

運動による筋肉疲労の回復に及ぼす牛乳摂取の影響

—疲労困憊走運動ラットの脚筋の回復に対する牛乳摂取の効果—

順天堂大学・体育学部栄養生化学教授

山 口 正 弘

研究目的

いろいろの国際競技大会などで見られるように、日本人の体力が外国人より劣っている面が多い。このことは遺伝的なものもあるが、食生活の違いによる因子も大いに考えられる。この一つに牛乳摂取量がある。牛乳を十分摂取することにより、スポーツ競技に対して体力を向上させることが出来るかどうかを検討するのが本研究の目的である。

運動トレーニングには常に筋肉疲労が伴う。トレーニング効果を高めるには速やかに、しかも十分な筋肉疲労の回復が必要である。

平成元年—3年までの「発育過程の運動トレーニング・ラットの体力に及ぼす牛乳および砂糖の影響」に於ける結果は：1) 十分牛乳を摂取した発育過程の運動トレーニング・ラットは自発的運動量を減少した。2) この運動トレーニング・ラットの脚筋にグリコーゲンが著しく蓄積していた。

筋グリコーゲン量が持久的運動能力の制限因子の一つであることはよく知られている。疲労困憊まで走運動すると脚筋グリコーゲンは枯渇し、走運動が不可能となる。この筋肉の機能を回復または、機能を高めるには速やかな筋グリコーゲンの再補充および過補償現象を引き起こさせることが重要である。

既に得られた結果(2)を用いて、牛乳による筋グリコーゲンの過補償現象のメカニズムを明らかにし、筋肉疲労のより速やかな回復と、筋肉機能の向上を検討する。

実験方法

3週齢のラット(Sprague Dawley系)(約50g)30匹を船橋農場製の飼料MM1で飼育した。週2回、夏目製作所製トレッドミルKN-76で傾斜7.5度に固定し、8m/minから15m/minの走行スピードで、3分から5分程度の学習運動をさせた。

約350gに成長した段階で、1群が6匹ずつ平均体重がほぼ一定になるように5群に分けた。

1群をコントロール群(C群)とし、残る4群は走運動およびdietsのプログラムに従って分けた。

走運動は上述のとトレッドミルを用い、10m/minのスピードより始め、10分毎に2m/minずつ増加した。ラットが完全に走ることを拒絶した時点を以て、all-outと判定した。

4群のうち1群(A群)はall-out直後に屠殺し、目的の筋試料を採取した。残る3群については、all-out後一週間、それぞれ船橋農場特製の異なる飼料を与え飼育した。与えた飼料の違いによって、ミルク群(M群)、脱脂ミルク群(D群)、及び砂糖群(S群)とした。

各飼料は、含有エネルギー量、及び各栄養素の相対構成量が一定に調整されたものである。即ちタンパク質、脂質、糖質に関して、それぞれの「質」、を変えたものである。それぞれ、M群はカゼイン・乳脂、S群は魚粉・大豆油・砂糖、D群はカゼイン・大豆油・乳糖を含むものである。

M群、D群、S群のラットは、それぞれ飼育一週間後屠殺し筋組織を採取した。

被験筋のグリコーゲンは、0.1g程度の組織片においても信頼性の高い、Loらの方法(Lo, S et al., J. Appl. Physiol. vol. 28, '70)で測定した。

glycogen phosphorylase活性はFisher & Krebsの方法(Methods Enzymol. vol 5, '62)、Biochemistry vol 12, '73)に従ってひらめ筋と腓腹筋の粗抽出液を調整し、その抽出液のglycogen phosphorylase活性を測定した。

筋肉の呼吸能力の測定はKameyama & Etlinger (Nature vol 279, '79)に従って次のようにおこなった。単離された一对のひらめ筋(S筋)および長指伸筋(EDL筋)を固定板にそれぞれ弛緩状態と静止長に固定した緊張状態(筋を伸ばして張力を生ずる状態: 筋肉が運動している状態に相当)に固定し、Krebs-Ringer phosphate bufferの中での酸素消費をYSI MODEL 5300 Biological oxygen monitor (Fig. 1) (Yellow Springs Instrument Co. Inc製)で測定した。

