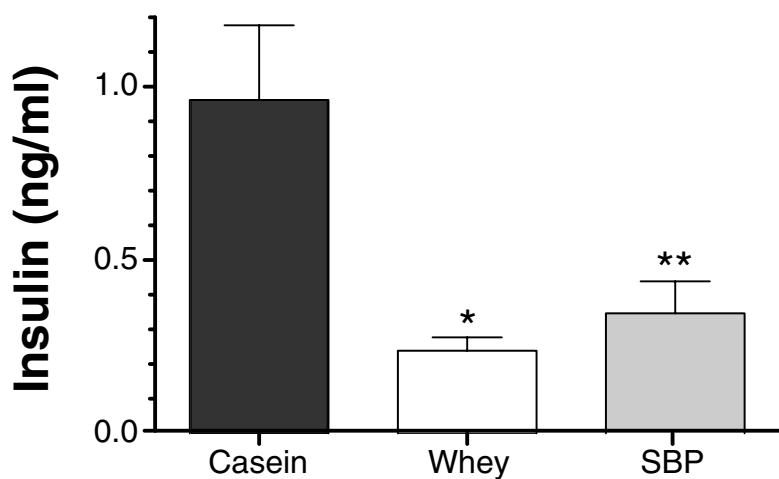


図12. タンパク質の単回摂取が運動後の血中インスリン濃度に及ぼす影響

*: $p < 0.01$, **: $p < 0.05$

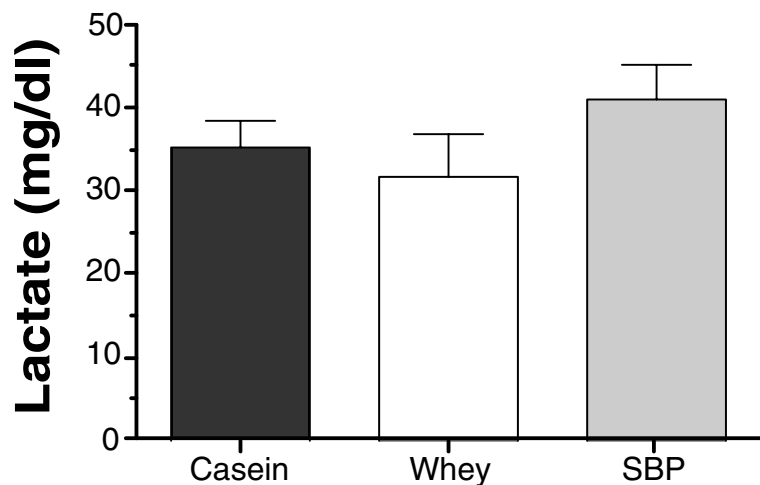


図13. タンパク質の単回摂取が運動後の血中乳酸濃度に及ぼす影響

血中遊離脂肪酸濃度はホエー食群の値がカゼイン食群に対し有意に高い値を示した(図14)。ケトン体濃度については遊離脂肪酸濃度と同様の結果を示したが、3群間に統計的な有意差は観察されなかった(図15)。血中尿素体窒素濃度はホエー食群の値がカゼイン食群に対して有意に高い値を示した(図16)。

