

# 脂質による消化管ホルモン分泌作用を活用した 新たな筋グリコーゲン回復法の開発

東 京 大 学 寺 田 新

## Effects of Co-administration of Carbohydrate and Fat on Insulin Secretion and Muscle Glycogen Resynthesis after Exercise in Mice

by

Shin Terada

*Graduate School of Arts and Sciences,  
The University of Tokyo*

### ABSTRACT

For the purpose of developing a novel method to promote muscle glycogen recovery, we examined the effects of co-administration of carbohydrate and fat on insulin secretion and muscle glycogen resynthesis after exercise in C57BL/6J mice. In Experiment 1, non-exercised mice were orally administered solution containing either glucose alone (2 mg/g BW) (CHO group) or glucose plus rapeseed oil (2 mg/g BW) (CHO-FAT group). Blood sample were collected from tail vein and plasma glucose, insulin and glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) levels were determined. Compared with the CHO group, the CHO-FAT group had significantly higher plasma insulin and lower glucose levels after the administration ( $p < 0.05$ ). Furthermore, Plasma GIP concentration was significantly higher in the CHO-FAT than CHO group ( $p < 0.001$ ) and was significantly associated with plasma insulin concentration ( $p < 0.001$ ). In Experiment 2, mice performed an acute bout of 30-min swimming exercise and were then orally administered as in the Experiment 1. At 1 h after the administration, muscle glycogen content in hindlimb muscle was significantly higher in the CHO-FAT than CHO group. These results suggest that co-ingestion of

carbohydrate and fat stimulates insulin secretion via gut-derived GIP and promotes muscle glycogen resynthesis after exercise in mice.

## 要 旨

本研究では、新たな運動後の筋グリコーゲン回復法の開発を目的として、糖質と脂質の同時摂取がC57BL/6J マウスにおけるインスリン分泌および筋グリコーゲン濃度に及ぼす影響について検討した。実験1では、安静状態のマウスに対し、糖質 (2 mg/g BW, CHO 群) もしくは糖・脂質混合物 (それぞれ2mg/g BW, CHO-FAT 群) を経口投与し、血漿インスリン、グルコースおよび消化管ホルモン Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) の濃度変化を検討した。その結果、CHO 群に比べて、CHO-FAT 群では血漿インスリン濃度が有意に高い値を示し ( $p<0.05$ )、一方、血漿グルコース濃度は有意に低い値を示した ( $p<0.05$ )。また、インスリン分泌促進効果をもつ GIP の濃度は、CHO 群に比べて CHO-FAT 群において有意に高い値を示し ( $p<0.001$ )、さらに、血漿 GIP 濃度とインスリン濃度との間には高い正の相関関係が認められた。 ( $p<0.001$ )。実験2では、30 分間の一過性の水泳運動を行ったマウスに対し、実験1と同様に糖質もしくは糖・脂質混合物を投与し、筋グリコーゲン回復への影響を検討した。投与1時間後における後肢骨格筋のグリコーゲン濃度は、CHO 群に比べて CHO-FAT 群において有意に高い値を示した ( $p<0.05$ )。以上の結果から、糖質と脂質の同時摂取は、消化管ホルモン GIP を介してインスリン分泌を促進し、運動後の筋グリコーゲン回復を高める可能性が示唆された。

## 緒 言

近年、市民ランナーが急増し、空前のマラソンブームとなっている。競技選手のみならず、市民

ランナーにとっても、練習後の疲れを翌日まで持ち越さないようにしたり、パフォーマンスを向上させたりするためには、練習およびレース後に疲労を速やかに取り除くことが重要となる。長時間運動による疲労の原因の一つに筋グリコーゲンの枯渇が挙げられ、筋グリコーゲンをいかに早く元の状態に戻すかが疲労回復において重要となる。