Table 1.
Comparison of Fatty Acids Between Cow Milk and Soyabean Oils

fatty acid	cow milk oil	soyabean oil
saturated		
butyric	3.2	0
caproic	0.6	0
octanic	1.0	0
capric	2.9	0
undecanoic	0.4	0
lauric	4.8	0
tridecanoic	0.2	0
myristic	11.8	0
pentadecanoic	1.7	0
palmitic	27.4	10.7
hepatic	0.8	0
stearic	10.8	3.8
aracidic	1.0	0.6
unsaturated		
myristoleic	1.8	0
palmitoleic	2.6	0.1
oleic	22.9	23.0
linoleic	3.6	52.4
linolenic	1.1	8.9
arachidonic	0	0.6

% of total fatty acids in cow milk and soyabean oils.

From "Geigy Scientific Tables" vol.1 p215, 264, (1981)
Ed. by C.Lentner, published by CIBA-GEIGY

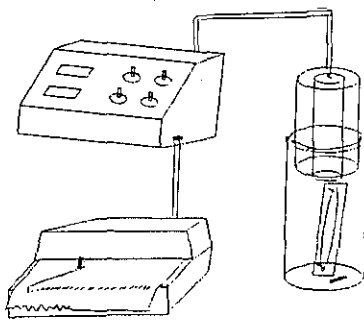


Fig. 1. YSI Model 5300 Biological Oxygen Monitor

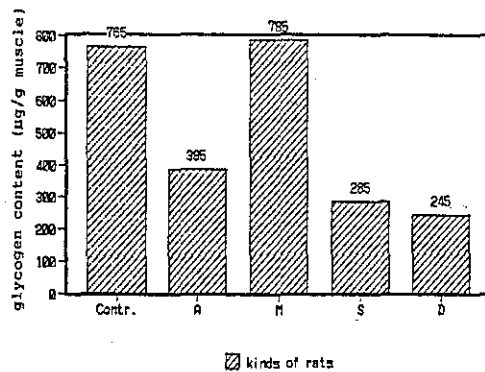


Fig. 2. Glycogen content in gastrocnemius of rats. C; Control rats, A; Exhaustive running (all-out) rats M, S and D; Rats were bred with milk, sugar and skimmed-milk diets, respectively, for 1 week after exhaustive running.

結果と考察

Fig. 2 に示されているように、腓腹筋のグリコーゲンは、C 群は $816 \pm 195 \mu\text{g} / \text{g}$ muscle、all-out した A 群は $409.86 \pm 196.5 \mu\text{g} / \text{g}$ muscle であった。ひらめ筋のグリコーゲンは、C 群で $1126.0 \pm 313.1 \mu\text{g} / \text{g}$ muscle、A 群で $456.9 \pm 194.1 \mu\text{g} / \text{g}$ muscle であった (Fig. 3)。両筋肉とも all-out によって筋グリコーゲンが有意に著しく減少した ($p < 0.05$)。

腓腹筋においては、all-out 後一週間、異なる飼料を与えた飼料群では、M 群のみが C 群と同じレベルに回復していた ($p < 0.05$) (Fig. 2)。S 群、D 群は all-out 直後より有意に減少していた ($p < 0.05$)。ひらめ筋では all-out により筋グリコーゲン量が著しく減少したが、一週間後 M 群、D 群、S 群とも all-out 前のレベルに回復し

た (Fig. 3)。

all-outにより消耗した筋グリコーゲンの回復は飼料の質の違いにより、また筋肉の種類によりその程度が異なった。ひらめ筋の回復は腓腹筋よりも非常に速いと考えられる。

上述のような、筋グリコーゲンの回復の違いはどのような原因によるのかを調べる目的で筋のグリコーゲン・ホスホリラーゼの活性を調べた (Fig. 4., 5)。グリコーゲン・ホスホリラーゼはホスホリラーゼ a (活性型) とホスホリラーゼ b (不活性型) の2つの状態を示す解糖系を調節する酵素である。b型はアロステリック酵素でATPやG-1-Pにより著しく活性が抑えられる。b型がホスホリラーゼキナーゼでリン酸化されるとアロステリック機能を失って無制限にグリコーゲンを分解する。Fig. 4に示されるように、腓腹筋のコントロール群 (C群) では約10%がa型であったが、all-out群 (A群) は約90%がa型になり、筋グリコーゲンは著しく減少した (Fig. 4参照)。飼料を異にした1週間後の飼育の結果は、M飼料 (牛乳飼料) のみがa型が40%以下に減少したが、S飼料とD飼料ではそれぞれ85%、80%とほとんど変化しなかった。

