

運動持久力の積極的向上を目的とした 複合栄養素強化飲料の効果の研究

京都府立医科大学 若林保良

(共同研究者) 同 山田悦子

Effect of Long-Term Administration of Fortified Nutrient Mixture on the Extent of Endurance Improvement by Exercise Training

by

Yasuo Wakabayashi and Etsuko Yamada
Kyoto Prefectural University of Medicine

ABSTRACT

We were interested in knowing whether long-term administration of arginine and leucine to rats with endurance exercise might increase more mitochondrial enzymes of oxidative metabolism compared to the rats with endurance exercise only (no administration). Rats were trained by treadmill for 5 weeks with (TD group) or without (T group) oral administration of a mixture of arginine, leucine and carnitine. Rats without treatments were used as a control. Various biochemical parameters were measured and compared in the mitochondria isolated from homogenates of hind muscles of the rats by differential centrifugation. Mitochondrial proteins per muscle wet weight increased significantly in T and TD group compared to C group. The activities of the marker enzymes of mitochondria including cytochrome c oxidase did not change. The content of cytochromes of mitochondria were somewhat elevated in T and TD. The mitochondrial respiration with various oxidative substrates increased in T and TD. However, all of the measured values indicated that there were no difference between T and TD. We expect that further study using different experimental protocols or with other chemical compounds may lead to a discovery of such promotive effect on mitochondrial protein accumulation.

要 旨

持続運動に対する筋持久力をより効率的に、苦痛をできるだけ少なく獲得する方法を開発する一モデルとして次の実験を行った。骨格筋のタンパク代謝を同化方向に向けると考えられる化合物としてアルギニンおよびロイシンを、脂質代謝を促進すると考えられるカルニチンとともにラットに投与し、トレッドミルによる走行訓練を5週間行い、投与訓練群 (TD)、非投与訓練群 (T) および対照群 (C) の後肢全骨格筋のホモジネートを材料として、遠心分画操作により分離したミトコンドリア分画の諸性質を比較した。

骨格筋湿重量当りのミトコンドリアタンパク量は T と TD いずれも C より有意に増加していたが、T、TD 間に差はなかった。チトクローム酸化酵素などの4種のミトコンドリア標識酵素の比活性には、明らかな差はなかった。電子伝達系チトクローム含量は T、TD で増加傾向を認めたが、T、TD 間に差はない。種々の呼吸基質を用いた酸素消費の最大能力の比較では T、TD で増加傾向が認められたが、T、TD 間に差は認められない。よって走行訓練によりミトコンドリアの好気代謝系が著明に促進されることは認められたが、その度合がアルギニンなどの投与によりさらに増加することは認められなかった。今後種々化合物の影響や実験条件などがさらに検討されるべき分野と思われる。

緒 言

現在わが国では中高年者の労作持久力の向上とその有効利用とをできるだけ早期に実現することが社会的急務となっている。従って持久力向上の手段としても、青少年を中心とした激しい訓練法の開発だけでなく、むしろ、中高年者に適した軽い運動ではあってもその負荷効率を高めることで、ハードトレーニング類似の効果が得られない

かを検討すべきである。

筋持久力の素因としては、筋線維中のミトコンドリアに富んだ赤筋の存在量、ミトコンドリアの電子伝達系各種チトクローム類や TCA 回路、脂肪酸酸化系路の酵素活性およびエネルギー源である糖や脂肪酸の組織への取込み能などが考えられ、各素因はトレーニングにより向上することが知られている。

今もし一定量の運動負荷により得られる素因向上の割合を、薬剤投与や食餌計画などにより充進させることができれば、その分負荷運動量が軽減できるので、とくに中高年者はより安全かつ快適に目的とする一定の持久力の獲得が可能となる。

そこで今回われわれは以上の作用を発現すると考えられる日常摂取可能な安全な化合物の中でアルギニン、ロイシン、カルニチンをラットに投与しつつトレッドミルで走行訓練を行い、ミトコンドリアの好気代謝能向上の度合を生化学的に査定することにより、非投与ラットに比べて有意の増加が認められるかどうかを調べた。

アルギニンは非必須アミノ酸であるがインスリン、グルカゴン、生長ホルモンの分泌刺激因子であり、これらのホルモンはタンパク合成や好气的代謝の促進作用を有することが知られている。ロイシンは、必須アミノ酸であり骨格筋におけるタンパク合成の促進作用とタンパク分解の抑制作用を有するとされている。

カルニチンはミトコンドリアで脂肪酸を基質として燃焼させる時の必須化合物であり、体内でかなりの量まで合成されるとされているが、その量が生理的また場合によっては病態生理的な必要量を十分まかなっているかどうかについては結論は出ていない栄養素である。