運動後の筋グリコーゲン回復に関しては、これまでに数多くの研究が行われており、運動終了後、できるだけ早い時間帯に体重1 kgあたり1～1.5 g の糖質を摂取することが推奨されている<sup>1,2)</sup>。さらに、糖質だけではなくタンパク質も同時に摂取することで、糖質のみを摂取した場合に比べてインスリン分泌が増加し、運動後の筋グリコーゲン回復が早まることも報告されている<sup>3)</sup>。グリコーゲンの直接的な材料ではないタンパク質を摂取することによるこのような筋グリコーゲンの回復促進効果には、glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) や glucagon-like peptide-1 (GLP-1) と呼ばれる消化管ホルモンが関与していると考えられている。GIP や GLP-1 は、消化管に栄養素が取り込まれた際に、それぞれ小腸の K 細胞および L 細胞から分泌されるホルモンであり、高血糖時において膵臓からのインスリン分泌を増強する作用を持つ<sup>4)</sup>。また、GIP や GLP-1 は、脂質を摂取した際に最も多く分泌されることが報告されている<sup>5)</sup>。したがって、糖質に脂質を組み合わせた場合にインスリン分泌を最も増強することができ、筋グリコーゲン回復をさらに促進できる可能性が考えられる。しかしながら、脂質の摂取は糖代謝に好ましくない影響を及ぼすという先入観があり、糖質に加え脂質を同時に摂取した際のグリコーゲン回復動態は未だ検討されていない。そこで、本研究では、糖質と脂質の同時摂

取が運動後の筋グリコーゲン回復に及ぼす影響について検討し、新たなグリコーゲン回復法の開発に向けた基礎データを得ることを目的とした。

## 1. 方 法

### 1. 1 実験動物

実験には7週齢の雄性 C57BL/6J マウス（日本クレア社）を用いた。マウスは室温 23℃、午前7時～午後7時を暗期に設定した飼育室において、1ケージに5匹ずつ飼育した。新たな飼育環境に慣れさせるために、実験までに1週間の予備飼育期間を設けた。予備飼育期間には、飼料として市販の固形飼料（CE-2、日本クレア社）と飲料として水道水を自由摂取させた。なお、本研究は、東京大学大学院総合文化研究科・教養学部実験動物委員会の承認を得て行われた。

### 1. 2 実験 1

実験1では、まず安静状態において糖質と脂質を同時に摂取することで、インスリン分泌が促進されるか検討した。一晩（16時間）の絶食後、マウスを CHO 群と CHO-FAT 群の2群に無作為に分けた。CHO 群には、50mg/ml 濃度のグルコース溶液を体重 1g あたり 40μL ずつ（グルコースを体重 1g あたり 2mg）経口投与した。一方、CHO-FAT 群には、グルコースおよび脂質（キャノーラ油、日清オイリオグループ社）がともに 50mg/ml 濃度となるように調整した投与液を、CHO 群と同様に体重 1g あたり 40μL ずつ（グルコース、脂質ともに体重 1g あたり 2mg）経口投与した。なお、CHO-FAT 群の投与液は、大豆レシチン（和光純薬社）を 2mg/ml の割合で添加し、1分間の超音波処理（TAITEC 社製超音波発生装置）を1分間の氷上冷却を間に挟みながら5回繰り返すことで十分に乳化したものを用意した。CHO 群の投与液にも同量の大豆レシチンを添加し、良く混和したものを準備した。

投与直前および投与 10, 30, 60 分目に尾静脈から採血を行った。採血は、ヘパリン処理したキャピラリーチューブを用いて行った。遠心分離して得た血漿サンプルは、分析まで -80℃の超低温フリーザーで保存した。

### 1. 3 実験 2

実験2では、糖質と脂質の同時摂取により運動後の筋グリコーゲン回復が促進されるか検討した。水泳運動に慣れさせるために、予備飼育期間中にすべてのマウスに対して、1日10分間の温水水泳運動を2回行わせた。本実験では、一晩（16時間）の絶食後に、すべてのマウスに対して30分間の水泳運動を行わせた。水温 35±1℃に調節した温水をプラスチック製タンクに水深 30cm になるまで注ぎ、マウスを泳がせた。水泳は5匹同時に行い、1匹あたりの水面の面積は、120cm<sup>2</sup>であった。