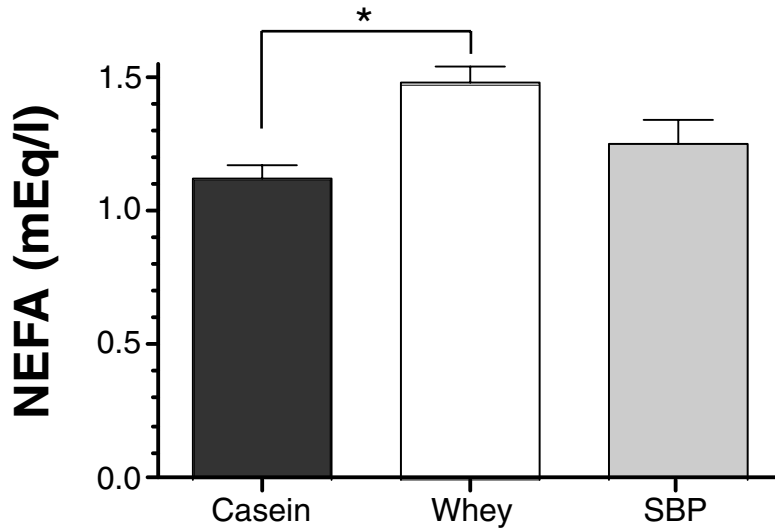


図14. タンパク質の単回摂取が運動後の血中遊離脂肪酸濃度に及ぼす影響
*: $p < 0.01$

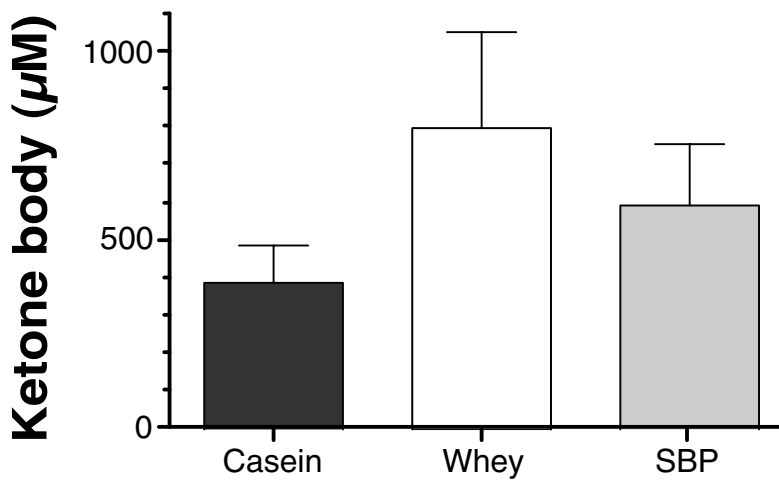


図15. タンパク質の単回摂取が運動後の血中ケトン体濃度に及ぼす影響

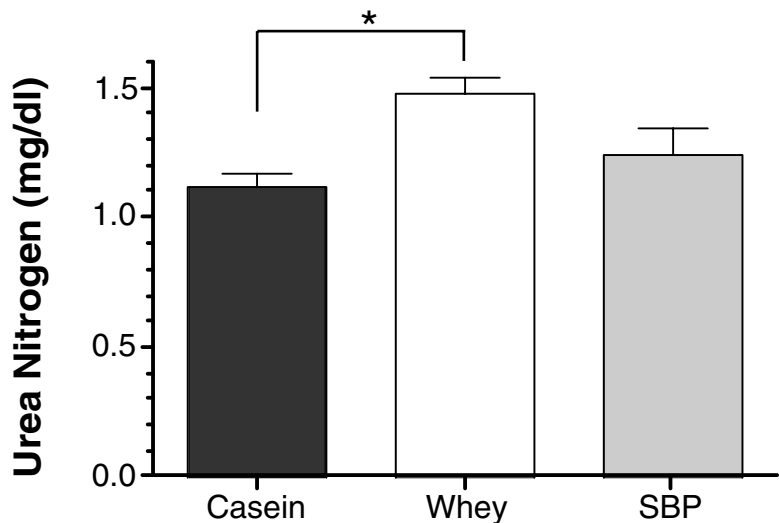


図16. タンパク質の単回摂取が運動後の血中尿素体窒素濃度に及ぼす影響
*: $p < 0.01$

(2)抗疲労・疲労回復効果の測定

実験系の妥当性

初めに、今回設定した実験系が抗疲労・疲労回復効果を測定する上で妥当なものかどうかを検討した。これを検定する目的で、動物の自発行動を増大させることが報告されているシタロプラム、減少させることが知られているハロペリドールを前投与し、疲労負荷後の自発行動回復をどのように回復させるかを調べた。実験スケジュールは図17に示した。動物の自発行動が増大する暗期に実験を行った。ベースラインとなる行動量を1時間測定し、その中間で薬剤およびその溶媒を投与した。その後1時間の歩行運動を負荷し、終了後2時間自発行動を測定した。溶媒を投与しただけで、この間歩行を負荷しない安静群をコントロールとした。

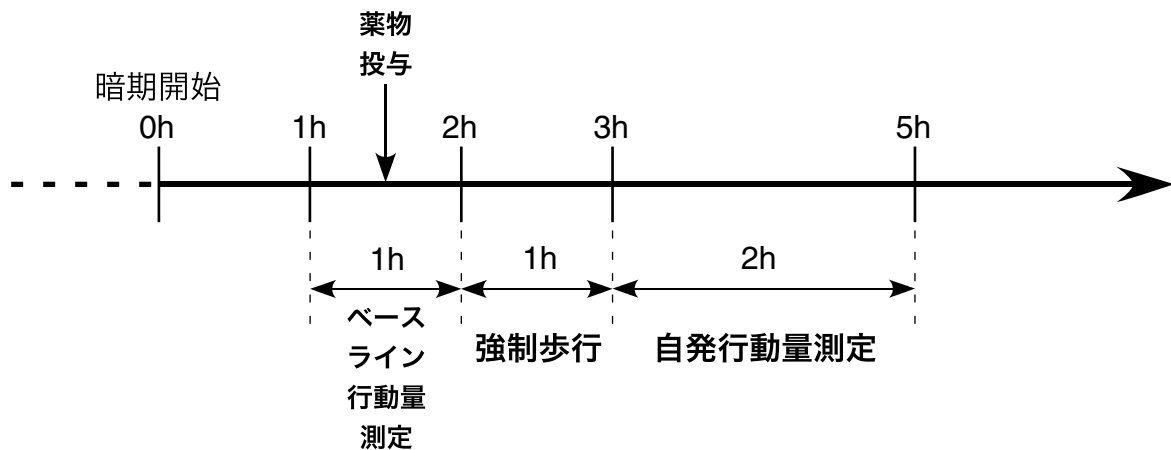


図17. 抗疲労・疲労回復効果を測定する実験系の妥当性の検討スケジュール

行動量は5分間毎の行動量カウントの平均値で示した。ベースラインの行動量に各群の差は観察されなかった。薬物、および溶媒を腹腔内投与したためベースライン測定中の30分で値の低下が生じた。シタロプラムを前投与した群では溶媒を投与した群に比べ疲労負荷後の自発行動の回復が早いことが確認された(図18)。溶媒を投与した群では運動負荷終了後50分で安静群との行動量に有意差が見られなくなる、すなわち疲労負荷から回復したとみなされた。これに対してシタロプラムを投与した群では、統計的には運動直後の0、および5分のみ安静群に対して有意に低だけで以降は有意差がなかった。この結果より、自発行動を増大させる効果を持つものを検出することができるとわかった。これに対してハロペリドールを投与した群は2時間の測定時間中安静群よりも有意に低い値を維持した(図19)。溶媒群は40分で安静群との有意差が見られなくなった。この結果より、動物の自発行動を抑制する効果を持つものについても検出が可能であることがわかった。