実験方法

A) ラットの条件設定

Sprague-Dawley 雄ラット7週齢を購入し3群に分けて、 $22 \pm 4^\circ\text{C}$ 、06:00~18:00明時、自由摂食で飼育した。第1群(T群)は週6日の割で毎16:00~17:00時頃に、北条製作所製のトレッドミルにより60~80分間、毎分25mの速度で走行訓練を行った。

この内第1週はスピードと時間を序々に増して動物を慣らすのに用い、その後4週間訓練を続けた(図1)。第2群(TD群)はT群と同様の訓練を行ったが、訓練開始約1時間前にラット用経口ゾンデを用いて3mlの化合物溶液を投与した(図2)。

溶液はL-ロイシン4g、L-アルギニン6g、DL-カルニチン1.25gを200mlの水に溶かし

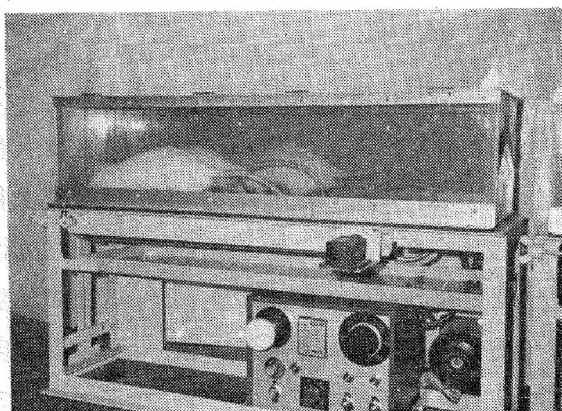


図1. トレッドミルによるラットの走行訓練

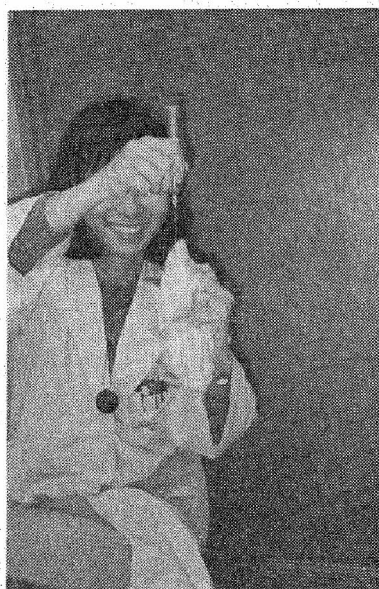


図2. ラット用経口ゾンデによる胃内投与

pHを7に合わせた。投与量の決定は、人体投与実験に用いられた量を参考に体重当りその10倍量を目安とした¹⁾。DL-カルニチンを用いた理由はL-カルニチンに比べて経済的負担を軽減するためである。第3群(C群)は対照群とし、とくに何の操作も加えず飼育した。

B) ラット骨格筋ミトコンドリアの分離

ラットを頭部打撃により失神させた後ギロチンで断頭し、十分脱血させて殺した。下肢全骨格筋を採取し100mM KCL, 20mM TES (N-tris (hydroxymethyl) methyl-2-aminoethane-sulfonic acid), pH 7.3 (溶液1) 中ではさみを用いて細切し全体を見かけ上均等に混和した。そこから約10gの筋肉片をランダムに採取し秤量した。これを10mlのChappell-Perry液(溶液2), 100mM KCL, 50mM Tris·HCL, 5mM MgSO₄, 1mM ATP, 1mM EDTA, pH 7.3の入った小ビーカーに移した後、はさみでさらに細切を続け、肉片が数ミリ以下になった時に、溶液2を追加して3~4倍希釈とした。

後、この試料をPotter-Elvehjem型ホモジナイザーを用いて毎分600~900回転でホモジナイズした。この操作は水中で4~8分かかり、10~15ストローク行った。ホモジネートに溶液2を加え最終的に最初の肉片重量の10倍の容量とし、よく混和した後冷却高速遠心機により600g、10分の遠心の後その上清をさらに10,000g、10分遠心した。沈殿物を溶液1にDounce型ホモジナイザーで分散させてさらに8,000g、10分の遠心を行った後沈殿物を溶液1に懸濁させてミトコンドリア分画とし以後の実験に用いた。以上の操作はErnster and Nordenbrandの方法²⁾に変更を加えたものである。

C) 生化学的測定法

ミトコンドリア内膜の標識酵素であるCytochrome oxidaseの活性はYonetani and Rayによる分光学的方法³⁾により、界面活性剤Lubrol

による活性化の後、島津製作所製 UV-140型分光光度計に U-135レコーダーを接続して測定した。

ミトコンドリアマトリックスの標識酵素である glutamate dehydrogenase 活性は、Beaufay et al.⁴⁾により界面活性剤 Nonidet P-40 による膜溶解の後分光学的に測定、succinate-cytochrome c reductase 活性は、Sottocasa et al.⁵⁾によりミトコンドリア分画をそのまま測定に用いた。

