

トレーニングによる筋肉づくりに有利な タンパク質に関する運動栄養学的研究

名古屋工業大学 下村 吉治

(共同研究者) 同

村上 太郎

Dietary Protein Beneficial to the Protein Synthesis in Exercise-Trained Muscles

by

Yoshiharu Shimomura, Taro Murakami
Nagoya Institute of Technology

ABSTRACT

Branched-chain amino acids are main constituents of muscle proteins as well as serve as energy sources during exercise. Branched-chain amino acid metabolism is regulated by branched-chain α -keto acid dehydrogenase (BCKDH). The present study demonstrated that liver BCKDH activity was markedly lower in female rats than in male rats, suggesting that regulation of branched-chain amino acid metabolism is different between male and female. The activity of BCKDH kinase which is responsible for phosphorylation and inactivation of BCKDH was significantly higher in female than in male, suggesting that the gender difference of liver BCKDH activity is at least in part attributed to the kinase expression in the liver. Liver BCKDH activity in female rats fed a low protein diet was significantly increased by acute exercise, suggesting that branched-chain amino acid catabolism is promoted by the exercise despite under the condition of dietary protein insufficiency and that the amino acids may be useful energy sources during exercise. Dietary proteins contain varying amount of branched-chain amino acids ; e.g., milk protein contains

21.4% of the amino acid and soybean protein 18.4%. Serum branched-chain amino acid concentrations were higher in trained rats fed a 30% milk casein diet than in the animals fed a 30% soybean protein diet, even though both dietary groups of rats were not insufficient to dietary protein. These findings suggest that dietary protein rich in branched-chain amino acids may be beneficial to protein synthesis in the exercise-trained muscle.

要 旨

分岐鎖アミノ酸は、筋タンパクに豊富に含まれると同時に、運動時のエネルギー源としても利用されることが明らかにされつつある。本研究では、分岐鎖アミノ酸代謝の調節機構に関する基礎的な研究と食餌タンパク質が体内の分岐鎖アミノ酸代謝に及ぼす影響を検討した。分岐鎖アミノ酸代謝は、分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素 (BCKDH) により律速されるが、ラット肝臓の BCKDH 活性は、雄よりも雌で著しく低いので、分岐鎖アミノ酸代謝は雌雄間で大きく異なることが明らかとなった。

BCKDHを不活性化するBCKDHキナーゼの活性は雄よりも雌で有意に高いので、分岐鎖アミノ酸代謝の雌雄差はBCKDHキナーゼの発現量の違いにより一部説明できると考えられる。低タンパク食を摂取したラット肝臓のBCKDH活性は著しく低下するが、運動負荷によりその活性は有意に上昇する。この結果は、タンパク不足の条件でも運動は分岐鎖アミノ酸分解を促進することを意味しており、運動時の分岐鎖アミノ酸利用率が高いことを示唆している。食餌タンパク質中の分岐鎖アミノ酸含量は異なるので、タンパク質の種類は分岐鎖アミノ酸代謝に影響する可能性がある。

トレーニングラットに30%カゼインタンパク食もしくは30%大豆タンパク食を与えて飼育すると、後者に比べて前者を摂取した雄ラットの血清中分岐鎖アミノ酸濃度は高値を示す傾向が認められた。カゼインは大豆タンパクよりも分岐鎖アミノ酸含

量が高い。したがって、分岐鎖アミノ酸を多く含むタンパク質はトレーニングによる筋タンパクの合成に有利に作用する可能性が示唆された。

緒 言

分岐鎖アミノ酸は、栄養学的な必須アミノ酸であり、食餌中タンパク質に含まれる必須アミノ酸の約50%、筋タンパク質の約35%を占める。このように、分岐鎖アミノ酸はタンパク質に含まれる量が多いこともあり、動物の運動中にエネルギー源及び糖新生の基質として利用されると考えられている。さらに、運動前に分岐鎖アミノ酸を摂取すると、運動中の筋タンパク質分解を抑制することが人において報告¹⁾されており、運動中の筋肉の消耗の軽減や運動後の筋肉回復にも分岐鎖アミノ酸は有効に作用する可能性が考えられる。