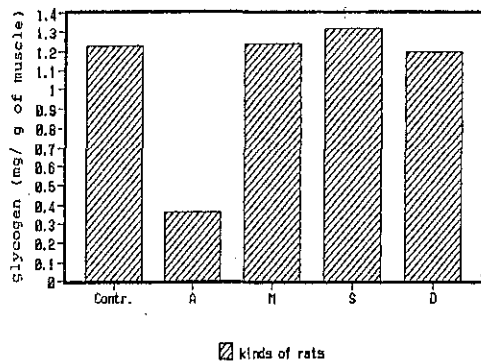


Fig. 3. Glycogen content in soleus of rats. Symbols of C, A, M, S and D are the same as in Fig. 2.

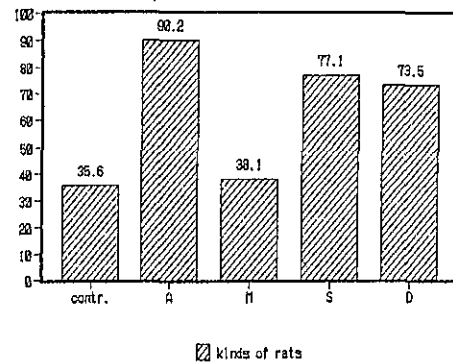


Fig. 4. Relative amount of phosphorylase a activity in gastrocnemius of rats. Symbols of C, A, M, S and D are the same as in Fig. 2.

ひらめ筋ではホスホリラーゼもグリコーゲン含量もすべてのdiet群 (M, S, D) が完全に回復していた (Fig. 2~5)。両筋肉の違いは、各々の筋の持つ性質に因るものと思われる。回復過程がゆっくりである腓腹筋では、all-outからの回復がdietの

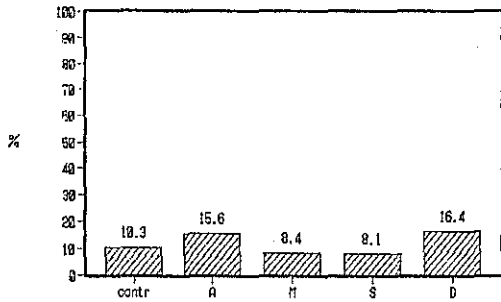


Fig. 5. Relative amount of phosphorylase a activity in soleus of rats.

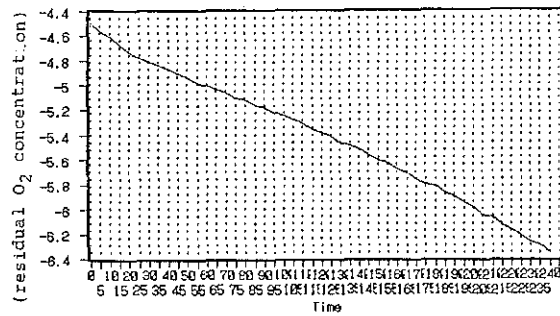


Fig. 6. Tension-Dependent Respiration of Stretched Soleus in Krebs Ringer phosphate buffer at 25°C.

栄養素やエネルギー量でなく、栄養素の「質」の違いに因ることが、明らかになった。

これらグリコーゲン含量のホスホリラーゼの変化は飼料の乳脂と大豆油の質的差異も重要な因子と考えられる。Table 1に見られるように、乳脂には大豆油には全く含まれていないbutyrate、caproate、octanate、caprate、undecanate、myristateなどの炭素数が4から14の低級飽和脂肪酸が含まれている。これらの脂肪酸のうち炭素数が8以下のものは腸から吸収されtriglycerideとならずにそのまま全身に行きわたるという可能性が示されているので、そこで我々はこれらの脂肪酸が筋肉の代謝に直接影響を与えるかどうかを検討するために筋肉の呼吸に牛乳に含まれる低級飽和脂肪酸がどのように影響するかを検討し次に示す結果をえた。

回復過程の速い遅筋（ひらめ筋）に注目して調べた。Fig. 6はstretched soleusのグルコースとインシュリンを含むKrebs-Ringer phosphate buffer中の呼吸の状態