ATPase 活性は香川⁶⁾に従い pyruvate kinase による ATP 再生系の存在下でミトコンドリアを反応させた後、加熱で反応を停止させ、その遠心上清中に遊離された無機リン酸の濃度を Ames の方法⁷⁾で測定した。この時試薬中の ammonium molybdate の濃度は ATP による発色阻害を防ぐため 2~3 倍とした。

以上の酵素活性はすべて比活性とし $\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{min}$ で示した。タンパク濃度は Lowry 法で測定した。

電子伝達系チトクローム類の定量は、5~8mg タンパク量のミトコンドリア懸濁液を 0.25M ショ糖、20mM 燐酸溶液、pH 7.4 を加えてキュベット中で 3ml に希釈したものを 2 本用意し、両者に 1mM FCCP (carbonyl cyanide *p*-trifluoromethoxyphenylhydrazone) 3ml 加え攪拌 3 分後、対照に水 30 μl 、検体に 500mM pyruvate, succinate, malate 混液、pH 7.3, 30 μl 加え攪拌 5 分待つ。さらに対照に水 30 μl 、検体に 50mM Na₂S 30 μl 加え攪拌 1 分後、島津製作所製分光光度計 UV-3000 を用いて波長域 470—650nm の間の酸化還元差スペクトルを記録する。各チトクローム濃度の算出に用いた波長の組合せおよび分子吸光係数は表 2 に示してある。各チトクロームの存在量はミトコンドリアタンパク 1g 当りの μmol 数で示した。以上は Makinen and Chuanpu の方法⁸⁾に変更を加えたものである。

ミトコンドリアによる酸素消費量の測定は、Cannon and Lindberg⁹⁾に従い、Rank Brothers

社製の酸素電極を用いたポーログラフィーにより測定した。反応槽には約 1mg のミトコンドリアを含む 2ml の反応液を加えた。反応液は 100 mM KCL, 20mM TES, 4mM KH₂PO₄, 2mM MgCl₂, 1mM EDTA, 1% defatted BSA であった。校正には 25°C の蒸留水の酸素濃度として 258 μM の数値を用いた。各種呼吸基質は、2~5 mM に加えた状態で、まず酸素消費量を記録し、次に十分量の ADP を加えて state 3 として記録をつづけ、この時の消費量が最大酸素消費能を表わすものと考えた。以上の結果は 4~5 回の実験値の平均値±標準偏差を用いて表わし、有意差検定はすべて C 群に対して行い、t-検定により $p < 0.05$ をもって有意とし表中に * で示した。

実験結果

5 週間の走行訓練の効果を表 1 にまとめた。ラット体重は C 群に比して T, TD 群でいずれも有意の減少を示した。アルギニンなどの投与を最も自然に近く、また人間にも応用可能な経口法で行ったため、経口ゾンデによる喉頭部その他の刺激による摂食量変動も考えられるが、今回は単に自由摂食としたため摂食量の厳密な標準化は行っていない。しかし TD 群が T 群に比してやや体重が軽かった。

次に分画遠心によって分離されたミトコンドリアのタンパク量の変動であるが、ホモジネートに用いた骨格筋の湿重量あたりに換算すると、C 群に比して T, TD 群でいずれも有意の増加が認められた。C 群に認められた値は文献 4 に報告された値の上限であるが、これは一部われわれのミトコンドリア分画法では 600 g, 10 分の低速遠心操作を 1 回分省いたためかも知れない。しかしながら、T 群と TD 群間にはミトコンドリア含有量に差はなかった。T 群に比して TD 群では筋組織間脂肪の蓄積が少ない印象を受けた。

cytochrome oxidase 活性は一般にミトコンド

表1 筋ミトコンドリアタンパク量および種々の酵素活性

| | body weight (g) | mitochondrial protein (mg/g) | cytochrome oxidase ($\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{min}$) |
|----|--|---|---|
| C | 380 \pm 15.8 | 3.02 \pm 0.38 | 1.32 \pm 0.37 |
| T | 342 \pm 13.0* | 3.58 \pm 0.33* | 1.64 \pm 0.59 |
| TD | 320 \pm 18.7* | 3.62 \pm 0.42* | 1.78 \pm 0.45 |
| | glutamate dehydrogenase ($\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{min}$) | succinate cytochrome c reductase ($\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{min}$) | ATPase ($\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{min}$) |
| C | 0.126 \pm 0.031 | 0.108 \pm 0.029 | 0.179 \pm 0.038 |
| T | 0.126 \pm 0.043 | 0.098 \pm 0.022 | 0.228 \pm 0.033 |
| TD | 0.116 \pm 0.029 | 0.123 \pm 0.028 | 0.199 \pm 0.044 |