ラット肝臓中の分岐鎖アミノ酸代謝の律速酵素である分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素 (branched-chain α -keto acid dehydrogenase: BCKDH) の活性は、体内の分岐鎖アミノ酸が過剰になると活性が高まり、不足すると活性が低下することが明らかにされている。上述のように分岐鎖アミノ酸は、筋タンパク中に豊富に存在するので、タンパク合成には多く必要である。これらの所見より、筋タンパクの合成には肝臓のこの酵素活性が高いと有利であることが示唆できる。BCKDHの活性調節は、酵素タンパクのリン酸化と脱リン酸化により行われることが明らかにされている。酵素タンパクのリン酸化は酵素を不活性化し、反対に脱

表1 Composition of experimental diets

Ingredient	Diet		
	8 %-Protein	30%-Protein	50%-Protein
Casein, milk	8	(%) 30	50
Soybean oil	5.0	5.0	5.0
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3
Mineral mix, AIN 76	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix, AIN 76	1.0	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
Inositol	0.01	0.01	0.01
Cornstarch	62	40	20
Cellulose	5.0	5.0	5.0
Sucrose		to make 100%	

リン酸化は活性化する。BCKDHをリン酸化し、その活性調節をする酵素がBCKDHキナーゼであり、BCKDHの主要な活性調節因子であると考えられている。

本研究では、食餌中タンパク質（カゼイン）の量を変動させ、それがラット肝臓中のBCKDHの活性状態に及ぼす影響を検討し、分岐鎖アミノ酸代謝調節に関する基礎的情報を得ると同時に、タンパク質の必要量と運動の関係を明らかにすることを目的とした。さらに、血清の分岐鎖アミノ酸濃度に及ぼす動物性タンパク質（ミルクカゼイン）と植物性タンパク質（大豆タンパク質）の影響をトレーニングラットにおいて比較し、それぞれのタンパク質の有用性を明らかにすることを目的とした。

1. 研究方法

1. 1 実験1：食餌タンパク量の変化に対するラット肝BCKDH活性の雌雄差の検討

ラットの成長は雌雄で著しく異なるので、分岐鎖アミノ酸代謝にも雌雄差の存在することが推察される。これまでに報告されたラット肝臓のBCKDHに関する研究では、すべて雄ラットが使用されており、雌ラットに関する情報がない。そ

こで本研究では、まずラット肝臓のBCKDHとBCKDHキナーゼ活性に雌雄差が存在するか否かを、種々の食餌タンパク（ミルクカゼイン）量を用いて検討した。

1. 1. 1 ラットの飼育条件

実験には、7週齢のSprague-Dawley系の雌と雄ラット（日本クレア、東京）を用いた。一般市販飼料であるCE-2（日本クレア、東京）を与え、1週間の予備飼育を行った後、雌雄のラットをそれぞれ30%タンパク食群（雌、7匹；雄、6匹）と50%タンパク食群（雌、7匹；雄、9匹）に分け、3週間飼育した。使用した飼料の組成を表1に示す。

実験開始時のラットの体重は、それぞれ雌が160g前後、雄が200g前後であった。飼育室の環境温度を $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ に設定し、明暗サイクルは5:00–17:00を明期、17:00–5:00を暗期とし、飼育ケージ内で個別飼育した。実験期間中の飼料および水は自由摂取とした。

1. 1. 2 臓器の摘出

実験最終日の9:00にすべてのラットの餌を除去し、7時間後に屠殺を開始し、2時間以内に終了した。頸部脱臼法により屠殺し、即座に肝臓を摘出した。肝臓は速やかに液体窒素で冷却したアルミクランプにより凍結し、分析まで -80°C で保

存した。BCKDHの活性型の割合が変化するのを避けるため、屠殺より肝臓の凍結までの所要時間は50秒以内とした。

1. 1. 3 肝BCKDHの抽出と活性測定

BCKDHの活性型の割合 (activity state) は、生体内で活性型として存在する酵素の活性 (actual activity) と不活性型を含む総酵素活性 (total activity) を求め、総酵素活性に対する活性型酵素の割合として算出した。