水泳運動終了直後に、マウスに対して実験1と同様の糖質溶液（CHO 群）もしくは糖・脂質混合溶液（CHO-FAT 群）を経口投与した。投与1時間後に麻酔下にて解剖を行い、後肢骨格筋群（腓腹筋、ヒラメ筋、足底筋の複合体）を摘出し、速やかに液体窒素にて凍結した。骨格筋サンプルは分析まで -80℃の超低温フリーザーで保存した。

### 1. 4 分 析

血漿グルコース濃度の測定には、グルコース C II テストワコー（和光純薬社）を用いた。血漿中の総 GIP 濃度およびインスリン濃度は、ELISA 法にて分析した（GIP : Rat/Mouse GIP (total) ELISA, Merck Millipore 社 ; Insulin : Mouse Insulin ELISA, Mercodia 社）。血漿グルコース、インスリンおよび GIP の濃度変化をグラフにし、曲線下面積 (Area under the curve : AUC) を求めた。

骨格筋のグリコーゲン濃度は、Lowry and Passonneau の方法<sup>6)</sup>に基づいて分析した。

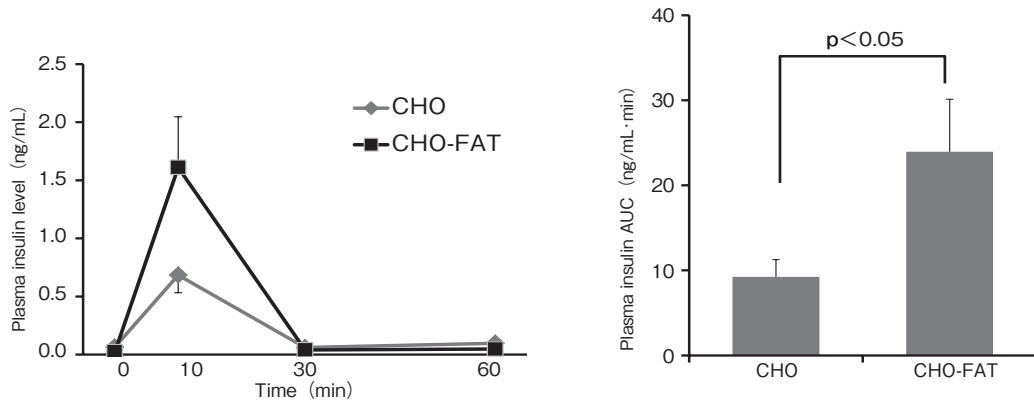


図1 糖質溶液 (CHO) もしくは糖・脂質混合溶液 (CHO-FAT) の投与がマウスの血漿インスリン濃度に及ぼす影響

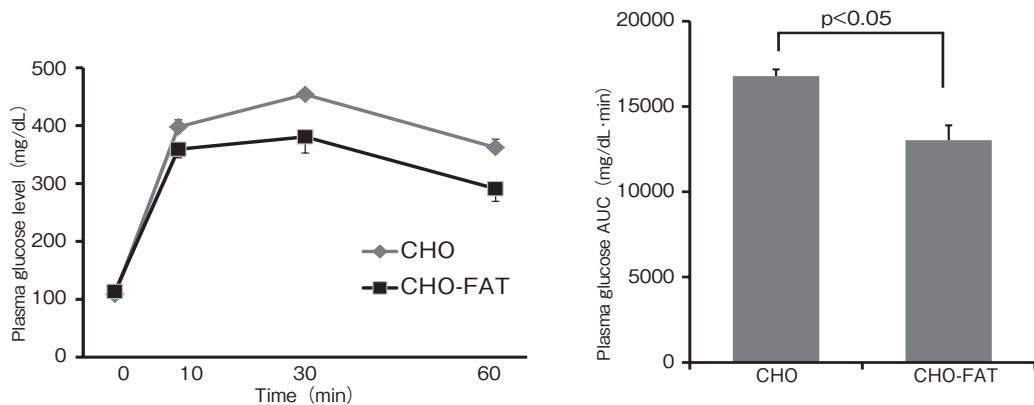


図2 糖質溶液 (CHO) もしくは糖・脂質混合溶液 (CHO-FAT) の投与がマウスの血漿グルコース濃度に及ぼす影響

## 1. 5 統計処理

データは全て平均値 ± 標準誤差で表した。2 群間の平均値の比較には、Student の t-test を用いた。危険率 5% 未満をもって有意とした。