* Cに対して $p < 0.05$

リア内膜の標識酵素としてよく用いられミトコンドリアの存在量に比例すると考えられているが、C群に比し T, TD 群で活性増加の傾向が認められた。T, TD 群間に差はなかった。

glutamate dehydrogenase は筋組織がグルタミン酸を基質として燃焼する時に最初に作用すべきミトコンドリアマトリックスの酵素であるが、本活性はいずれの群においても変化が見られなかった。

succinate cytochrome c reductase 活性は電子伝達系複合体 II + III の部分活性に対応するものであるが、やはり C, T, TD 間に差異は認められなかった。

最後に複合体 V である ATPase の活性であるが、T群で増加傾向が認められたが、全体としては増加したとは認められなかった。以上のように cytochrome oxidase の比活性にのみ訓練による増加傾向が認められたが、これらを全活性で考えれば、ミトコンドリアタンパク量が有意に増加していることにより、各酵素活性とも訓練群で明らかに増強していると結論される。

次に電子伝達系複合体 II, III, IV の主成分であるチトクローム $a+a_3$, $b+b_{559}$, $c+c_1$ の含有量を調べた。図3に示すのは毎回測定に用いたミトコンドリア懸濁液の酸化還元差スペクトルの典型

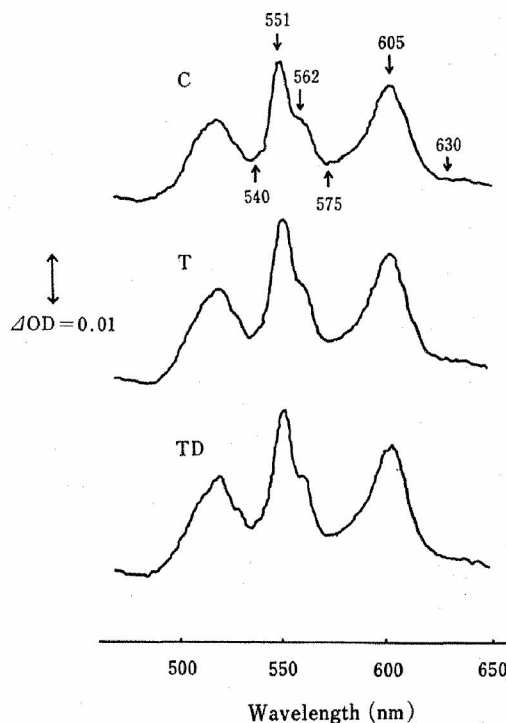


図3 ミトコンドリア懸濁液の酸化還元差スペクトル

例であり上から C, T, TD 各群の測定結果を示している。

例えばCの軌跡をとれば3つのピークが認められ、左から右へチトクローム $c+c_1$ の β 吸収帯、 α 吸収帯、 $a+a_3$ の α 吸収帯と一致する。真中のピークの右肩にチトクローム b の α 吸収帯が認められる。図に明らかなように C, T, TD 群とも各ピークの形状はよく類似し、特定の成分のみが

表2 筋ミトコンドリアチトクローム含量

| component | wavelength pair | ΔE ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) | C | T | TD |
|------------------------------|-------------------|---|-------------------------------|-------------------|-------------------|
| | (μm) | | ($\mu\text{mol/g protein}$) | | |
| cytochromes ($a+a_3$) | 605—630 | 16.5 | 0.413 ± 0.079 | 0.521 ± 0.102 | 0.511 ± 0.086 |
| cytochromes b ($+b_{559}$) | 562—575 | 17.9 | 0.177 ± 0.049 | 0.243 ± 0.061 | 0.232 ± 0.074 |
| cytochromes ($c+c_1$) | 551—540 | 19.0 | 0.354 ± 0.081 | 0.443 ± 0.074 | 0.457 ± 0.113 |

増量, 減少していることはないと考えられる. そこで各成分量を計算しまとめたものを表2に示した.

C群の値についてはチトクローム c, b ともに文献4などの報告値より低かった. これは, とくに $c+c_1$ については, われわれのホモジネート作製法がタンパク分解酵素を用いずに, ひたすらホモジナイザーによる徹底した物理的破砕によつたために一部のチトクロームが遊離したことも考えられる. しかしながら T, TD 群の各成分と比べてみると, T, TD 群では各チトクロームとも増量の傾向が認められ, T, TD 群間には差はなかった. チトクローム量は電子伝達の最大速度に比例すると考えられるから, 走行訓練によりチトクロームの比含有量, 全含有量とも明らかに増加し持久運動に対する予備力形成に貢献していると考えられる.

さらにミトコンドリアの酸素消費能の変化を実際運動時に燃焼していると考えられる種々の化合物を基質として調べてみた. これはミトコンドリア内の種々の酵素および電子伝達系などを一連のものとして構成した時の, 正味の代謝能力の変化を示すものと考えられるからである. 図4に示すのは 1mM malate 存在下に palmityl-DL-carnitine 100 μM を加えた時の典型例である. 添加直後の消費速度は C, T, TD に差はないが, ADP を加えて state 3 とした時は T, TD 群で速度上昇が認められ, とくに TD では有意の増加となった (表3).

