

BCAA摂取がトレーニング休止に伴う骨格筋ミトコンドリアの減少を抑制するか
～持久的運動能力に対する効果的なリハビリテーションの開発～

松永 裕

目 次

要約	1
緒言	2
方法	3
結果	6
考察	13
まとめ	15

BCAA摂取がトレーニング休止に伴う骨格筋ミトコンドリアの減少を抑制するか ～持久的運動能力に対する効果的なリハビリテーションの開発～

松永 裕

要約

【背景・目的】

骨折や捻挫、慢性的な疼痛といったスポーツ傷害、あるいは風邪や腹痛といった内科的疾患によって、アスリートはトレーニングの休止を余儀なくされる。トレーニングの休止に伴う持久的運動能力の低下は、競技復帰を遅らせる大きな要因であるが、それを抑制する方法についてはこれまで明らかにされてこなかった。そこで本研究は、栄養摂取の観点から分岐鎖アミノ酸(BCAA)に着目し、BCAA の摂取によってトレーニングの休止に伴うミトコンドリアの減少を抑制するか明らかにすることを目的とした。

【方法】

実験動物には 6 週齢の雄性 ICR マウス(Clea Japan)を用い、コントロール群(Con 群)、トレーニング群(Tr 群)、脱トレーニング群(DeTr 群)、脱トレーニング+BCAA 摂取群(DeTr+BCAA 群)の 4 群に分けた。期間は 6 週間とし、4 週間の持久的トレーニング期間、2 週間の脱トレーニング期間を設けた。トレーニングはトレッドミル走行(20-30 m/分, 60 分間, 5 回/週)を用いた。脱トレーニング期間中は、水または BCAA(0.6 mg/g BW×2 回/日)を経口投与にて与えた。最終投与から 24 時間後に組織を摘出し、ミトコンドリア酵素活性(CS 活性、 β -HAD 活性)およびタンパク質発現量(COXIV)の測定を行った。

【結果】

足底筋における CS 活性は、Con 群に比べて DeTr 群で差が見られないものの、Tr 群と DeTr+BCAA 群で有意に高値を示した(Con vs Tr : $p < 0.01$, Con vs DeTr+BCAA : $p < 0.05$)。また、Tr 群に比べて DeTr 群で有意に低値を示した($p < 0.05$)。 β -HAD 活性は Con 群に比べて DeTr 群で差が見られないものの、Tr 群と DeTr+BCAA 群で有意に高値を示した(Con vs Tr : $p < 0.01$, Con vs DeTr+BCAA : $p < 0.05$)。また、Tr 群に比べて DeTr 群で有意に低値を示した($p < 0.01$)。ヒラメ筋においても、同様の結果が得られた。足底筋の COXIV タンパク質発現量は、Tr 群に比べて DeTr+BCAA 群で差が見られないものの DeTr 群で有意に低値を示した($p < 0.05$)。

【結論】

BCAA を摂取することにより、トレーニング休止に伴うミトコンドリアの減少を抑制することが明らかとなった。ミトコンドリアは持久的運動能力に関わる大きな要因であることから、本研究結果は持久的運動能力に対する効果的なリハビリテーション方法につながる有益な知見になる可能性が考えられる。

1. 緒言

骨折や捻挫、慢性的な疼痛といったスポーツ傷害、あるいは風邪や腹痛といった内科的疾患によって、アスリートはトレーニングの休止を余儀なくされる。トレーニングの休止によって運動能力が著しく低下することは経験的に多くの人々が知るところであるが、これまでは早急な競技復帰に向けて故障した患部そのものに対する効果的な治療やリハビリテーション方法が医学及び理学療法の見点から積極的に検討されてきた。故障部位の治療・リハビリテーションによって競技復帰を早めようとする一方で、トレーニングの休止に伴い持久的運動能力も著しく低下する。全身の持久力低下は、競技復帰を遅らせる大きな要因であるのにも関わらず、この「持久的運動能力をいかにして保持するか」といった見点からのリハビリテーションはこれまで軽視されてきた。