肝臓からのBCKDHの抽出は、Shimomuraらの方法²⁾に準じて行った。酵素抽出溶液中のBCKDH活性は、Paxtonらの方法³⁾に従い分光光度計を用いて測定した。酵素活性は、1分間に1 μ molのNADHを生成する活性量を1ユニットとした。総酵素活性は、あらかじめ、すべてのBCKDHを活性型にした後測定した。すなわち、ラットの肝臓より部分的に精製した広範囲に特異的なホスホプロテインホスファターゼとMgSO₄ (最終濃度: 15mM) を添加し、37°Cで30分間のインキュベーションによりBCKDHの脱リン酸化を行った。

1. 1. 4 肝BCKDHキナーゼの活性測定

肝BCKDHキナーゼの活性は、ATP依存性のBCKDHの不活性化率を分析するHarrisらの方法⁴⁾を一部変更し測定した。前述の要領で、BCKDHとキナーゼの複合体を抽出し、活性測定のためのサンプルとした。ただし、抽出用緩衝液から、キナーゼを阻害するdichloroacetic acidおよびthiamin pyrophosphateを、懸濁用緩衝液からはthiamin pyrophosphateを除いた。

1. 1. 5 統計処理

データを平均値±標準誤差 (SE) で表し、一元または二元配置の分散分析によって有意差検定し、F値が有意な項目について、Scheffeの方法を用いて多重分析した。

1. 2 実験2: 雌ラットの肝BCKDH活性に及ぼす運動および絶食の影響の検討

本実験では、一時的に肝BCKDHの活性に影響を及ぼすと考えられる一過性の運動を雌ラットに負荷することにより、分岐鎖アミノ酸代謝の調節メカニズムについて検討を行った。これまでに、8%タンパク食を摂取した雄ラットに48時間の絶食を負荷したところ、肝BCKDHの活性型の割合が上昇することが報告されている⁵⁾。すなわち、8%という低タンパク食を摂取し、正常なラットに比べ、安静時の利用可能な分岐鎖アミノ酸が少ない場合においても、絶食時のようにエネルギー源が摂取できないと、内在性のタンパクを分解し、体内に多く蓄えている分岐鎖アミノ酸を糖新生に利用すると考えられる。したがって、一時的に大量のエネルギーを要する状態におかれた場合には、雄ラットに限らず雌ラットの肝臓においてもBCKDHが活性化され、エネルギー源としての寄与が大きい分岐鎖アミノ酸の分解を促進する可能性が考えられる。このことを食餌中タンパク量の違いによる影響についても確認するために、コントロール食 (30%カゼイン食) と、低タンパク食として8%カゼイン食 (表1) を用いた。

また、運動や絶食による生体内での分岐鎖アミノ酸代謝は、分岐鎖アミノ酸の分解物で、BCKDHの基質でもある分岐鎖 α -ケト酸の濃度により影響を受けることが明らかにされているので、組織中の分岐鎖 α -ケト酸の定量が重要と考えられる。しかし、肝臓中の分岐鎖 α -ケト酸量はごく微量であり、測定することが困難であることと、分岐鎖 α -ケト酸は筋肉などの組織から血液を介して肝臓へ運ばれることより、本研究では血中の分岐鎖 α -ケト酸濃度を測定することによって、肝BCKDH活性との関連性を検討した。

1. 2. 1 ラットの飼育および運動条件

7週齢のSprague-Dawley系の雌ラット (48匹) をCE-2による1週間の予備飼育の後、8%タンパク食群、もしくは30%タンパク食群の2群に分け、それぞれの食餌を3週間自由摂取で与えた。実験

開始時のラットの体重は、170～200 gであった。実験最終日に、運動群にほぼ疲労困憊に至る走行運動を負荷するため、走行運動に慣れさせる目的で、すべてのラットに昇り勾配6°の小動物用トレッドミル(KN-73, 夏目製作所)を用いて、3週間のトレーニング(5日/週)を負荷した。トレーニング開始10日目までは走行速度を毎分15mから35mまで次第に高め、その後実験終了までの期間は毎分35mで30分間の運動強度に保ち、トレーニングを行った。