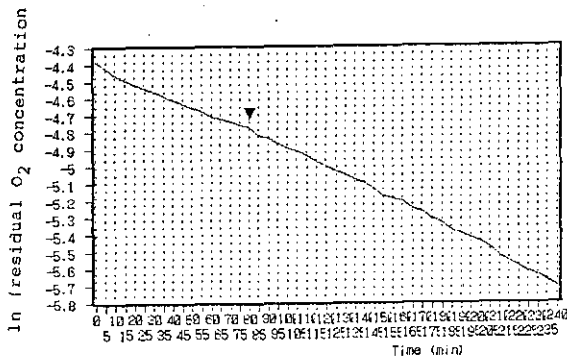


Fig. 7. Effect of Lactate on the Tension-Dependent Respiration of Stretched Soleus.

Stretched muscle is suspended in Krebs Ringer phosphate buffer at 25°C. Lactate is added at an arrow mark to make 30 mM in final concentration.

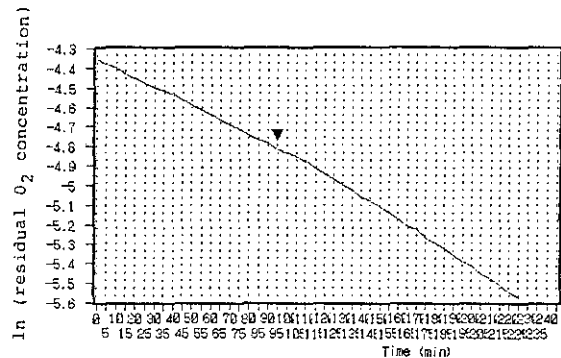


Fig. 8. Effect of Butyrate on the Tension-Dependent Respiration of Stretched Soleus.

Stretched muscle is suspended in Krebs Ringer phosphate buffer at 25°C. Butyrate is added at an arrow mark to make 30 mM in final concentration.

を示した。残存酸素量90%から約10%まで片対数目盛りで直線的に酸素が消費されることがわかった。

Fig. 8にstretch状態のひらめ筋の呼吸に対するbutyrateの影響を示した。butyrateを加えることにより約30%の酸素消費の促進がみられた。caproateでも同じ様な影響が観測されたが (Fig. 8)、octanateやcaprateやpalmitateでは呼吸の促進効果は無く、炭素数が多い脂肪酸になるに従って、やや阻害の傾向がみられた (Fig. 9, 10, 11)。炭素数によって呼吸の促進効果が異なるので (Fig. 14)、炭素数3のlactateを試してみた。Fig. 7.に見られるように約70%の高進が見られた。牛乳に特徴的なbutyrateやcaproateにみられた代謝の促進効果はstretchのひらめ筋でその影響が顕著であった。EDLではその影響は極めて小さかった。又、mediumのグルコースを除いたり、deoxyglucoseに置き換えると呼吸の促進効果が著しく減少した (Fig. 14)。

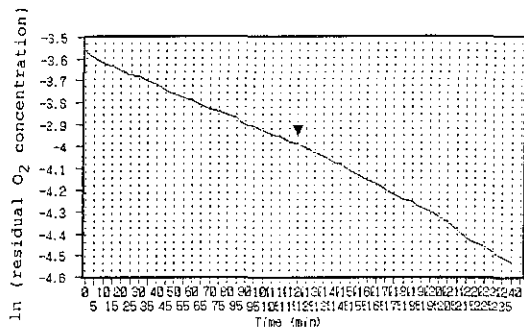


Fig. 9. Effect of Caproate on the Tension-Dependent Respiration of Stretched Soleus. Stretched muscle is suspended in Krebs Ringer phosphate buffer at 25°C. Caproate is added at an arrow mark to make 30 mM in final concentration.

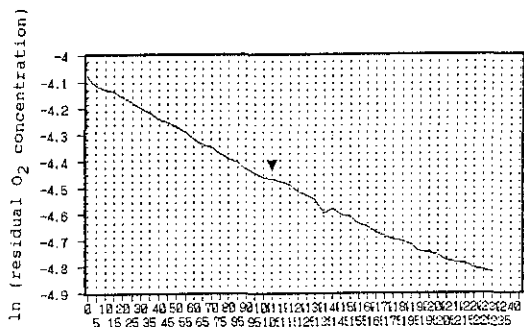


Fig. 11. Effect of Caprate on the Tension-Dependent Respiration of Stretched Soleus. Stretched muscle is suspended in Krebs Ringer phosphate buffer at 25°C. Caprate is added at arrow mark to make 30 mM in final concentration.