では、「持久的運動能力を決定づけるものは何なのか?」、この答えの一つが「ミトコンドリア」である。ミトコンドリアは、食事によって得られた糖質や脂質をエネルギー(ATP)に変換するエネルギー産生の中心的な役割を担う細胞小器官である。先行研究においてミトコンドリアの増加に伴い、持久的運動能力が増加すること(Fitts et al. 1975)、またトレーニングの休止によってミトコンドリアの減少を招くことが報告されている(Coyle et al. 1984)。このことから、トレーニングの休止期においてミトコンドリアの減少を抑制することは、持久的運動能力を保持し、迅速な競技復帰をする上で重要であるが、このような見点からの研究はほとんど行われていない。

ミトコンドリアを維持・増進するための方法としては、まず第一に運動がある。先行研究においては、継続的な持久的トレーニングによってミトコンドリアが増加すること(Holloszy. 1967)、また長時間の持久的運動だけでなく、高強度インターバルトレーニングによってもミトコンドリアが増えるということが報告され、より短時間で効率的にミトコンドリアを増加させる方法も明らかとなっている(Little et al. 2010)。しかし、故障などによるトレーニング休止期間においては、長時間にわたる運動、もしくは強度の高い運動を行うことは困難であり、運動に変わる方法で、ミトコンドリアの減少を抑制する方法の開発が求められる。そこで我々は栄養摂取、その中でも特に分岐鎖アミノ酸(BCAA)に着目をした。先行研究においては、middle-ageのマウスにおいてBCAAを摂取することによってミトコンドリアを増加させ、寿命を延ばすとの報告がされている(Antona et al. 2010)。さらに、高脂肪食摂取は脂肪を蓄積させ、代謝異常を起こすことが明らかとなっているが、その様な高脂肪食摂取条件下においてBCAAの一つであるロイシンを摂取させることで、ミトコンドリアを増加させ、糖代謝異常を改善させるとの報告もある(Li et al. 2012)。これらの研究は、アミノ酸の摂取によってミトコンドリアを増加させ、身体に有益な効果をもたらす可能性を示唆するものである。そこで本研究の目的は、持久的運動能力に対する効果的なリハビリテーション方法を開発するために、トレーニングの休止に伴うミトコンドリアの減少をBCAAの摂取で抑制するか否かを明らかにすることである。

2. 実験方法

2-1. 実験プロトコール

実験動物には6週齢の雄性ICRマウス(Clea Japan)を用いた。水・飼料(MF, オリエンタル酵母)は自由摂取とし、暗期-明期 12 時間サイクル、室温 23°Cの環境下で飼育を行った。実験プロトコールを以下に示す(Fig.1)。1週間の予備飼育期間を経た後に、マウスをコントロール群(Con 群)、トレーニング群(Tr 群)、脱トレーニング群(DeTr 群)、脱トレーニング+BCAA 摂取群(DeTr+BCAA 群)の4群に分けた。期間は6週間とし、4週間の持久的トレーニング期間、2週間の脱トレーニング期間を設けた。Tr 群は組織抽出のタイミングを合わせるために、2週間の安静の後に4週間の持久的トレーニングを行った。脱トレーニング期間には、水またはBCAA(0,6 mg/g BW×2/日, バリン:ロイシン:イソロイシン=1:2:1)を経口投与にて与えた。持久的トレーニングはトレッドミル走行(20-30 m/分, 60分間, 5回/週)を行った。最終投与から24時間後に組織の抽出を行い、解析に用いるまで-80°Cで保存した。