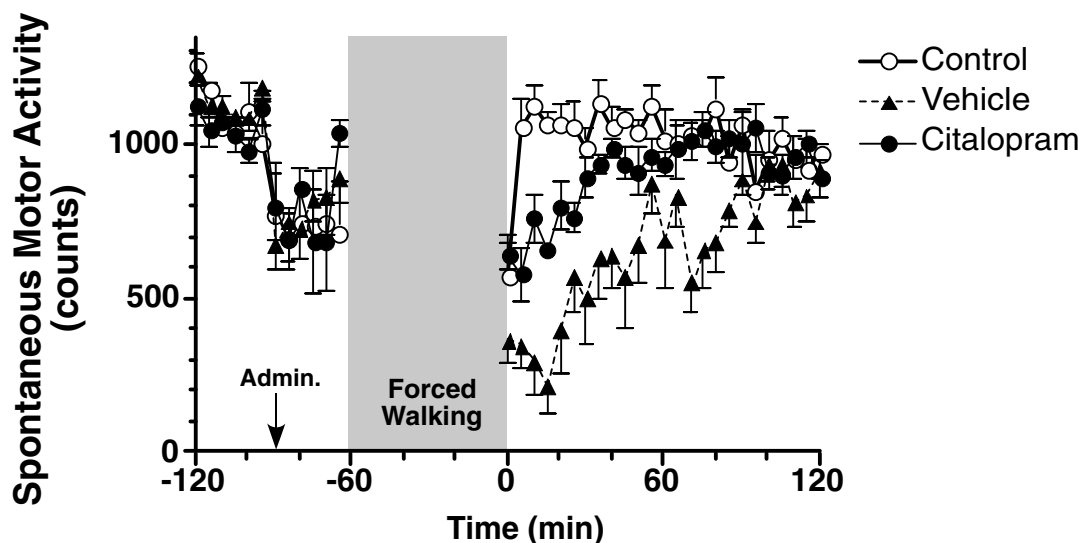


図18. 強制歩行後の自発行動量回復におけるシタロプラム前投与の効果

強制歩行開始30分前にシタロプラム (20mg/kg BW) を腹腔内投与した。有意差についてはグラフを見やすくするため省略した。

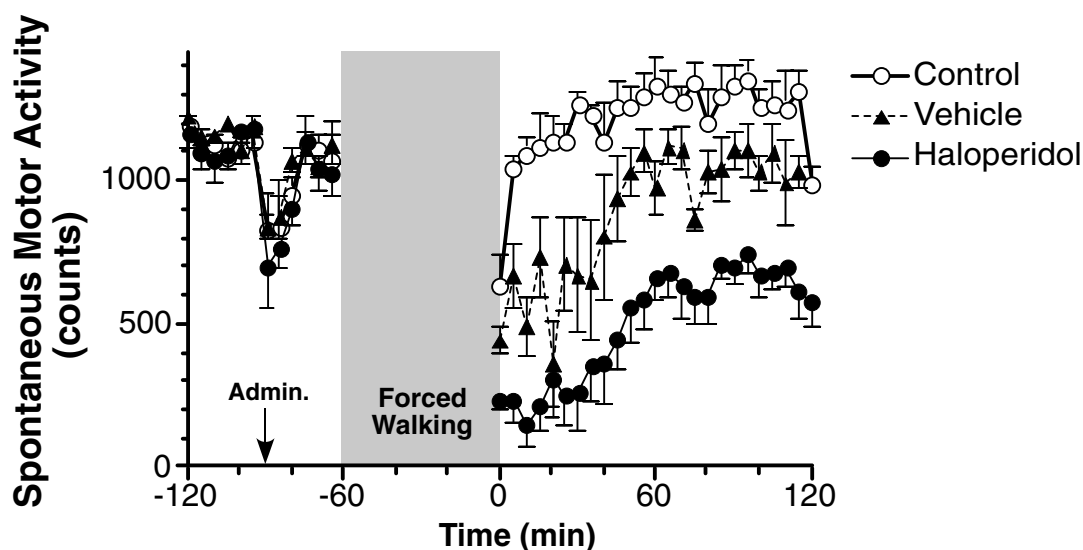


図19. 強制歩行後の自発行動量回復におけるハロペリドール前投与の効果

強制歩行開始30分前にハロペリドール (2.5mg/kg BW) を腹腔内投与した。有意差についてはグラフを見やすくするため省略した。

タンパク質摂取の効果

次に10日間各タンパク質食を摂取した動物で、一定の疲労負荷に対し抗疲労、もしくは疲労回復効果を示すかどうかを検討した。各タンパク質食を摂取することでマウスの体重増加に有意な差は見られなかった(図20)。また一日あたりの摂食量は、市販固形飼料から切り替えた初期の段階ではらつきが見られたが、摂取開始3日以降有意な差は見られず、ほぼ同量の食餌を摂取した(図21)。図22に示すスケジュールで実験を行った。暗期開始後各食餌を自由摂取させ、2.5時間後に餌箱を除去した。暗期開始3時間後から行動量のベースラインを測定し、4時から5時まで強制歩行を、その後2時間自発行動量の測定を行った。