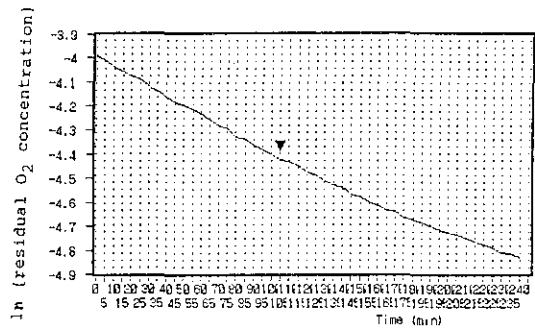


Fig. 10. Effect of Octanate on the Tension-Dependent Respiration of Stretched Soleus. Stretched muscle is suspended in Krebs Ringer phosphate buffer at 25°C. Octanate is added at an arrow mark to make 30 mM in final concentration.

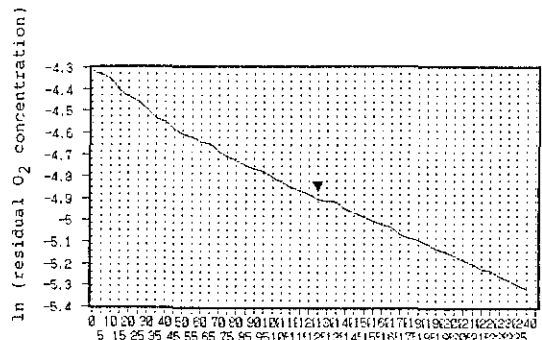


Fig. 12. Effect of Palmitate on the Tension-Dependent Respiration of Stretched Soleus. Stretched soleus is suspended in Krebs Ringer phosphate buffer at 25°C. Palmitate is added at an arrow mark to make 10 mM in final concentration.

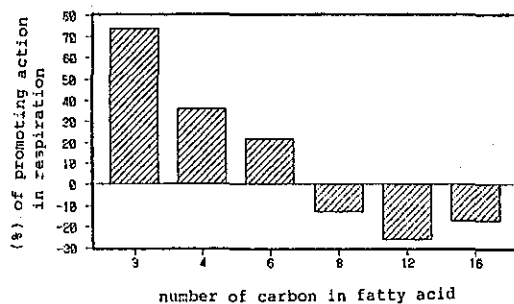


Fig. 13. Comparison of the Promoting Action of Tension-Dependent Respiration in Stretched Soleus with Addition of Low Molecular Saturated Fatty Acids in Milk.

Reaction was carried out at 25°C in the reaction medium containing Krebs Ringer phosphate buffer with stretched soleus, fatty acids and insulin in a total volume of 12 ml.

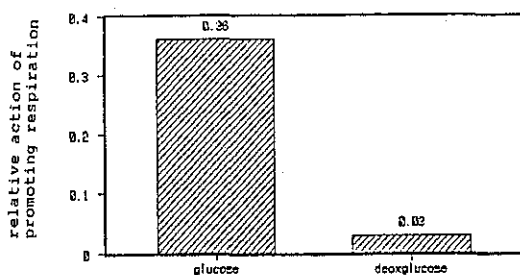


Fig. 14. Comparison of the Promoting Action of Tension-Dependent Respiration in Stretched Soleus by Addition of Butyrate in the Presence of Glucose or Deoxyglucose.

Reaction was carried out at 25°C in the reaction medium containing Krebs Ringer phosphate buffer, with stretched soleus, butyrate either glucose or deoxyglucose.

牛乳を多量に摂取した場合これらの脂肪酸がどの程度血中に存在するのが今後の問題であるが、これらの結果は次のような事を強く示唆する。

- 1) ミルク飼料 (M 飼料) が特に運動している筋肉に対し、脱脂ミルク飼料 (D 飼料) や砂糖飼料 (S 飼料) と異なった影響を与えることを支持するものと考えられる。
- 2) 牛乳に存在する短鎖脂肪酸である butyrate や caproate による代謝高進の効果はグルコースが筋肉に取り込まれ、解糖系で代謝される過程が必要と思われる。