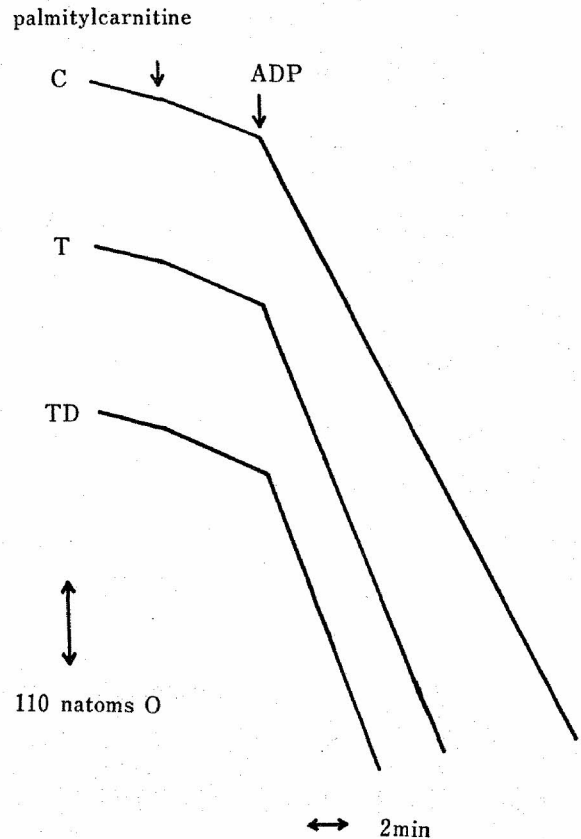


図4 palmitylcarnitine を基質としたミトコンドリア呼吸の比較

ADP 添加後の酸素消費速度は, ATP 合成を伴う生理的な最大速度を示すもので, ミトコンドリアの最大予備力を表わすと考えられる.

図5には 1mM malate, 5mM ATP, 20 μM CoA, 100 μM palmitate を加えた時の例を示した. 図には脂肪酸の燃焼には 1mM carnitine の添加が必須であることが示されている.

carnitine 存在下の消費速度は T, TD 群で上昇傾向が認められたが, T, TD 群間に差はなかった (表3). これは TD 群が毎日大量の carni-

表3 筋ミトコンドリア酸素消費量の呼吸基質による差異

| | Palmitylcarnitine | | Palmitate, CoA, ATP malate, carnitine | | malate, pyruvate | | glutamate | |
|----|-------------------|------------|--|------------|--------------------|------------|-----------|-----------|
| | - | + | - | + | - | + | - | + |
| C | 12.4±3.4 | 67.2±14.9 | 39.4± 8.8 | | 12.4±3.8 | 58.8±13.2 | 9.2±3.0 | 50.6±13.6 |
| T | 13.4±3.9 | 87.4±17.8 | 51.8±10.8 | | 16.2±3.0 | 78.0±13.1* | 10.2±2.9 | 66.8±15.2 |
| TD | 14.8±3.6 | 94.2±19.0* | 56.0±13.9 | | 61.0±3.2 | 74.4±15.9 | 11.0±3.2 | 69.0±16.1 |
| | α-ketoglutarate | | succinate | | α-glycerophosphate | | | |
| | - | + | - | + | - | + | - | + |
| C | 10.4±2.8 | 48.4± 9.6 | 60.4±11.4 | 93.0±17.6 | 46.6±8.3 | 59.4± 9.5 | | |
| T | 10.2±3.0 | 61.6±12.9 | 70.8±13.7 | 109.8±18.9 | 53.8±9.8 | 74.6±12.4 | | |
| TD | 12.0±3.2 | 65.2±14.7 | 77.0±14.9 | 118.8±22.0 | 59.4±7.5 | 70.4±14.7 | | |