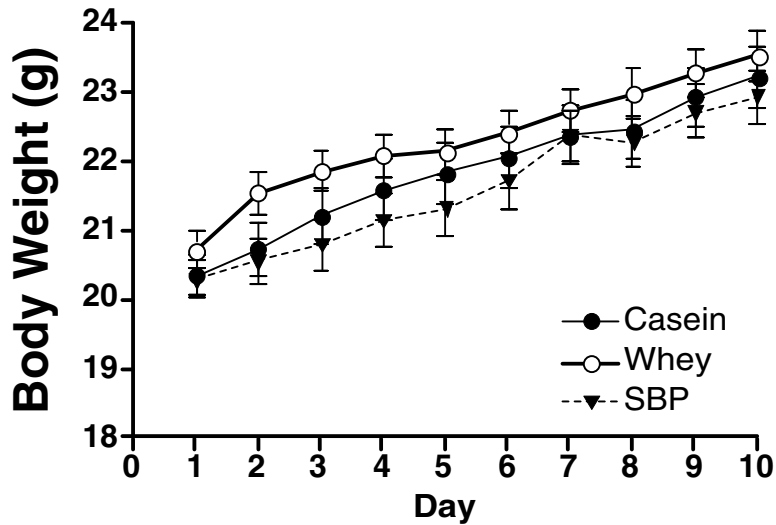


図20. 各タンパク質食による飼育期間でのマウス体重増加

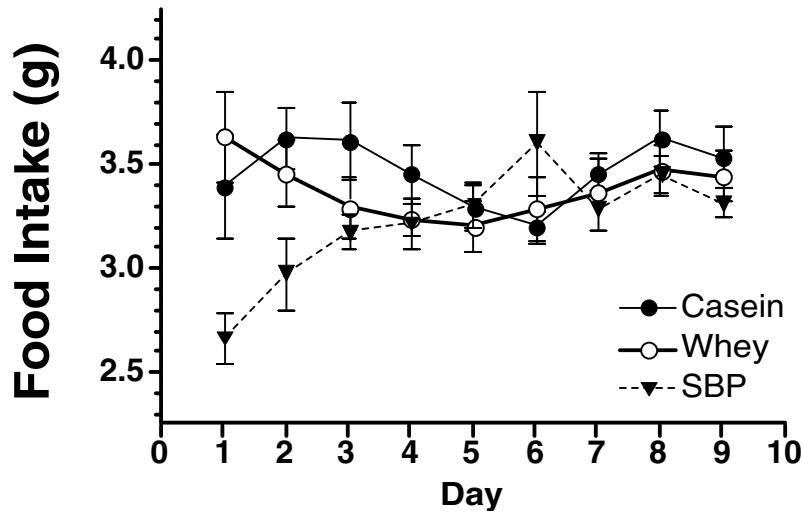


図21. 各タンパク質食による飼育期間でのマウス摂食量の変化

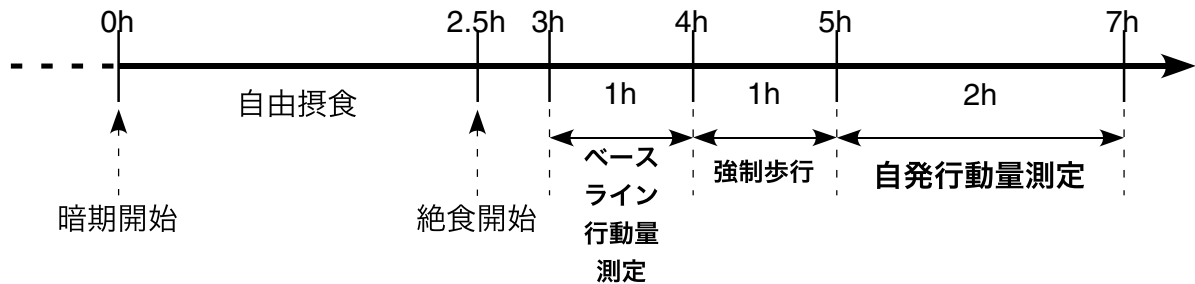


図22. 各タンパク質摂取による抗疲労・疲労回復効果の測定スケジュール

まず市販の固形飼料で飼育したマウスが、この実験プロトコルでどのような行動量の変化を示すかを検討した。行動量は15分間毎の行動量カウントの平均値で示した。ベースラインの行動量は両群で有意な差は見られなかった。疲労負荷を与えない安静群の行動量に対し、運動負荷群では低い運動量を示し、負荷終了後75分（正確には60-75分の15分間の値）まで安静群に対し有意に低い

値を示した(図23)。この結果は市販固形飼料では行動量の回復が90分まで見られないことを示す。各タンパク質食群に対し、どのような食餌を比較の対象とするかは問題であるが、一般的に入手が可能であり、品質がある程度一定であると考えられる市販固形飼料を暫定的に対照飼料と考えて比較を行った。

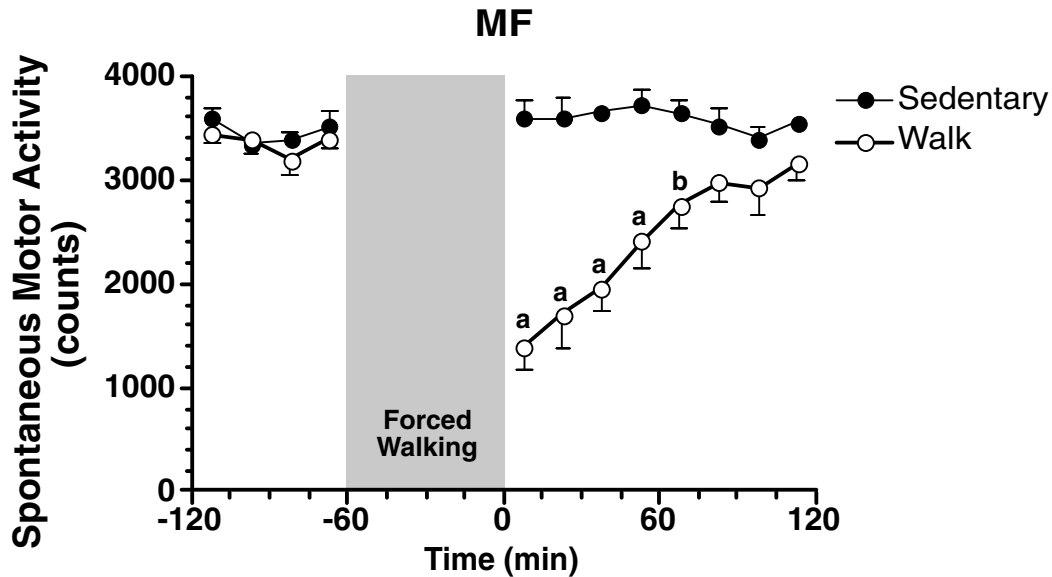


図23. 市販固形飼料を摂取したマウスにおける強制歩行後の自発行動量の変化

マウスの自発行動量は15分毎の行動量カウント数の平均値で示した。灰色背景で示した時間帯(-60~0分)に強制歩行を負荷した。同じ固形飼料を摂取し、強制歩行をしなかった群(Sedentary)を対照とした。a: 同じ時点で対照群の行動量に対し $p < 0.001$ で有意差、b: 同じく $p < 0.01$

カゼインで飼育した群では、45分で安静群の自発行動量との差が見られなくなった。また市販固形飼料食群に対しても45分で有意に高い自発行動量を示した(図24)。これは市販固形飼料食群の自発行動回復(90分)よりも45分早い回復が見られることを示す。

