

運動による筋肉疲労の回復に及ぼす 牛乳摂取の影響

—牛乳に特異的に含まれる酪酸を用いた
スポーツ栄養補助剤の検討—

順天堂大学・スポーツ健康科学部・栄養生化学教授 山口 正 弘
順天堂大学・医学部・生化学第一助教授 亀 山 恒 夫

トレーニングの効果を高めるためには、運動によって生じた筋肉疲労を速やかに、しかも十分に回復させることが必要である。

今までのラットを用いた「発育過程の走運動トレーニング・ラットに及ぼす牛乳および砂糖の影響」の研究結果から、牛乳を十分摂取した運動トレーニング・ラットの脚筋にグリコーゲンが対照ラットの160~180%と増加していた。また、走運動によって疲労困憊したラット脚筋の枯渇したグリコーゲンの回復には牛乳が大きな効果を示した。しかし脂肪を大豆油で補正した脱脂粉乳飼料ではこのような現象が見られなかったことから牛乳に含まれる脂肪の質的な差異によると考えられた。

乳脂と大豆油の質的差異は前者には短鎖脂肪酸が多量に含まれていることである。牛乳及び乳製品に特異的に含まれる短鎖脂肪酸のうちで特に酪酸 (butyric acid) は全脂肪酸の10%を占めている。そこで、酪酸を用いて運動トレーニングや競技等で生ずる筋肉疲労の回復のための栄養補助剤としての可能性を検討した。

実験方法

1) 動物とその飼育

雄ラット (Sprague Dawley系) を約50gから2カ月以上飼育したものを実験に用いた。飼料は、魚粉と大豆油とでんぷんを主成分とした標準飼料 (船橋農場製MM-1) 及びカロリーや栄養素の成分はMM-1と同じであるが全脂粉乳を30%含む特別注文飼料、M飼料でを用いた。

2) 筋肉の呼吸能力の測定

Kameyama & Ettlinger (Nature 279: 1979) の実験方法に従って次のように行った。単離された左右一対のひらめ筋 (Sol), (遅筋) 及び長指伸筋 (EDL, 速筋) をそれぞれ固定板に弛緩状態と静止長に固定した緊張状態 (筋が張力を生ずる状態; 筋肉が運動している状態に相当) に固定し、10mM グルコースと0.5単位のインシュリンを含む Krebs-Ringer リン酸 (pH 7.1) 緩衝液の中での酸素消費を YSI - MODEL 5300 Biological Oxygen Monitor (Yellow Springs Instrument Co. INC) で測定した。

3) 投与する酪酸溶液の調整

腸管の消化吸収作用はタンパク質が腸管に入ることによって活性化することが知られているが、カゼインの消化には時間とエネルギーがかなりかかるので、カゼインの酵素加水分解物 (CEH) を用いて次のような酪酸溶液について調べた。

- a) 0.1M 酪酸ナトリウム溶液 (対照として)
- b) 1.5% CEH を含む 0.1M 酪酸
- c) 3% CEH を含む 0.1M 酪酸。

4) ラットへの butyrate 付加と採血方法

MM1 飼料及び M 飼料で飼育したそれぞれのラットをエーテル麻酔し、一定量の酪酸溶液を胃ゾンデにて注入し、時間を追って尾静脈よりヘマトクリト管で採血した。

5) 血清中の酪酸の定量

a) 血液から脂肪酸の抽出

ヘマトクリト管より分離した血清 $50 \mu\text{l}$ に 3N HCl を $4 \mu\text{l}$ 加えて十分に攪拌し、卓上遠心器で10分間遠心した後、上層のエーテル層 0.8ml を分離し、エーテルを室温で蒸発させ脂肪酸を乾固した。その脂肪酸を0.1%のリン酸を含む10%アセトニトリルに溶解して分析用の試料とした。

b) 高速クロマトグラフィー (HPLC) による分析

島津製作所製高速液体クロマトグラフィー GELC システム G-1 で HPLC - Packed Colum SH $5 \mu\text{m}$ $4.0 \times 150\text{mm}$ カラムで30%から70%のアセトニトリ