表中の±は ADP の添加の有無を示す。

単位は natoms O/mg・min

* Cに対して p<0.05

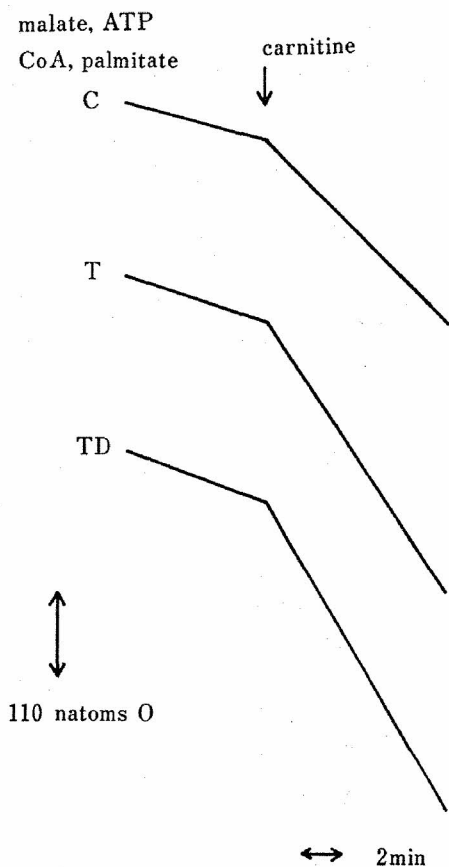


図5 palmitate を基質としたミトコンドリア呼吸へのカルニチンの効果

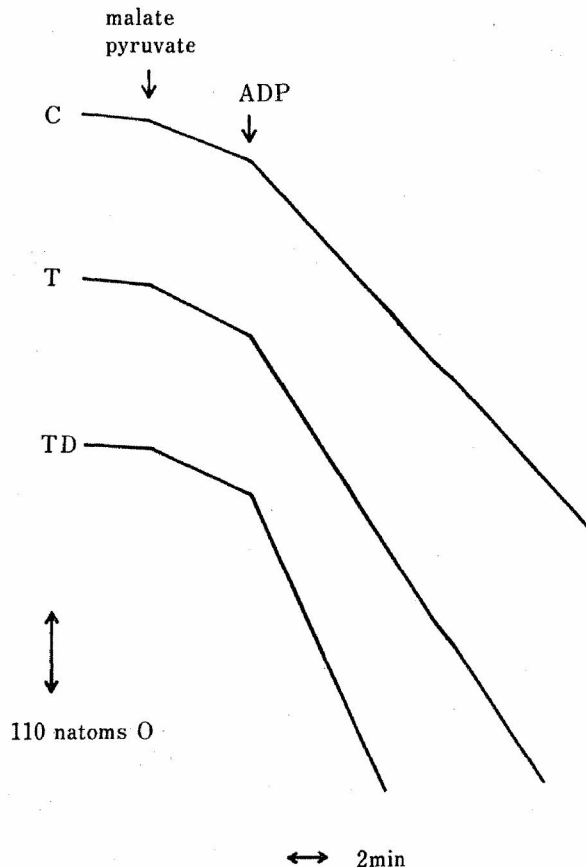


図6 malate, pyruvate を基質としたミトコンドリア呼吸の比較

tine を摂取していたことから考えて、少なくともわれわれの条件下では筋組織内の carnitine 濃度は律速段階ではないと考えられた。

以上のように持久運動時の中心的な燃料と考え

られている脂肪酸の燃焼能は走行訓練により増強した。図4, 図5 の両条件とも増強していることより, acyl CoA synthetase, carnitine palmityltransferase も含め, β酸化系全体の活性が上昇し

ていると推察される。

図6には同様に TCA 回路による典型的な基質燃焼の例を示した。malate, pyruvate では ADP 存在下どうしを比較すると T 群に有意差が認められた (表3)。

さらに glutamate, α -ketoglutarate, succinate, α -glycerophosphate についても同様の測定を行ったが、いずれも ADP 存在下 T, TD 群で増加傾向を示すものの、T, TD 群間には差異はなかった。

以上全体を通して結論できることは、各測定値とも筋肉の湿重量あたりで比べるといずれも T, TD 群で増大していることである。しかし、いずれにおいても T, TD 群間に差は全く認められなかった。

考 察

日常生活の中で持久性の向上が求められる状況は多い。それを筋組織の持久力の向上という局所的観点で捉えてみると、筋組織が遂行する仕事量をまかなうだけのエネルギーを筋ミトコンドリアが継続的に供給しつづけることが第一義的に重要であると考えられる。

個体レベルでは、心臓血管系、神経系および肝臓を含む消化吸收系の調和した共同作業により、より豊富な血流にのって、酸素と種々の燃料が筋細胞内に届けられつづけることが要求されるであろう。

今回のわれわれの関心は前者に対するものである。骨格筋筋線維は一般に3種に分類され、I型は収縮速度は遅く、酸化能は高く、毛細血管の発達が良い、II a型は収縮は中位、酸化能は中位、毛細血管発達も中位。II b型は収縮は速く、酸化能低く、毛細血管の発達は悪いとされている。このうち持久運動に意義のあるのは I, II a型と考えられるが、各型とも持久力トレーニングによって酸化能が高まることが知られている。条件によっては II b型が II a型に変化する現象も認められ

ている¹⁰⁾。

トレーニングによる適応の結果 I, II a型を中心とした血流供給のための毛細血管数の増加、ミオグロビン含量の増加などが起るが、特筆すべきはミトコンドリアの数とサイズの増大である¹¹⁾。ミトコンドリア数の増加は当然、そこに存在するエネルギー生成系全成分の細胞当りの増加をもたらす。これには TCA 回路、脂肪酸 β 酸化系および電子伝達系などが含まれ、結果として筋組織の好気代謝能が向上するのである。