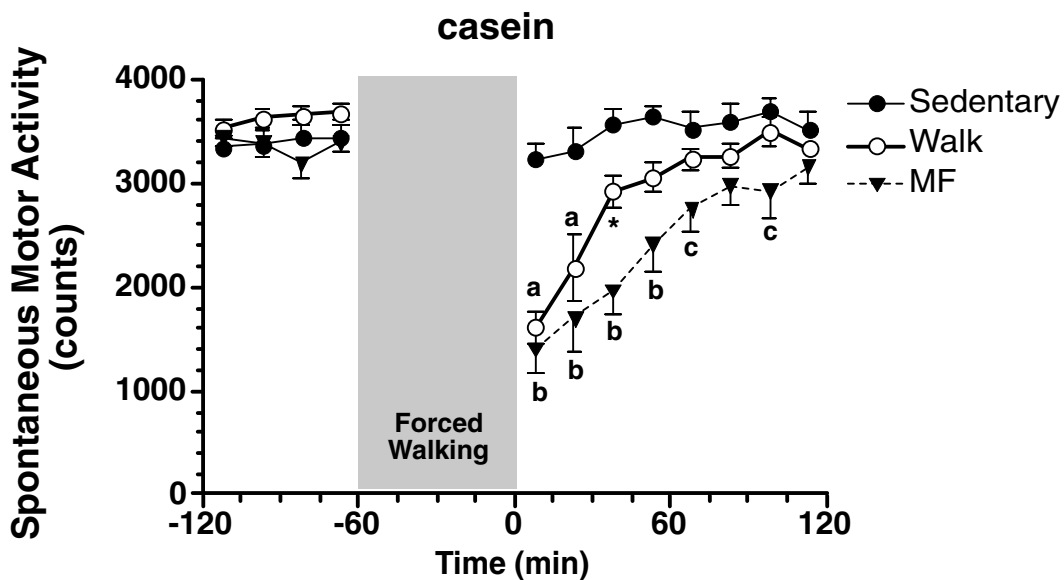


図24. カゼインを摂取したマウスにおける強制歩行後の自発行動量の変化

同じカゼイン食を摂取し、強制歩行をしなかった群(Sedentary)を対照とした。a: 同じ時点で対照群の自発行動量に対し $p < 0.001$ で有意差、b: 同じく $p < 0.001$ 、c: 同じく $p < 0.05$ 、*: 同じ時点で市販固形飼料群に対して $p < 0.01$ で有意差

ホエー食群の行動量は疲労負荷終了後60分まで安静群に比べて有意に低い値を示した(図25)。これは市販固形食群の自発行動両回復よりも15分早く回復が見られたことを示す。市販固形飼料食群の自発行動の値に対し有意な差は見られなかった。

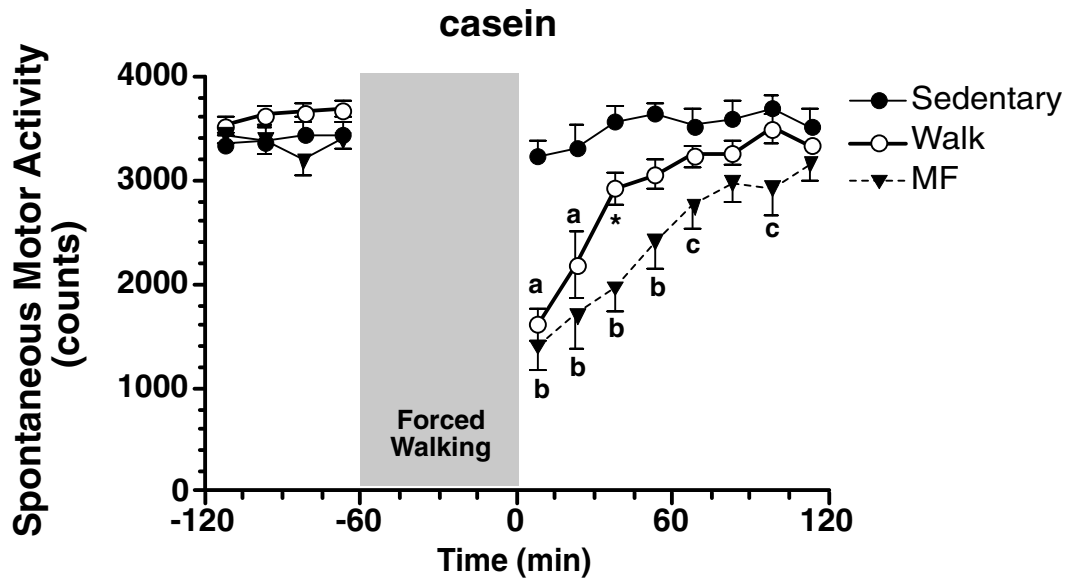


図25. ホエーを摂取したマウスにおける強制歩行後の自発行動量の変化

同じホエー食を摂取し、強制歩行をしなかった群 (Sedentary) を対照とした。a: 同じ時点で対照群に対し $p < 0.001$ で有意差、b: 同じく $p < 0.05$ 、c: 同じく $p < 0.001$ 、d: 同じく $p < 0.05$

ダイズタンパク質食群の行動量は疲労負荷終了後60分まで安静群に比べて有意に低い値を示した(図26)。これは市販固形食群の自発行動両回復よりも15分早く回復が見られたことを示す。市販固形飼料食群の自発行動の値に対し有意な差は見られなかった。