ルの濃度勾配で酪酸を分画定量した。

c) 酪酸の定量性の検定

既知の濃度の酪酸ナトリウム溶液を上述 a) の方法で処理し、HPLCで分析した。

実験結果

1. 酪酸が筋肉の呼吸に与える影響

酪酸が筋の呼吸機能を活性化することは、平成5年度の委託研究報告で紹介した。図1は筋肉の活動状態による酪酸の影響を調べた結果で、筋肉に静止張力を負荷した(運動状態に相当: tension state)状態及び、張力を全く負荷しない(flaccid state)ひらめ筋の呼吸活性に対する酪酸の影響を示した。flaccid状態では4%程度の呼吸活性の促進にすぎなかったが、tension状態では16%と著しい呼吸活性の上昇がみられ筋肉の生理的状态によって酪酸の影響が異なることが示された。

2. 酪酸摂取後の血中酪酸濃度の変化

a) 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による酪酸の定量性

図2は既知の酪酸を、血清から抽出する手法で処理した試料を用いHPLCで測定した結果である。酪酸が0から0.7 μ molまでは直線を示したが1.4 μ molは直線から外れていたため、血中酪酸の濃度はこの範囲内で0.7 μ mol以下に成るように測定した。

b) 酪酸投与と血中濃度

図3は全脂粉乳飼料(M飼料)と非全脂粉乳飼料(MM1飼料)で飼育したそれぞれのラットに一定量の酪酸(酪酸ナトリウム溶液1ml)を胃の中に注入した後、30分と90分後の血中の酪酸濃度を調べた結果を示したものである。MM-1飼料のラットは30分、90分と血中酪酸濃度が僅かに高まったが、M飼料のラットは前者の30分で7.5倍、90分では約10倍と高まった。

図4および図5は牛乳を全く含まないMM-1飼料で飼育したラットと牛乳を30%含んだM飼料で飼育したラットのそれぞれの胃に注入する酪酸溶液にカゼインの酵素加水分解物(casein enzymatic hydrolysate(CEH)、Sigma製)1.5%およ

び3%加えた液を用いた結果を示した。両飼料ラットともCEH添加によって酪酸の血中濃度を高めることが示された。1.5%よりも3%CEHの投与の場合に血中の酪酸濃度が高くなった。特にM-飼料ラットはMM1-飼料ラットに比べて血中酪酸濃度をより短時間で、より高濃度にした。

考 察

酪酸が小腸細胞の呼吸を活性化し、消化吸收機能を高めることが既に報告されているが(Windmuller et al., *J. Biol. Chem.* 253: 1978, Fleming et al. *J. Nutr.* vol. 121: 1991)、本実験においてはじめて酪酸が骨格筋の呼吸を活性化することが明らかになった。この呼吸の活性化は主として有酸素的代謝でエネルギーを生産する遅筋で大きく、主として無酸素的代謝でエネルギーを生産する速筋で小であった。このことから、筋肉の種類によって酪酸の利用の程度が異なることが示された。また筋肉が張力を発生している、即ち筋が運動をしている状態で、酪酸の効果が大きいことから、筋肉がエネルギーを必要としているときに、酪酸が積極的にエネルギー源として利用されると考えられる。それ故、運動時や筋疲労の回復時に酪酸が十分筋肉に供給されるなら運動および回復に大きな効果をもたらすと考えられる。そのためには、酪酸が必要と思われるときに筋肉に供給されなければならない。