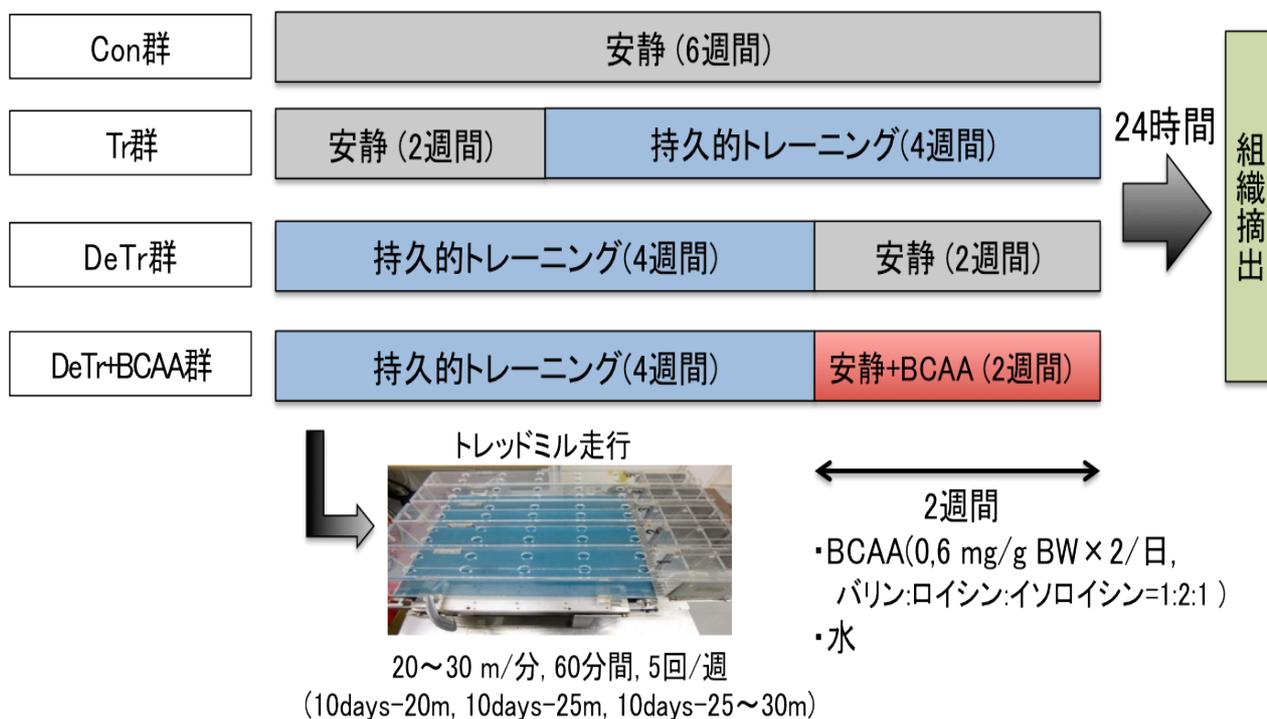


Fig.1 実験プロトコール

2-2. 分析方法

2-2-1. 体重及び摂食量の測定

マウスの体重及び摂食量を毎日同じ時間帯に電子天秤を用いて測定した。飼料のカロリーを 3.59 kcal/g、BCAA のカロリーを 4 kcal/g とし、摂取エネルギー量を算出した。また、実験最終日から実験初日の体重を引いたものを体重増加量、実験期間中のエネルギー摂取量の総和を総摂取エネルギー量として算出した。

2-2-2. 血中グルコース濃度の測定

血中グルコース濃度は、組織摘出時にマウスの腹腔より血液を採取し、グルテストエース(アークレイ)を用いて測定を行った。

2-2-3. 骨格筋グリコーゲン濃度の測定

先行研究に従ってフェノール硫酸法により測定を行った(Lo et al. 1970)。手順は以下の通りである。前脛骨筋の赤色部位、白色部位を肉眼で見分け、それぞれ約 15 mg ずつ切り取り、30%KOH+Na₂SO₄ を 300 μl 加える。98 °C で温め、組織を全て溶かした後にエタノール 360 μl 加えて氷上で 30 分のインキュベーションを行う。遠心分離(20 °C/6000 rpm/15 min)を行い、沈殿物のみを乾燥させる。十分に乾燥したところで、水を 700 μl 加え、サンプル溶液とする。サンプル溶液に 5%フェノール溶液、硫酸を加え、反応させる。分光光度計 ASV11D(AS ONE)を用いて、吸光度を測定する。検量線の値をもとにグリコーゲン濃度を算出し、筋重量で除する。