1. 2. 2 臓器の摘出および採血

実験終了の1日前に、各食餌群のラットをさらに運動群(9匹)と安静群(9匹)に分けた。運動群には、最終日の14:00より毎分30mでほぼ疲労困憊に至るまでの85分間の運動を負荷し、終了後ただちに屠殺した。屠殺および肝臓の採取と処理は、実験1で述べた方法により行った。血液を心臓から採取し、遠心分離(1600xg, 10分)により血清を得た後、分析まで-40℃で保存した。

1. 2. 3 肝BCKDHの抽出と活性測定

実験1に述べた方法で行った。

1. 2. 4 血中の分岐鎖 α -ケト酸の測定

ラットの血清中の分岐鎖 α -ケト酸量は、高速液体クロマトグラフィーを用いるKoikeらの方法⁸⁾を一部改良し測定した。

1. 3 実験3: ラット血清分岐鎖アミノ酸濃度に及ぼす動物性タンパク質と植物性タンパク質の影響

タンパク質のアミノ酸組成は、タンパク質の種類によりかなり異なるので、タンパク質のアミノ酸代謝に及ぼす影響は、摂取タンパク質の違いにより異なる可能性が考えられる。特に、運動トレーニングによりタンパク質の必要量が増加した場合には、その影響の違いは大きいと予想される。本実験では、運動トレーニングしたラットの血清中分岐鎖アミノ酸濃度に及ぼす動物性タンパク質(ミルクカゼイン)と植物性タンパク質(大豆タ

ンパク)の影響の違いを比較検討した。

1. 3. 1 ラットの飼育および運動条件

7週齢のSprague-Dawley系の雄ラット(29匹)をCE-2による1週間の予備飼育の後、トレーニング群と安静群に分け、さらにそれぞれの群を30%カゼイン食群と30%大豆タンパク食群に分け、それぞれの食餌を3週間自由摂取で与えた。30%カゼイン食は表1の組成であり、30%大豆タンパク食は30%カゼイン食のタンパク質を大豆タンパクに置き換えた食餌を用いた。実験開始時のラットの体重は、230～265 gであった。トレーニング群のラットには、実験2と同様のトレーニング計画で実験期間の3週間運動を負荷した。ただし、屠殺前の約48時間は運動を負荷しなかった。実験最終日に頸部脱臼法によりラットを屠殺し、ただちに下大静脈より血液を採取し、遠心分離により血清を得て、分析まで-80℃で保存した。

1. 3. 2 血清分岐鎖アミノ酸濃度の測定

血清の分岐鎖アミノ酸濃度を高速液体クロマトグラフィーを用いた方法により測定した。

2. 結 果

2. 1 実験1

2. 1. 1 ラットの摂食量、体重増加量、肝臓重量(表2)

実験期間中の摂食量は、50%タンパク食群の方が30%タンパク食群より少ない傾向を示し、雌では有意な差も認められたが、体重増加量には雌雄ともにタンパク量の違いによる差は認められなかった。摂食量では、有意な差は認められなかったものの雌よりも雄の方が高い傾向にあった。体重増加量には雌雄間で有意な差が認められ、雄の体重増加量が雌の2倍以上であった。肝臓重量にも食餌による変動はなかったが、雄の方が明らかに高かった。しかし、雌雄ラットの体重当たりの肝臓重量の割合は、それぞれ30%タンパク食群で雄=3.7±0.1%, 雌=3.4±0.1%, 50%タンパク食群

表2 Food intake, body weight gain and liver weight

	30%Protein		50%Protein	
	Male	Female	Male	Female
n	6	7	9	7
Food intake (g/week)	196±7	170±14	166±6	127±9 [#]
Body weight gain (g/3 weeks)	176±7	58±3 [*]	148±6	64±4 [*]
Liver (g)	13.6±0.5	7.5±0.1 [*]	14.5±0.6	7.0±0.2 [*]

Values are means±SE for 6-9 rats

*Significantly different from male rats in the same diet group ($p<0.05$)

#Significantly different from female rats fed 30% protein diet ($p<0.05$)