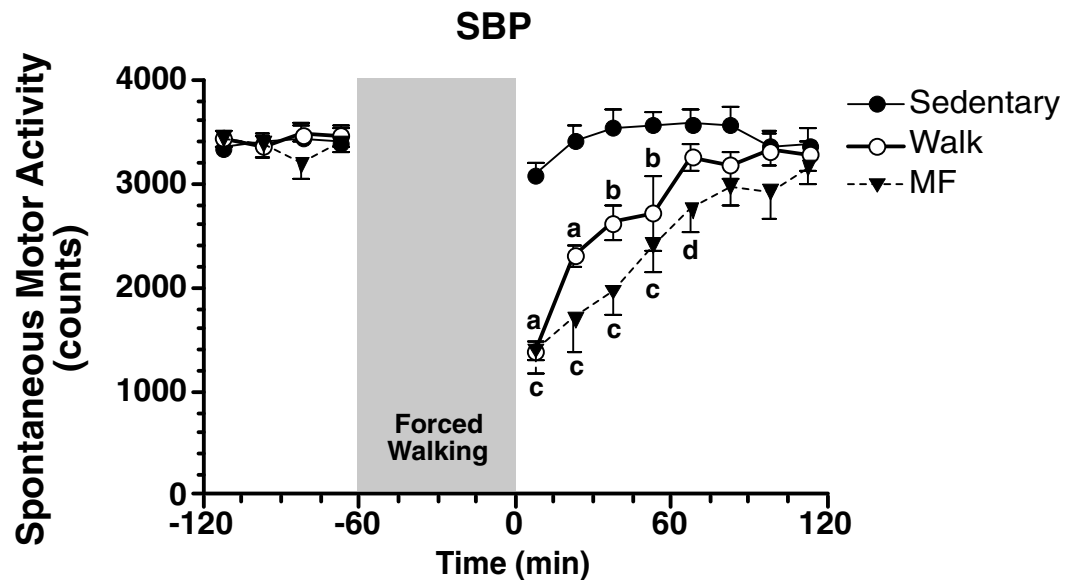


図26. ダイズタンパク質を摂取したマウスにおける強制歩行後の自発行動量の変化

同じダイズタンパク質を摂取し、強制歩行をしなかった群 (Sedentary) を対照とした。a: 同じ時点で対照群に対し $p < 0.001$ で有意差、b: 同じく $p < 0.01$ 、c: 同じく $p < 0.001$ 、d: 同じく $p < 0.05$

この実験で用いた疲労負荷である強制歩行がどの程度の運動強度になっているかを検討するため、同じスケジュールを用い、1時間の歩行直後に血液を採取し、エネルギー基質濃度を同じ時間帯に安静にしていた群の値と比較した。血糖値については安静群間の血糖値に差は見られなかった。ダイズタンパク質食疲労負荷群の値が他の全ての群に比較して有意に低い値を示した(図27)。遊離脂肪酸濃度は全ての食餌群で運動負荷により安静群よりも有意に高い値を示した。また安静群の値と比較すると、カゼイン食群の値に比べダイズタンパク質食群が有意に高い値を示した(図28)。運動後の遊離脂肪酸濃度は各群間で有意な差はなかった。血中乳酸濃度は運動後にやや低い傾向を示したが、安静および運動負荷群間に有意な差は見られなかった。カゼイン食安静群の値に対しダイズタンパク質食運動群の値が有意に低い値を示した(図29)。本報告ではカゼイン食群とホエー食群についてののみ肝臓グリコーゲン濃度を示したが、食餌の差、および疲労負荷の有無により有意な差は見られなかった(図30)。さらに、ラットにおいて10m/minの速度での歩行が脳脊髄液中のTGF- β 濃度にどのような影響を示すか検討した。本報告ではカゼイン食群の値のみ示す。10m/minという比較的低速の運動負荷であるが、脳脊髄液中のTGF- β は安静群の濃度に比べ有意な増大を示した(図31)。



図27. 各タンパク質食を摂取したマウスにおける強制歩行後の血糖値の変化

各タンパク質食を摂取し、強制歩行をしなかった群(Sed)と同じタンパク質を摂取し強制歩行を行った群(Walk)の血糖値を示した。*: 他の全ての群に対し $p < 0.01$ で有意差

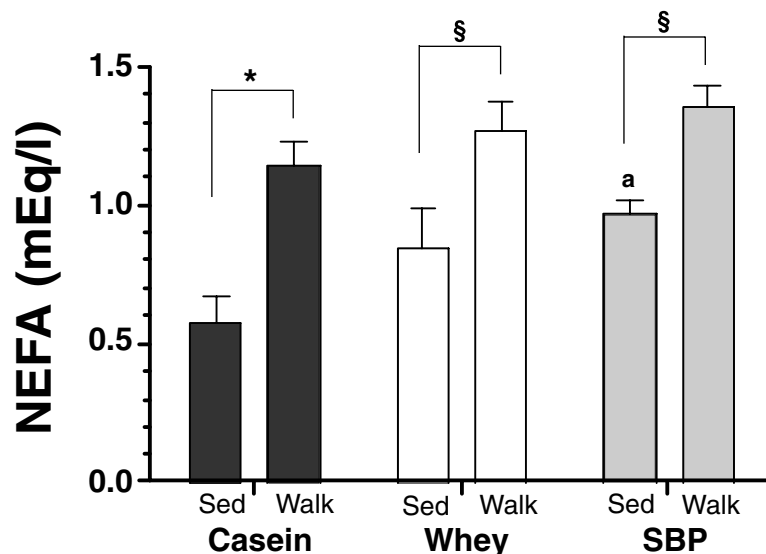


図28. 各タンパク質食を摂取したマウスにおける強制歩行後の血中遊離脂肪酸濃度の変化

各タンパク質食を摂取し、強制歩行をしなかった群(Sed)と同じタンパク質を摂取し強制歩行を行った群(Walk)の血中遊離脂肪酸濃度を示した。*: 同じタンパク質を摂取したSed群の値に対し $p < 0.01$ で有意差、§: 同じタンパク質を摂取したSed群の値に対し $p < 0.05$ で有意差、a: カゼインを摂取したSed群の値に対し $p < 0.05$ で有意差