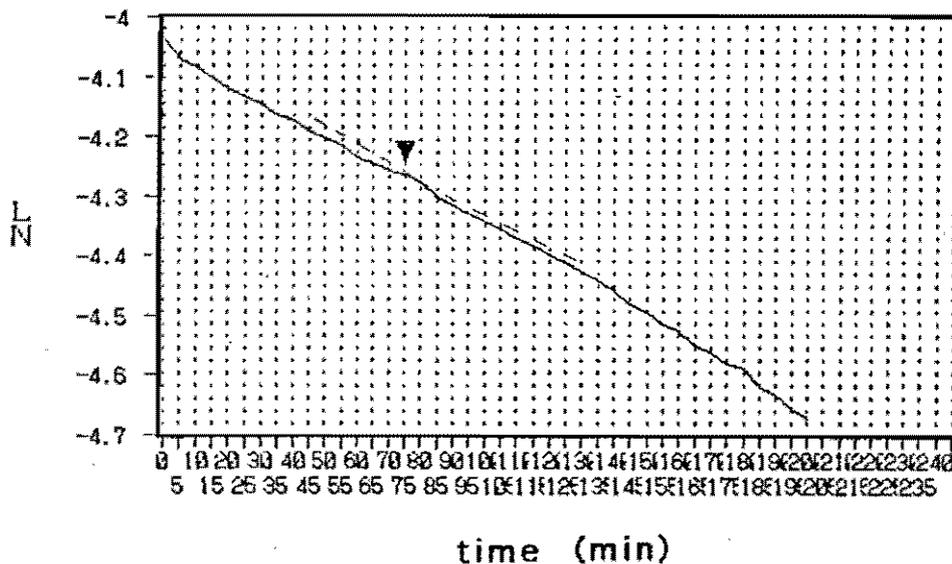
酪酸を摂取した後、どのような時間的経過で血中に現れ、全身に供給されるかが問題である。酪酸の血中濃度は摂取後きわめて低い(図3)。このことは酪酸はかなり吸収しにくいことを示唆している。カゼイン酵素加水分解物(CEH)を混合した酪酸を摂取するとMM-1ラットにおいては約1.5倍から3倍に血中濃度が高まった(図4、5)。タンパク質を摂取すると胆汁や膵臓の消化酵素の分泌を刺激するし、食物の消化吸收を著しく促進すること(Ivy & Oldberg, *Am. J. Physiol.* 65: 1928; Rodger, et al. *Am. J. Physiol.* 251: 1986)、しかしタンパク質の酵素加水分解物では促進効果がない(Rodger, et al. *Am. J. Physiol.* 251: 1986)と示されているが、特に酪酸の吸収についてはCEHが同様な効果を示すことが明らかになった。

摂取後、M試料で飼育したラットはMM-1飼料で飼育したラットに比べ血中酪酸濃度が短時間に、しかもはるかに高濃度になっていた(図3、5)。このことは牛乳

を毎日摂取することにより、小腸の酪酸の消化吸収機構が促進されるように適応したためと思われる。

ラットにおいては、摂取した酪酸が運動や筋肉疲労の回復のために効率よく作用する条件に、牛乳を毎日摂取すること、また単独で酪酸を摂取させずに他の食物、その一つにC E Hを混合した状態で摂取するのが有効であることが確認された。

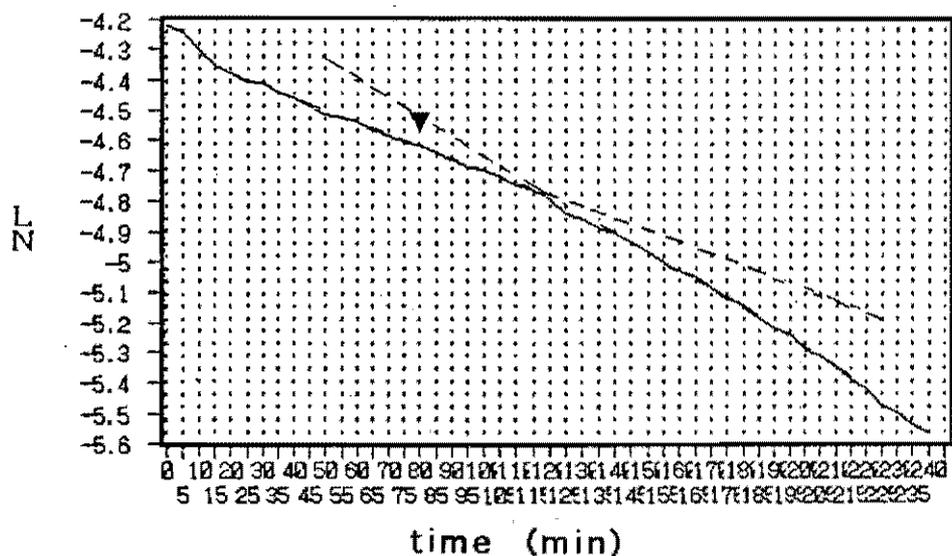
人の代謝機構はラットと非常に良く似ていることが解っているので、酪酸を基礎としたスポーツ栄養補助剤開発の可能性を高めた。