トレーニングによる筋収縮過程のいったい何がミトコンドリアタンパクの増加をもたらすかの本態はいまだ不明である。しかしそれは筋収縮そのものに起因し、ホルモンなどの体液性因子とは無関係であることが示唆されている¹²⁾。またミトコンドリアタンパクの合成が分解に比べて促進されていること、および F_1 -ATPase や cytochrome oxidase などでは mRNA レベルで増加することがすでに報告されている¹³⁾。これらとは別の研究の流れに骨格筋、心筋および横隔膜におけるタンパク合成、分解速度におよぼすインスリン、脂肪酸、分枝鎖アミノ酸などの影響を精査したものがある。それによれば、今回実験に用いた分枝鎖アミノ酸のロイシンは、インスリンとともに筋組織のタンパク合成を促進することが明らかで、とくにタンパクへの翻訳開始の速度を増すことが指摘されている。

さらにロイシンには骨格筋組織におけるタンパク分解を抑制する作用が認められており、リソゾームの自己消化作用を低下させることが一つの機序と考えられている¹⁴⁾。

さらに類似の流れとして、アルギニン投与により生体がタンパク同化方向に変化する現象を捉えたものがある。外傷後食事とともに加剰のアルギニンを摂取すると、体重減少が最小限に抑えられ、回復が早まる効果が認められているのである¹⁵⁾。その際のアルギニンの役割は、インスリン、グル

カゴン、成長ホルモンなどの分泌刺激因子として作用しつつ、他方では外傷治癒に必要なコラーゲンタンパクの前駆アミノ酸の供給を行うことと考えられている¹⁶⁾。インスリン、成長ホルモンは同化型ホルモンであり、生体をタンパク合成方向に向ける。一方グルカゴンは、グリコーゲン分解作用とともにミトコンドリアの電子伝達を亢進させ、pyruvateなどの酸化を著しく高める作用を有し、全体としてATP合成を伴ったエネルギー生成方向に強く変化させる。

さて持久カトレニングによるミトコンドリアの増加の度合は、一定の負荷を与えた条件での筋収縮活動の量に比例すると考えられている。活動量を増やすには、一定時間内に収縮運動の頻度を多くするか、より長い時間収縮運動を行うかのどちらかである。

今回われわれが興味を持ったのは、ある一定の収縮活動が有するミトコンドリア生合成促進作用を何らかの外来摂取可能な因子によって、より増強させることはできないかという点である。平たく言えば、何かを経口摂取しておれば、より楽なトレーニングによって一定の持久力が身につくかも知れないということにもなる。

われわれは外来摂取の化合物として、天然物であり、化学的性質が明らかであり、かつ人体投与の際にも安全性が確認されたものとして、アルギニン、ロイシン、カルニチンを選んだ。それぞれの投与の意義はすでに述べたように、いずれも筋ミトコンドリアタンパクの合成促進、分解抑制、電子伝達の活性化、脂肪酸酸化の促進が期待されるものである。

初期の目的は、これらを人体に投与し、実際の長短距離走の走行時間を指標として効果を判定しようとするものであった。しかしその後、客観的な判断を下しやすい、動物実験による生化学的な測定値の比較を先行させた方が良いと考え、今回の実験を行った。残念ながら、われわれの期待は

今回のデータを見る限り当らなかった。

今回のデータをC群、T群について過去の類似のデータと比較すると、チトクローム類の含量がやや低く、各種呼吸基質による酸素消費量も低いと思われる¹⁷⁾。これはおそらく、ミトコンドリア分画の分離法の違いによると考えられる。われわれは筋組織のホモジナイズに先立って、タンパク分解酵素による前消化の処理を加えなかった。その分組織が強固で、破碎に時間がかかった分だけ一部のミトコンドリアに機能低下を招いたかも知れない。

またわれわれは分画遠心操作で、低速遠心を1回分省いたが、これは筋原線維の混入を増し、ミトコンドリア分画中のミトコンドリアの比含有量低下を生じたとも考えられる。しかしながら、C、T、TD群はいずれも同じ操作手順で扱われたので、その間の比較は可能である。いずれの実験値もT、TD群間に差はなかった。

しかしラットのpair-fed飼育や化合物の投与量、方法の変更および訓練期間の変更や実験回数的大幅な増加などにより、なんらかの改善効果が検出される可能性は残されている。このような試みは今回初めてのものと思われるが、今後さらに多くの研究者の賛同を得て、栄養生化学や体力生理学の成果を社会的要請に結びつけようとする一参考例としていただければ幸いである。