## 2. 結果

### 2. 1 実験 1

糖質溶液もしくは糖・脂質混合溶液投与後の血漿インスリンおよびグルコース濃度の変化をそれぞれ図 1 と図 2 に示した。CHO-FAT 群では、溶液投与 10 分後の血漿インスリン濃度が高値を示し、投与後 0 - 30 分目までの AUC 値は、CHO 群に比べて CHO-FAT 群で有意に高い値を示した ( $p < 0.05$ , 図 1)。また、血漿グルコース濃度は、投与 10 分目以降において CHO-FAT 群で CHO

群に比べて低い値を示し、投与後 0 - 60 分目までの AUC も CHO-FAT 群で有意に小さいものであった ( $p < 0.05$ , 図 2)。同じ血漿サンプルを用いて測定した血漿 GIP 濃度の結果を図 3 に示した。投与 10 分目以降において、CHO 群に比べて CHO-FAT 群で高値を示し、投与後 0 - 60 分目までの AUC 値も有意に高い値であった ( $p < 0.001$ )。

溶液投与 10 分目における血漿 GIP 濃度とインスリン濃度との関係を図 4 に示した。血漿 GIP 濃度とインスリン濃度との間には高い正の相関関係が認められた ( $r = 0.677$ ,  $p < 0.001$ )。

### 2. 2 実験 2

CHO-FAT 群のマウスでは、運動終了 1 時間後 (溶液投与 1 時間後) における後肢骨格筋のグリ

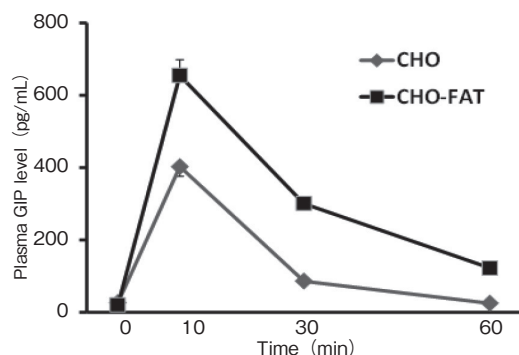


図3 糖質溶液 (CHO) もしくは糖・脂質混合溶液 (CHO-FAT) の投与がマウスの血漿GIP濃度に及ぼす影響

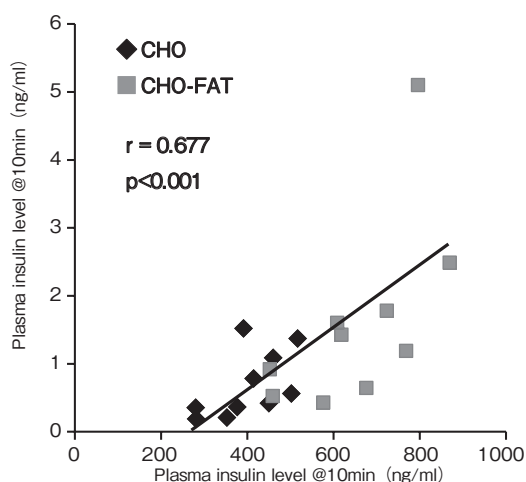
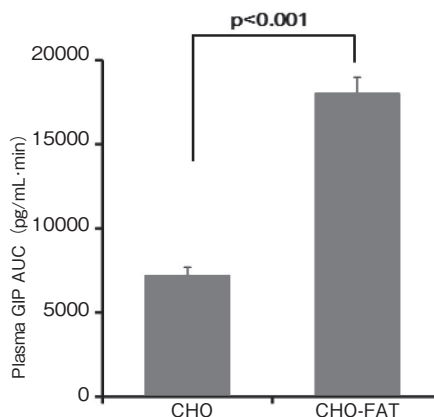