⊠1A Effect of butyrate on the respiratory activity of rat soleus in flaccid state

Dotted line indicates the slope on respiratory curve.

∇ : addition of butyrate to make a final concentration to 30 mM.



⊠1B Effect of butyrate on the respiratory activity of rat soleus in tension state

Dotted lines indicate the slope on respiratory curve.

∇ : addition of butyrate to make a final concentration to 30 mM.

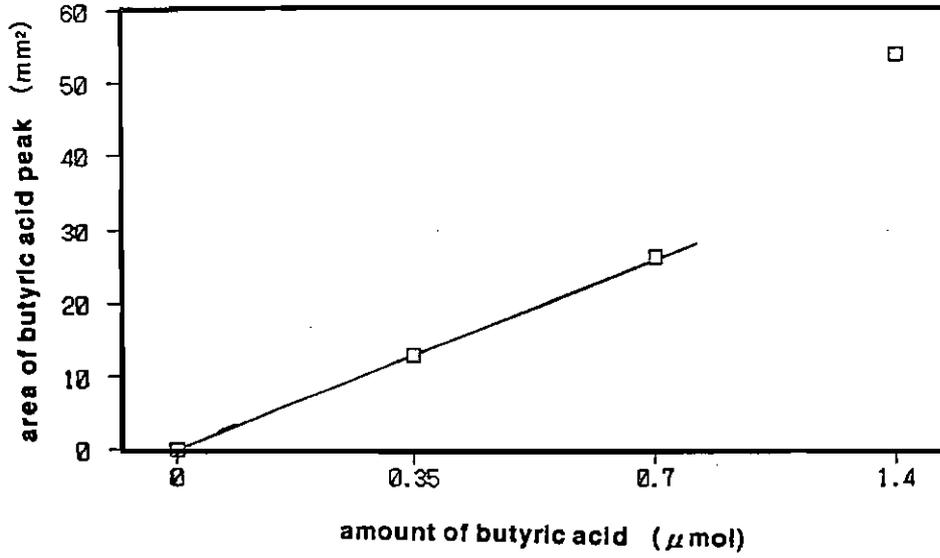


図2 Quantitative determination of butyric acid by HPLC.
It is shown the values at average of 3 experiments.

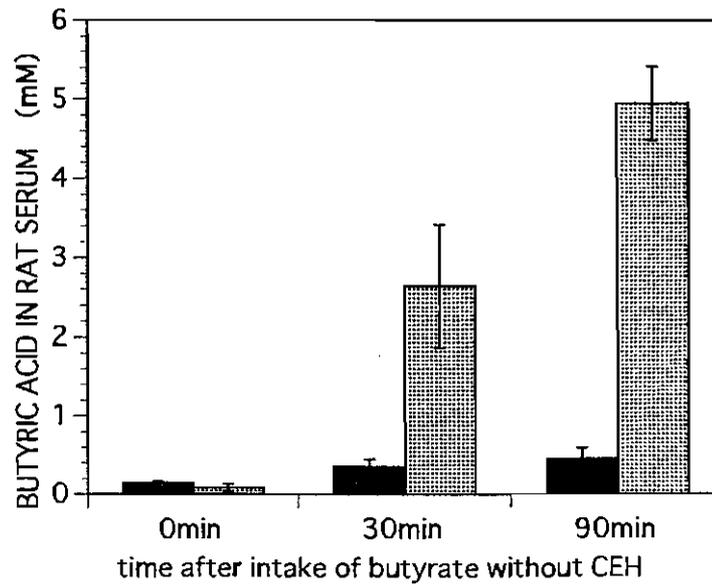


図3 Butyric acid concentration in serum after intake of butyrate to rats fed on diets with or without milk.
■ : Rats (n=6) fed on MM-1 food without milk, ▨ : rats (n=6) fed on milk-diet.