表3 Activities of BCKDH and its kinase in male and female rat livers

	30% Protein diet		50% Protein diet	
	Male	Female	Male	Female
BCKDH				
Total activity (mU/g wet weight)	1354±62	934±34 [*]	1540±68	1285±68
Activity state (%)	44.6±7.6	7.6±0.8 [*]	86.8±5.6 [#]	8.6±2.2 [*]
BCKDH kinase (min ⁻¹)	0.80±0.13	1.51±0.19 [*]	0.38±0.03	1.04±0.09 [*]

BCKDH, branched-chain α -keto acid dehydrogenase

*Significantly different from male rats in the same diet group ($p<0.05$)

#Significantly different from 30% protein diet group ($p<0.05$)

で雄=3.6±0.1%, 雌=3.1±0.1%であり, 差はみられなかった。

一方, 摂食量は雄の方が多い傾向を示したが, 体重100g当たりの摂取エネルギー量 (kcal/100 g B.W.) は, 30%タンパク食群で雄=29.4±1.7, 雌=42.4±3.6, 50%タンパク食群で雄=22.8±0.7, 雌=31.1±2.5であり, 実際の摂取エネルギー量はむしろ雌の方が多かったことから, 雌と雄のエネルギー代謝効率に明らかに違いのあることが認められた。

2. 1. 2 ラットの肝BCKDHの総酵素活性および活性型の割合とBCKDHキナーゼ活性 (表3)

肝BCKDHの総酵素活性は, 30%タンパク食群で雌よりも雄の方が有意に高く, また, 50%タンパク食群でも有意ではないが, 雄の方が高い傾向が認められた。さらに, タンパク量の違いによる比較では, 雌雄ともに50%タンパク食群でやや高くなる傾向にあった。

これに対して活性型の割合には顕著な雌雄差がみられ, 両食餌群とも雌の方が雄より有意に低い値を示した。食餌の違いによる変動については, 雄では30%タンパク食群より50%タンパク食群で明らかな上昇が認められたのに対し, 雌では有意な上昇は認められなかった。

BCKDH キナーゼ活性は, 30%ならびに50%タンパク食群ともに雄より雌で有意に高く, 明らかな性差が認められた。また, 雌雄ともに有意ではないものの, 食餌タンパク量が増加するとキナーゼ活性は低下する傾向を示した。

2. 2 実験2

2. 2. 1 ラットの摂食量, 体重増加量, 肝臓重量 (表4)

安静群と運動群の摂食量および体重増加量には, 食餌タンパク量による差は認められなかった。絶食群が他の群と比べ摂食量, 体重増加量ともに若干低めであったが, 最終的な体重の絶対値の平均は235g 前後で群間に差がみられなかった。肝臓

表4 Food intake, body weight gain and liver weight

Group	n	Food intake (g/week)	Body weight gain (g/3 weeks)	Liver (g)
30% Protein diet				
Rested	9	161±12	56±6	7.8±0.1
Exercised	9	172±8	51±4	7.2±0.2
8% Protein diet				
Rested	9	158±9	47±3	8.1±0.2
Exercised	9	168±10	50±3	7.7±0.3

Values are means±SE for 9 rats

*Significantly different from rested and exercised rats ($p<0.05$)

表5 Liver BCKDH activities in sedentary and exercised rats

Group	BCKDH	
	Total activity (mU/g wet wt.)	Activity state (%)
30% Protein diet		
Rested	1184±75	9.0±1.4
Exercised	1334±104	93.9±3.1*
8% Protein diet		
Rested	450±35*	5.2±0.7
Exercised	437±34*	40.0±10.0#

Values are means±SE for 9 rats

*Significantly different from rats fed 30% protein diet ($p<0.05$)

#Significantly different from rested rats ($p<0.05$)

重量においても食餌による違いはなかったが、運動群および絶食群で、安静群より減少する傾向にあり、8%タンパク食群の絶食群では有意に減少した。

2. 2. 2 ラットの肝BCKDHの総酵素活性および活性型の割合 (表5)

肝BCKDHの総酵素活性は、安静群と運動群のいずれも30%タンパク食群に比べて8%タンパク食群で顕著に低下した。しかし、安静群と運動群の間に有意な差は認められなかった。

BCKDHの活性型の割合は、安静時では30%および8%タンパク食の両群では10%以下という低値を示したが、一過性の運動によりいずれの食餌群においても著しく上昇した。