図4 投与10分後における血漿GIP濃度とインスリン濃度の関係

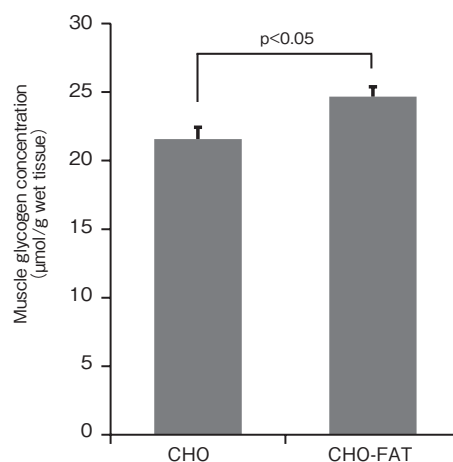


図5 運動終了1時間後におけるマウス骨格筋のグリコーゲン濃度に及ぼす糖質溶液 (CHO) もしくは糖・脂質混合溶液 (CHO-FAT) 投与の影響

コーゲン濃度が、CHO 群のマウスに比べて有意に高い値を示した (図 5,  $p < 0.05$ ).

### 3. 考 察

本研究の主な知見は、糖質を単独で摂取した場合に比べて、糖質に加えて脂質を同時に摂取することで、1) 消化管ホルモン GIP さらにはインスリンの分泌が促進される、血糖値が低下しやすくなること、および 2) 運動後の筋グリコーゲン回復が促進される、という 2 点である。

インスリンは、骨格筋において糖輸送体 GLUT-4 の細胞膜への移行を増やすことで血糖取

り込みを促進し、さらにグリコーゲン合成酵素を活性化させる作用をもつ<sup>7)</sup>。したがって、運動後の筋グリコーゲンの回復を促進するためには、インスリン分泌を高めることが重要となる。本研究の実験 1 において、CHO-FAT 群では、投与 10 分目の時点において血漿インスリン濃度の顕著な増加が認められ、投与 0-30 分目までの AUC 値が CHO 群に比べて有意に高い値を示していた (図 1)。さらに CHO 群に比べて CHO-FAT 群において血糖値が有意に低い値を示し、AUC も同様に CHO-FAT 群で有意に小さいものであった (図 2)。

これらの結果から、糖・脂質混合物を摂取することでインスリン分泌が高まり、骨格筋をはじめとする末梢のインスリン標的組織において血糖が取り込まれ、利用されていたと考えられる。

膵臓からのインスリン分泌は、血糖値の影響だけではなく、GIP や GLP-1 などの消化管ホルモンの影響を強く受けることが知られている<sup>4)</sup>。GIP は小腸の K 細胞から分泌される消化管ホルモンであり、それ単独ではインスリン分泌に大きな影響は及ぼさないものの、摂食後の早い時間帯の血糖上昇時にインスリン分泌を増強する効果を持つ<sup>4)</sup>。本研究において、CHO-FAT 群では GIP 濃度の顕著な上昇が認められ、AUC も CHO 群に比べて有意に大きいものであった (図 3)。さらに投与 10 分後における血漿インスリン濃度と GIP 濃度の間には、高い正の相関関係が認められた (図 4)。したがって、CHO-FAT 群において認められたインスリン分泌の促進には、消化管ホルモン GIP の分泌亢進が大きく寄与していたと考えられる。

実験 1 において、血漿 GIP 濃度が投与後 30 分目においても高値を示していたのにも関わらず、血漿インスリン濃度はすでに投与前の値にまで回復していた。GIP は小腸から血中に放出された直後に Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP IV) と呼ばれる酵素によって N 末端の一部が切断され、不活性型となる<sup>4)</sup>。活性型の GIP の血中半減期は 5 分程度と大変短いことが知られている。本研究では、活性型と不活性型を区別せずに血漿中に存在する GIP の総量を測定した。したがって、投与 30 分目においても CHO-FAT 群の GIP 濃度は高値を示していたものの、その大部分は DPP IV によってすでに切断され不活性型となったものであり、インスリン分泌促進作用を失っていたと考えられる。今後の研究においては、総 GIP 濃度に加えて活性化型 GIP 濃度も合わせて測定する必要があると考えられる。