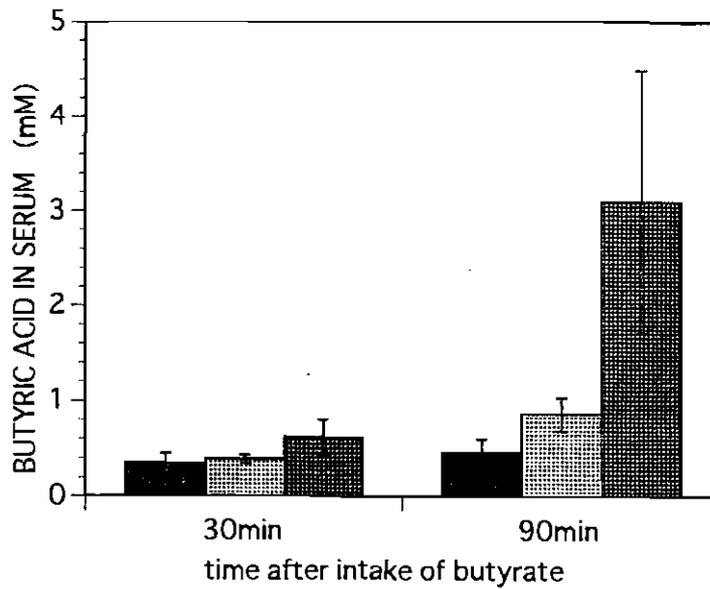


Figure 4 Butyric acid concentration in serum after intake of butyrate with casein enzymatic hydrolysate (CEH) to rats of 3 groups ($n=6 \times 3$) fed on MM-1 food without milk.
 ■ : Rat without CEH, ▨ : rat with 1.5% CEH, and ▩ : rat with 3% CEH.

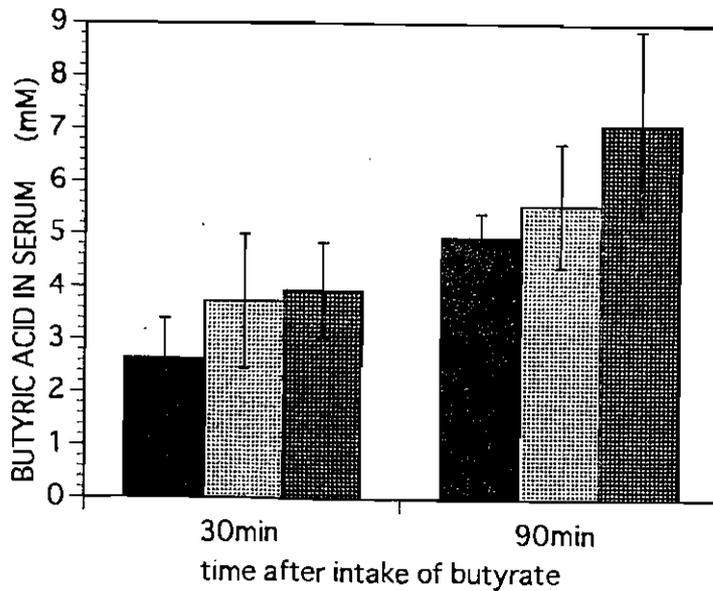


Figure 5 Butyric acid concentration in serum after intake of butyrate with 3% casein enzymatic hydrolysate to rats of 3 groups ($n=6 \times 3$) fed on diet with milk.
 ■, ▨ and ▩ are the same symbols described in figure 4.