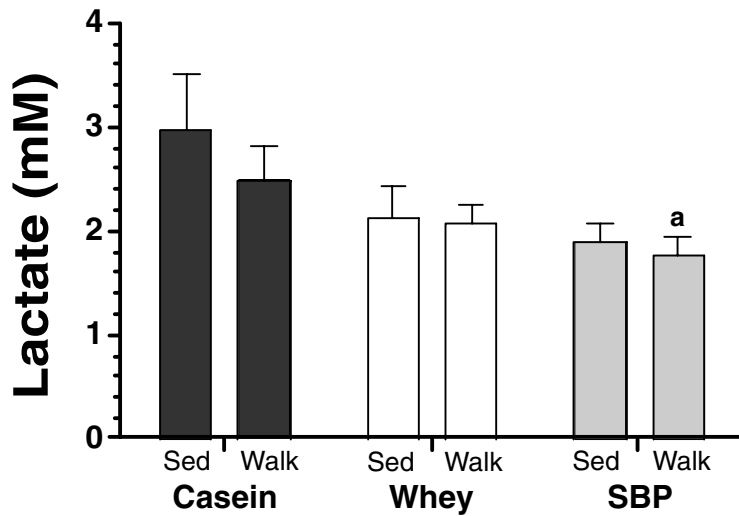


図29. 各タンパク質食を摂取したマウスにおける強制歩行後の血中乳酸濃度の変化
a: カゼインを摂取したSed群の値に対し $p < 0.05$ で有意差

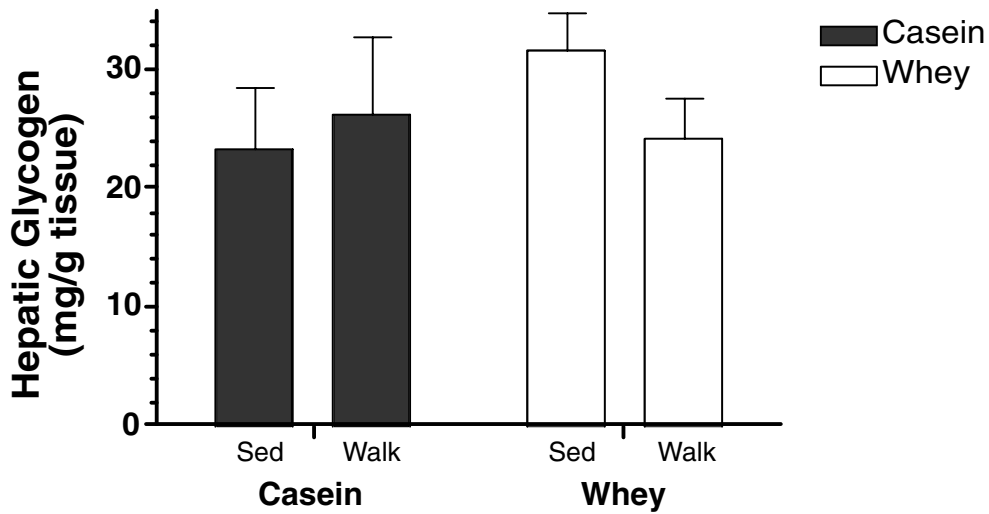


図30. カゼインおよびホエーを摂取したマウスにおける強制歩行後の肝臓グリコーゲン濃度の変化

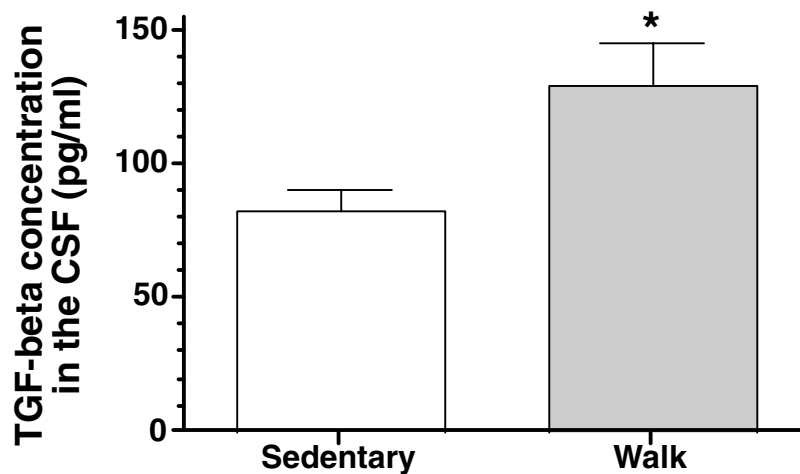


図31. カゼインを摂取したラットにおける強制歩行後の脳脊髄液中TGF- β 濃度の変化
*: 強制歩行しなかった群の値に対し $p < 0.05$ で有意差

考察

単回摂取におけるタンパク質の運動時エネルギー代謝に対する効果

運動を始める前にどのような食事を摂取しておくかは競技者がその能力を発揮する上で重要な事項だと考えられるようになってきた。またこのような目的では、長期にわたって食べ続けるのではなく、競技前の1回だけの摂取である場合も多い。そこで、食事として摂取される一般的なタンパク質であっても、1回の摂取により競技能力に影響を与えるかどうかをエネルギー代謝の面から検討した。摂取した食事がどのような効果を持つかある程度予測するために、その食事成分が身体をどのようなエネルギー代謝状態に変化させるかを呼気ガス分析によって解析する方法がある。特に持久運動能力を高める可能性は、身体が脂肪酸酸化が優位な状態になっている場合に大きいと考えられる。

本研究ではまず食餌摂取のみの安静状態で動物の代謝状態に変化があるかどうかを確認したが、この実験で用いたカゼイン、ホエー、ダイズタンパク質のいずれも有意な変化を示さなかった。これに対し、トレッドミル走行によって中程度の運動強度で運動を負荷した場合、ホエータンパク質を摂取した群で呼吸交換比が低く推移する傾向がみられた(図7)。これは持久運動を行う上で脂肪酸代謝が優位となっていることを示す。実際に脂肪酸酸化量を計算すると他の2群に比べてその量が大きいことがわかった(図10)。血中のエネルギー基質濃度を測定した結果、これを裏付けるようにホエー群で遊離脂肪酸濃度の有意な上昇とその不完全代謝物であるケトン体の上昇傾向が観察された。このような結果は運動前のホエー食摂取が持久運動を行う上で有利になる可能性を示すものである。しかしながら、走行運動負荷を終了し、マウスを解剖した際にカゼイン食を摂取した群で胃内に大量の食餌が残っていることが観察された。これはミールフィーディングにより一日で摂取するであろう量の1/2を比較的短時間に一度に摂取したためで、他の2群についてはそのような多量の滞留は観察されなかったことから、カゼイン食の問題だと考えられる。実際にカゼイン食では運動後に関わらず血糖値が高く、インスリン濃度も高いことから、食餌摂取終了から絶食・運動を経てもまだ消化吸収が続いていることを示しており、運動に対し不利な条件となっていることをうかがわせる。今後食事摂取量や絶食時間を調整し、同じような現象が見られるかどうか検討する必要がある。またここで観察されたエネルギー代謝に対する影響、特にホエー食における脂肪酸酸化亢進作用が予想通り持久運動に対して有利に作用するかどうかを実際の最大運動能力測定によって検証する必要があるだろう。さらに、人間に应用することは今のところあまり容易ではないと考えられるが、これらタンパク質を長期に摂取した場合の運動能力への影響を検討する必要があると考える。