実験 1 の結果を踏まえ、実験 2 では、このようなインスリン分泌促進効果をもつ糖・脂質混合溶液を一過性の運動後に投与することで筋グリコーゲン回復が促進されるか検討した。その結果、水泳運動終了直後に糖・脂質混合溶液を投与した CHO-FAT 群では、投与 1 時間後の筋グリコーゲン濃度が、CHO 群に比べて有意に高い値を示した (図 5)。以上の結果から、糖質に加えグリコーゲンの直接的な材料ではない脂質を同時に摂取することで、運動後の筋グリコーゲン回復をさらに高めることができる可能性が示唆された。

本研究において CHO-FAT 群の脂質摂取量は、体重 1g あたり 2mg と多いものであった。アスリートが運動直後においてこれだけ多くの脂質 (体重 60kg の選手の場合、120g に相当) を一度に摂取することは難しいと思われる。したがって、今後の研究においては、この脂質の摂取量をどこまで減らしても、インスリン分泌促進効果が得られるか検討する必要があるだろう。

本研究では、投与用の脂質として一般的に広く利用されているキャノーラ油 (菜種油) を用いた。脂質は脂肪酸組成やその脂肪酸がグリセロール分子中にある 3 つの結合部位のどこに結合するかによって、消化吸收動態や生理機能が大きく異なってくることを知られている<sup>8)</sup>。現在、脂肪酸組成およびその構造を様々に変えた脂質を用いて検討を行っており、今後の研究においてインスリン分泌さらには筋グリコーゲン回復効果を最も高める糖質と脂質の組み合わせを明らかにする予定である。

#### 4. 結 論

糖質と脂質の同時摂取は、消化管ホルモン GIP およびインスリンの分泌を高め、運動後の筋グリコーゲン回復を促進する可能性が示唆された。



## 謝 辞

本研究に対して多大な助成を賜りました公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に深く感謝いたします。また、本研究の遂行にあたり多大なご協力を賜りました東京大学大学院総合文化研究科の野中雄大氏、稲井真氏、西村脩平氏ならびに東京大学教養学部の浦島章吾氏に深く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Ivy J.L., Katz A.L., Cutler C.L., Sherman W.M., Coyle E.F., Muscle glycogen synthesis after exercise: effect of time of carbohydrate ingestion., *J. Appl. Physiol.*, **64**: 1480-1485 (1988)
- 2) Ivy J.L., Lee M.C., Brozinick J.T. Jr., Reed M.J., Muscle glycogen storage after different amounts of carbohydrate ingestion., *J. Appl. Physiol.*, **65**: 2018-2023 (1988)
- 3) Zawadzki K.M., Yaspelkis B.B. 3rd, Ivy J.L., Carbohydrate-protein complex increases the rate of muscle glycogen storage after exercise., *J. Appl. Physiol.*, **72**: 1854-1859 (1992)
- 4) Kim W., Egan J.M., The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment., *Pharmacol. Rev.*, **60**: 470-512 (2008)
- 5) Flatt P.R., Bailey C.J., Kwasowski P., Page T., Marks V., Plasma immunoreactive gastric inhibitory polypeptide in obese hyperglycaemic (ob/ob) mice., *J. Endocrinol.*, **101**: 249-256 (1984)
- 6) Lowry O.H., Passonneau J.V., A Flexible System of Enzymatic Analysis. (Academic, New York) (1972)
- 7) Fisher J.S., Nolte L.A., Kawanaka K., Han D.H., Jones T.E., Holloszy J.O., Glucose transport rate and glycogen synthase activity both limit skeletal muscle glycogen accumulation., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **282**: E1214-E1221 (2002)
- 8) 寺田 新, 脂肪酸の種類や油脂の構造による消化・吸収および代謝の違い, 化学と教育, **61**: 282-285 (2013)