2. 2. 3 血中の分岐鎖 α -ケト酸の濃度

(図1)

分岐鎖 α -ケト酸はBCKDHの基質であると同時にBCKDHキナーゼの阻害剤でもあることが明らかにされている。そこで、血中の分岐鎖 α -ケト酸の濃度を測定した。各ケト酸とも、いずれのタンパク食においても一過性の運動により上昇傾向を示した。特に、8%タンパク食群では運動群において有意な増加が認められた。30%と8%タンパク食群の間に有意な差は認められなかった。

2. 3 実験3

2. 3. 1 ラットの摂食量、体重、腓腹筋と肝臓の重量 (表6)

安静およびトレーニングラットの摂食量、体重、腓腹筋と肝臓の重量のいずれにおいても、カゼイン食群と大豆タンパク食群の間で差は認められな

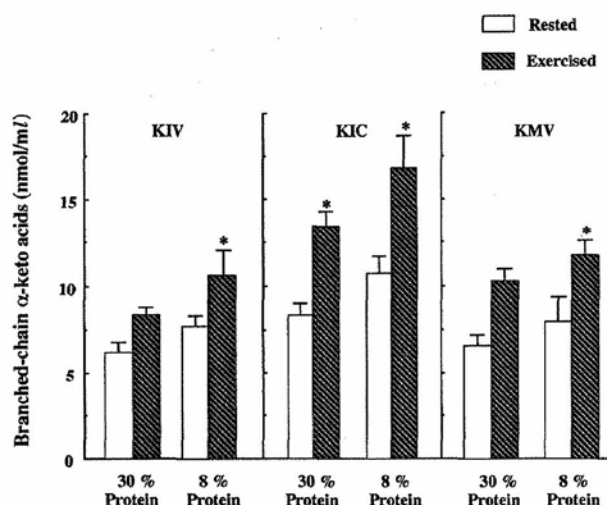


図1 Concentrations of branched-chain α -keto acids in serum of rested and exercised rats fed 30% or 8% protein diet. KIV, α -ketoisovalerate; KIC, α -ketoisocaproate; KMV, α -keto- β -methylvalerate. Values are means $\pm$ SE for 9 rats. *Significantly different from rested rats in the same diet group ($p < 0.05$)

かった。

2. 3. 2 血清アミノ酸濃度 (表7)

安静ラットの各アミノ酸濃度には、カゼイン食群と大豆タンパク食群の間で差は認められなかった。一方、トレーニングラットのアミノ酸濃度では、ロイシン、イソロイシンとバリンのいずれの分岐鎖アミノ酸ともカゼイン食群よりも、大豆タンパク食群で低値を示す傾向にあり、特にイソロイシンとバリンでは有意差が認められた。トレ

ニングラットの3つの分岐鎖アミノ酸の合計でも、カゼイン食群で有意な高値を示した。

3. 考 察

雄ラットの肝BCKDH活性は、食餌中のタンパク量が適量 (25%) であれば、ほぼ100%活性型として存在すると報告されている⁵⁻⁷⁾。Harrisら⁵⁾は、食餌中タンパク量に対応して変化する酵素の活性曲線を示し、雄ラットの肝BCKDH活性の変動は食餌中タンパク量に依存し、30%以上のタンパク量ではほぼ完全に活性化されている。

これらの報告と比較すると、本研究の雄の30%タンパク食群の活性は、45%と低めであった。しかし、これまでに報告された一般実験飼料を用いた雄ラットの肝BCKDH活性には、かなりの幅が認められることや、本研究の50%タンパク食群では約90%が活性型であったことから、酵素の活性型の割合は、食餌中タンパク量だけではなく他の要素、すなわち食餌中のタンパク質以外の成分組成などによっても影響されることが示唆されるが、このことについてはさらに検討が必要である。

一方、活性型BCKDHの活性は雄ラットに比べ雌ラットで著しく低かった。さらに、雄ラットにおいてはタンパク量が30%から50%になると明らかな活性の上昇がみられたのに対し、雌ラットでは活性型の割合がほとんど変化しなかった。これ