結 語

スポーツドリンクが登場して久しいが、その目的は、極度の発汗疲労に伴う体液の水、電解質バランスの乱れをより速く回復させることである。他方強精滋養剤と分類されるものも多数存在し、化学的に明らかな成分としてはビタミン剤と少量の中枢神経賦活剤があり、効果はビタミンを補酵素とする各種代謝系酵素の活性化および中枢性興奮作用に基づく短期集中力の向上などが考えられる。以上二者はいずれも必要時に摂取すれば直ち

に効果が期待できる点で共通している。

今回われわれが検索を試みたアルギニン、ロイシンによる筋ミトコンドリア合成促進作用は、これらに対して長期的な投与が必要と考えられ、代謝の流れの調節ではなく、体タンパク成分の増量を目ざした点で大きく異なる。しかし、われわれのを含めてこれらすべてに共通する問題は、普段からバランスのとれた食生活をしている人間が特定の栄養成分などだけを過剰摂取した場合、いったいどれだけの積み上げ効果があるだろうかという点であり、今後に残された証明の難しい作業である。

しかしながら、食品成分が5大栄養素としてのみ分類された時代は終りつつあり、食生活が一人ひとりにより一層の健康を提供するため、積極的に役割を果たしてゆくことが期待され始めている。それゆえ現時点で、アルギニン、ロイシンなどの、アミノ酸一般としての栄養価とは別に、それらの5大栄養素の範疇に入らない積極的機能面を解明開拓してゆくことは大変重要な課題である。今後個々の栄養成分の未知の機能の発見を通じて、人間生活はより充実したものになってゆくであろう。

文 献

- 1) Fagher, B., H. Thysell, P. Nilsson-Ehle, M. Monti, L. Olsson, M. Eriksson, S. Lindstedt and T. Lindholm; The effect of D,L-carnitine supplementation on muscle metabolism, neuropathy, cardiac and hepatic function in hemodialysis patients. *Acta Med. Scand.*, **212** : 115—120 (1982)
- 2) Ernster, L., and K. Nordenbrand; Skeletal muscle mitochondria. *Methods in enzymology*, **10** : 86—94 (1967)
- 3) Yonetani, T., and G.S. Ray; Studies on cytochrome oxidase. *J. Biol. Chem.*, **240** : 3392—3398 (1965)
- 4) Beaufay, H., D.S. Bendall, P. Baudhuin, and C. de Duve; Tissue fractionation studies. *Biochem. J.*, **73** : 623—628 (1959)
- 5) Sottocasa, G.L., B. Kuylenstierna, L. Ernster, and A. Bergstrand; An electron transport system associated with the outer membrane of liver mitochondria. *J. Cell Biol.*, **32** : 415—438 (1967)
- 6) 香川靖雄; 共役因子, 生化学実験講座12巻, 東京化学同人, P. 231—243 (1976)
- 7) Ames, B.N.; Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatases. *Methods in enzymology*, **8** : 115—118 (1966)
- 8) Makinen, M.W., and L. Chuan-Pu; Biochemical studies of skeletal muscle mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.*, **126** : 75—82 (1968)
- 9) Cannon, B. and O. Lindberg; Mitochondria from brown adipose tissue. *Methods in enzymology*, **55** : 65—78 (1979)
- 10) Jansson, E. and L. Kaijser; Muscle adaptation to extreme endurance training in man. *Acta Physiol. Scand.*, **100** : 315—324 (1977)
- 11) Hoppeler, H., P. Lüthi, H. Classen, E.R. Weibel, and H. Howald; The ultrastructure of normal human skeletal muscle. *Pfluegers Arch.*, **344** : 217—232 (1973)
- 12) Saltin, B., K. Nazar, D.L. Costill, E. Stein, E. Jansson, B. Essen, and P.O. Gollnick; The nature of the training response. *Acta Physiol. Scand.*, **96** : 289—305 (1976)
- 13) Williams, R.S., M. Garcia-Moll, J. Mellor, S. Salmons, and W. Harlan; Adaptation of skeletal muscle to increased contractile activity. *J. Biol. Chem.*, **262** : 2764—2767 (1987)
- 14) Li, J.B., and R. Odessey; Regulation of protein turnover in heart and skeletal muscle by branched-chain amino acids and the keto acids. In: Problems and potential of branched-chain amino acids in physiology and medicine, edited by R. Odessey. Amsterdam: Elsevier, p 83—106 (1986)
- 15) Barbul, A., G. Rettura, S.M. Levenson, and E. Seifter; Wound healing and thymotropic effects of arginine. *Am. J. Clin. Nutr.*, **37** : 786—794 (1983)
- 16) Seifter, E., G. Rettura, A. Barbul, and S.M. Levenson; Arginine: An essential amino acid for injured rats. *Surgery*, **84** : 224—230 (1978)
- 17) Davies, K.J.A., L. Packer, and G.A. Brooks;

Biochemical adaptation of mitochondria,
muscle, and whole-animal respiration to

endurance training. *Arch. Biochem. Biophys.*,
209 : 539—554 (1981)