2-2-4. 酵素活性の測定

サンプル溶液の調整

足底筋及びヒラメ筋を約 10 mg 取り、100 倍量の homogenate buffer(1.36 g of 0.1 M KH₂PO₄ and 50 mg of BSA to ~80 ml H₂O. Adjust to 7.3 with KOH and top to 100 ml with H₂O.)を入れ、ホモジナイズした。サンプル溶液は、液体窒素での凍結と常温での解凍を 2 回繰り返した。サンプル溶液のタンパク質濃度はQuick Start™ Bradford Dye Reagent 1x(Bio Rad)を用いてBradford法により測定した。

Citrate Synthase(CS)活性

先行研究に従い(Srere. 1969)、Citrate Synthase(CS)活性の測定を行った。酵素溶液に Tris-HCl Buffer、DTNB、Acetyl-CoA、TritonX、Oxaloacetate を加え、smart spec plus spectrophotometer(Bio-Rad)を用い、412 nm にて吸光度を測定した。吸光度から求められるCS活性の値(μ mol/min/g wm)をタンパク質濃度で除し、CS 活性(μ mol/min/mg protein)として表した。

β -Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase(β -HAD)活性

先行研究に従い(Bass et al. 1969)、 β -Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase(β -HAD)活性の測定を行った。酵素溶液に Tris-HCl buffer、EDTA、NADH、TritonX、Acetoacetyl-CoA を加え、smart spec plus spectrophotometer (Bio-Rad)を用い、340 nm にて測定した。吸光度から求められる β -HAD活性の値をタンパク質濃度で除し、 β -HAD 活性(μ mol/min/mg protein)として表した。

2-2-5. タンパク質発現量の測定

サンプル調整

足底筋及びヒラメ筋を分析対象とした。Lysis buffer (pH 7.5, 1% TritonX-100, 50 mM Tris HCL, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 50 mM NaF, 10 mM Sodium Beta-glycerol Phosphate, 5 mM Sodium Pyrophosphate, 2 mM DTT)にComplete mini EDTA free(Roche)を加えた溶液内で、ホモジナイザーを用いて組織を粉砕した。タンパク質溶解のため1時間氷上でインキュベートし、遠心分離(4 °C/1500 G/20 min)を行い上清を回収した。サンプル溶液中のタンパク質濃度をBradford法を用いて測定し、サンプルのタンパク質濃度が1 μ g/ μ lになるようにBuffer2 (10 mM 2-amino-2-hydroxymethyl-1, 3-propanediol, 1 mM EDTA, pH7.4)で希釈した。サンプル溶液100 μ lに対して、16%SDS溶液を30 μ l加え、98 °Cで5分間加熱し、ウエスタンブロット用のサンプル溶液とした。

ウエスタンブロット

ウエスタンブロット法を用いて、COXIVタンパク質の発現量を測定した。15% polyacrylamide gel を作成し、10 μ l のサンプルをloadingした。150 Vで60分間の電気泳動を行い、タンパク質を分子量ごとに分離した後にPVDE膜に転写した。ブロッキングには3%BSA/TBST(Tris-buffered saline containing 0.05% Tween-20, pH7.5)を用いて、1時間インキュベーションした。一次抗体はCOXIV(ab14744; Abcam)を用いて、Overnight 4°Cの条件下、Overnightでインキュベーションを行った。1次抗体反応後はTBST(Tris-buffered saline containing 0.05% Tween-20, pH7.5)で15分×3回洗浄した。2次抗体はAnti IgG(H+L), mouse (American Qualex)を用いて、1時間インキュベーションした。2次抗体反応後はTBST(Tris-buffered saline containing 0.05% Tween-20, pH7.5)で15分×3回洗浄した。その後Pierce ECL Western Blotting Substrate(Thermo Scientific)により化学発光させChemiDoc(Bio-Rad)で撮影した。バンドの定量には、Quantity One(Bio Rad)を用いた。