抗疲労・疲労回復に対するタンパク質摂取の効果

肉体的・精神的疲労も含めた疲労を制御することは現在重要な問題となりつつある。このような制御が食品摂取を通じて部分的にでも行えることができれば非常に有用だと考えられる。現在のと

ころ疲労を測定する実験系はまだ十分に整備されているとは言い難い。本実験では、予備実験的ではあるが、それほど強い負荷をかけず、疲労困憊に至る以前の疲労状態に動物を置き、摂取した食品が疲労の改善に働くのか、それとも増悪に働くのかを検出できる系とすることを目指した。

系の妥当性を評価するために、動物の行動量を増加させることが報告されている選択的セロトニン阻害剤の一種シタロプラム、逆に行動量を減少させることがわかっているドーパミンアンタゴニストであるハロペリドールを投与し、この系でその効果が報告通り観察されるかどうかをまず検討した。シタロプラムの前投与では強制歩行終了後短時間は自発行動量の減少が見られたが、すぐに増加に転じ、全く強制歩行をしなかった群と有意差のない行動量に回復した。ハロペリドールでは自発行動の回復は見られなかった。これらの薬剤は動物の中枢神経系に作用し、行動する意欲を変調するものと考えられる。これらが末梢組織のエネルギー代謝に影響し、運動の効率を変える可能性はまだ検討されておらず、今後の課題となるかも知れない。中枢神経系のみに対する影響であるならば、同様の作用を持つ物質についても本実験系で検出が可能だと考えられる。何れにせよ本実験系により抗疲労・疲労回復効果を持つ物質のスクリーニングが可能であると結論した。

今回検討した食餌タンパク質を摂取したマウスの行動量の回復はいずれも市販固形飼料を摂取した群よりも短時間で起こることがわかった。市販固形飼料は最大成長が得られる配合ではあるが、運動などに対する効果を想定して開発はされていない。また栄養素のマクロな分析値は発表されているが、どのような材料が使用されているかについては公表されていない。このため本実験での用途には不適切かも知れないが、同質の餌で誰でも入手できるという観点から、コントロールの食餌として暫定的に使用した。強制歩行後の回復が最も早い食餌タンパク質はカゼインであった。今回の実験結果では対照とした市販固形飼料と比較しても有意な自発行動の回復が観察された。単回摂取の実験とは明らかに異なり、運動負荷後の血糖値などはホエー食群に比べて低い値を示した。このような差はまず実験スケジュールによると考えられるが、単回摂取では絶食が140分、抗疲労・疲労回復実験では150分とそれほど大きな差ではなく、ミールフィーディングによる摂取量の差と、摂取期間の違いを反映しているものと考えられる。さらに運動負荷が強制走行では21m/min、強制歩行では10m/minと強度がかなり違うことも影響したと予想される。ホエー食に関しては、単回摂食での結果と同様に、カゼイン食に比べて血中遊離脂肪酸濃度が安静状態でも比較的高く、強制歩行後の血糖値の低下や乳酸濃度の上昇があまり見られなかったことから、持久運動に適した食餌処方である可能性が高い。

一定の低強度の運動負荷に対して、それが疲労とならないときには、その（1）負荷が殆ど負担にならない程度に（持久）運動能力が高いこと、（2）エネルギーの供給が順調で身体への負荷がそれほど大きくならないこと、あるいは（3）精神の状態が疲労を疲労と感じていないことなどが考えられる。また（4）疲労は同程度であってもそこから回復する過程が迅速である場合も本実験系で有意な差となって現れると考えられる。本実験系の妥当性の検討で用いた薬剤は中枢神経系に作用して

動物の行動する意欲を変調したもので、おそらく肉体的な負荷は殆ど同等であると考えられるため、例えばシタロプラムでマウスの自発行動が高く維持されたのは疲労を疲労として感じなかった例(3)だろうと考えられる。これに対して、ホエー食で見られた回復は、強制歩行時に運動のエネルギーとして脂肪が良く利用されたために身体への負荷があまり大きくない、前述の2番目の例であると考えられる。カゼインについては疲労負荷からの回復にどのような要素が寄与しているのか現在のところ良くわからない。比較的糖質エネルギーを利用している傍証として、安静状態で血中乳酸濃度が高いことが上げられるが、血中遊離脂肪酸濃度の上昇は他のタンパク質食群と差がなく、不完全な測定ではあるが肝臓グリコーゲン濃度も強制歩行によっては有意な減少が見られなかった。比較的長い期間カゼイン食を摂取することで体組成に変化が起こる可能性があるが、それが自発行動の回復に作用するようなものなのか今後の検討が必要である。

上で述べた例の(3)は単に疲労感が遮断されているだけであり、身体の消耗は現実として存在することから健康を維持する上ではあまり好ましい状態とは言えない。食事成分として摂取する場合、肉体的に疲労しにくい、あるいは疲労から回復する能力の高い身体を形成することに寄与することが重要となろう。

本研究では、異なるタンパク質摂取により、一定の負荷に対して疲労度の大きさがどのように変わるかを一部明らかとした。我々の研究で、運動による疲労感の増大に脳内のTGF- β の作用が重要であることを既に報告しているが、本研究で明らかにした自発行動の回復に差が生じる現象に、強制歩行後の脳内TGF- β 濃度の差が反映されているかどうかを明らかにすることは非常に興味深い。

本実験ではスクリーニング系としてマウスでの疲労負荷の最適な大きさを決定するなど、基礎的なデータ収集に時間がかかり、研究実施期間中にTGF- β 濃度の差を測定するまでには至らなかった。脳脊髄液の採取はマウスでは量が少なく、ラットを用いる必要がある。今後ラットに負荷する強制歩行の強度と自発行動の回復などについて検討する必要がある。