表6 Food intake and weights of body, gastrocnemius muscle and liver of trained and sedentary rats fed soybean protein diet or casein diet

Group	n	Food intake (g/week)	Body weight	Gastrocnemius muscle (g)	Liver
Sedentary rats					
Soybean protein diet		198 $\pm$ 4	351 $\pm$ 7	1.97 $\pm$ 0.05	11.3 $\pm$ 0.2
Casein diet	8	198 $\pm$ 6	370 $\pm$ 10	2.00 $\pm$ 0.09	12.7 $\pm$ 0.7
Trained rats					
Soybean protein diet	7	203 $\pm$ 7	347 $\pm$ 10	1.95 $\pm$ 0.07	11.1 $\pm$ 0.3
Casein diet	6	210 $\pm$ 4	353 $\pm$ 3	1.94 $\pm$ 0.03	12.1 $\pm$ 0.4

Values are means $\pm$ SE

表7 Branched-chain amino acid concentrations in serum of trained and sedentary rats fed soybean protein diet or casein diet

Group	Leucine	Isoleucine	Valine (nmol/mL)	Total BCAA
Sedentary rats				
Soybean protein diet	148±5	80±3	188±5	416±12
Casein diet	145±4	81±2	200±5	426±11
Trained rats				
Soybean protein diet	134±5	73±3	167±6	374±13
Casein diet	152±4	86±2*	202±5*	440±12*

Values are means±SE. BCAA, branched-chain amino acids

*Significantly different from soybean protein diet group ($p<0.05$)

らの所見より、雌ラットにおいてはタンパク量に依存する本酵素の活性曲線が成り立たない可能性が示唆された。これらのことから、分岐鎖アミノ酸代謝の調節メカニズムは雌雄で異なることが明らかとなった。

BCKDHをリン酸化し不活性化するBCKDHキナーゼの活性は、雌雄ともに食餌中のタンパク量に依存して変化し、その活性は、雄よりも雌の方が30%および50%タンパク食の両群で有意に高かった結果より、BCKDH活性の雌雄差は少なくとも一部はキナーゼ活性により説明できることが示唆された。

ラットを一時的に極端な生理状態下におき、安静時には起こり得ない分岐鎖アミノ酸代謝の変化を生じさせることによりBCKDH活性を検討することは、食餌の違いによる比較とは異なった角度から分岐鎖アミノ酸代謝の調節メカニズムを解明することができると考えられる。これまでにも、このような視点から絶食や運動などの負荷による影響が検討されているが、正常状態の雄ラットの肝BCKDHはほぼ100%が活性型であることから、肝臓を用いた報告はほとんどない。本実験より、雌ラットの肝BCKDHの活性型の割合は、正常状態においても非常に低いことが示された。したがって、絶食や運動による酵素の活性化を容易に認識することが可能である点で、雌ラットは優れたモ

デルであると考えられる。

雌ラットの肝BCKDH活性は、30%もしくは8%タンパク食のいずれの食餌条件においても、運動負荷により著しく上昇した(実験2)。この結果は、運動により分岐鎖アミノ酸の分解が促進され、その必要量はかなり増加することを示唆している。この所見は、Wolfeらによる運動によりタンパク質分解が促進され、血中尿素レベルが上昇する以前から体内のロイシン酸化が促進されるという報告⁹⁾によっても支持される。すなわち、食餌からのタンパク質の摂取が不十分な状態でも、運動時では分岐鎖アミノ酸の酸化がかなり亢進し、その必要量がさらに増加することを意味するので、運動トレーニング時には十分な分岐鎖アミノ酸を摂取することが重要であると結論できる。

本研究により、雄ラットに30%タンパク食を摂取させると、肝BCKDHの約50%が活性型で存在することが判明した。したがって、その食餌タンパク量では分岐鎖アミノ酸はほぼ必要十分量供給された状態であり、大きな過不足のある状態ではないことが示唆される。この所見より、30%の動物性タンパク質であるカゼインと、植物性タンパク質である大豆タンパクを含む食餌を安静およびトレーニング雄ラットに3週間摂取させて、血清分岐鎖アミノ酸濃度に対する食餌タンパクの影響を比較検討したところ、安静ラットに対する食餌

タンパクの影響は認められなかったが、トレーニングラットでは、大豆タンパク食群に比べてカゼイン食群の血清分岐鎖アミノ酸濃度が高値を示す傾向が認められた。

この結果は、大豆タンパクよりも分岐鎖アミノ酸を多く含むカゼインの方が、トレーニングラットの体内の分岐鎖アミノ酸量を高く保つために有利に作用することを示唆している。すなわち、トレーニングにより分岐鎖アミノ酸代謝の促進された状態では、分岐鎖アミノ酸を多く含むタンパク質を摂取することが筋肉づくりに有利に働くことを示唆している。

4. ま と め

本研究では、分岐鎖アミノ酸代謝における雌雄差の検討と運動の影響の検討、さらにトレーニングラットの血清中分岐鎖アミノ酸濃度に対する種々の食餌タンパクの影響の比較検討を行い、以下の所見が得られた。

1. ラット肝臓のBCKDH活性は、雄よりも雌においてかなりの低値を示すことより、分岐鎖アミノ酸代謝は雌雄間でかなり異なることが明らかになった。

2. ラット肝臓のBCKDHキナーゼ活性は、雄よりも雌において高値を示したことより、分岐鎖アミノ酸代謝の雌雄差はBCKDHキナーゼの発現の違いにより一部説明できると考えられる。

3. 食餌中のタンパク量にかかわらず、運動はラット肝臓のBCKDH活性を上昇した。すなわち、低タンパク食摂取による分岐鎖アミノ酸の不足状態でも、運動は分岐鎖アミノ酸代謝を促進することが明らかとなった。

4. トレーニングによる分岐鎖アミノ酸代謝が亢進した状態では、分岐鎖アミノ酸の豊富なタンパク質摂取が筋肉づくりに有利に作用する可能性が示唆された。

文 献

- 1) MacLean, D.A., T.E. Graham, B. Saltin, ; Branched-chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise, *Am. J. Physiol.*, **267**, E1010-E1022 (1994)
- 2) Shimomura, Y., T. Suzuki, S. Saitoh, Y. Tasaki, R.A. Harris, M. Suzuki. ; Activation of branched-chain α -keto acid dehydrogenase complex by exercise: effect of high-fat diet intake, *J. Appl. Physiol.*, **68**, 161-165 (1990)
- 3) Paxton, R., P.W.D. Scislawski, E.J. Davis, R.A. Harris ; Role of branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase pyruvate dehydrogenase in 2-oxobutyrate metabolism, *Biochem. J.*, **234**, 295-303 (1986)
- 4) Harris, R.A., R. Paxton, S.M. Powell, G.W. Goodwin, M.J. Kuntz, A.C. Han ; Regulation of branched-chain α -keto acid dehydrogenase complex by covalent modification, *Advan. Enzyme Regul.*, **25**, 219-237 (1986)
- 5) Harris, R.A., S.M. Powell, R. Paxton, S.E. Gillim, H. Nagae ; Physiological covalent regulation of rat liver branched-chain α -keto acid dehydrogenase, *Arch. Biochem. Biophys.*, **243**, 542-555 (1985)
- 6) Block, K.P., R.P. Aftring, M.G. Buse ; Regulation of rat liver branched-chain α -keto acid dehydrogenase activity by meal frequency and dietary protein, *J. Nutr.*, **120**, 793-799 (1990)
- 7) Gillim, S.E., R. Paxton, G.A. Cook, R.A. Harris, Activity state of the branched chain α -keto acid dehydrogenase complex in heart, liver, and kidney of normal, fasted, diabetic, and protein-starved rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **111**, 74-81 (1983)
- 8) Koike, K., M. Koike. Fluorescent analysis of α -keto acids in serum and urine by high-performance liquid chromatography, *Anal. Biochem.*, **141**, 481-487 (1984)
- 9) Wolfe, R.R., R.D. Goodenough, M.H. Wolfe, G.T. Royle, E.R. Nadel. Isotopic analysis of leucine and urea metabolism in exercising humans, *J. Appl. Physiol.*, **52**, 458-466 (1982)