2-3. 統計処理

各測定結果は、平均値±標準誤差(SE)で表記した。各測定項目に対する群間の差の検定には一元配置分散分析を行い、post-hoc testとしてTukey-Kramer法を用いた。全ての測定項目について有意水準は $p < 0.05$ とした。

3. 結果

3-1. 体重及び摂食量

体重増加量は、全ての群において差は見られなかった(Fig.2-1)。また、総摂取エネルギー量も同様に全ての群で差が見られなかった(Fig.2-2)。

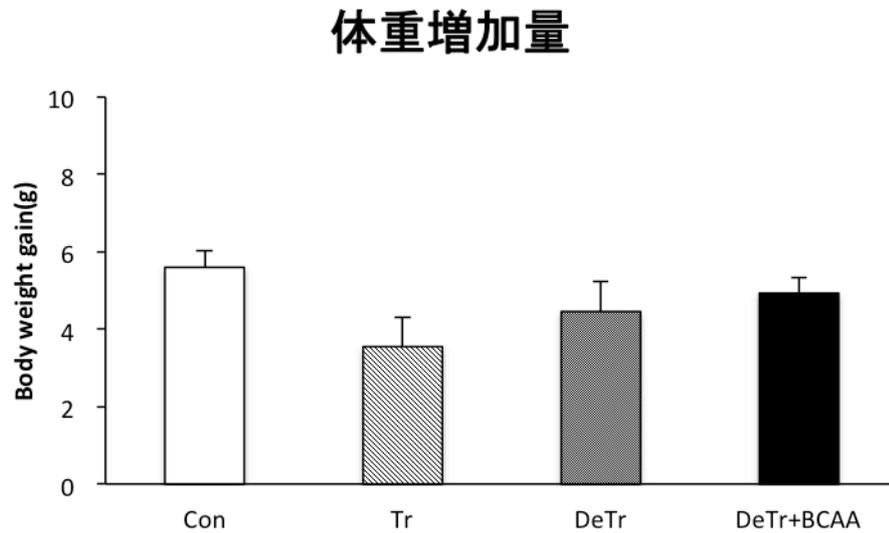


Fig.2-1 実験期間中の体重増加量

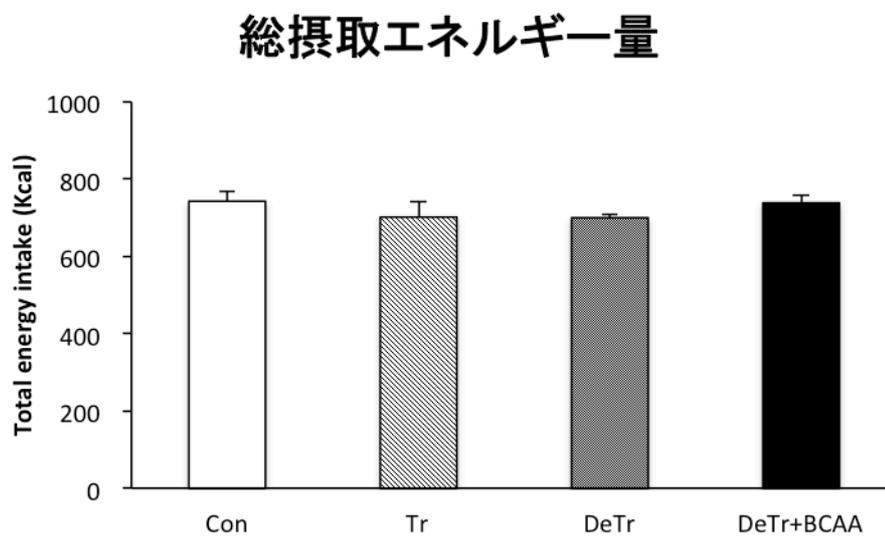


Fig.2-2 実験期間中の総摂取エネルギー量

3-2. 筋重量

足底筋及びヒラメ筋それぞれの筋重量においては全ての群に差は見られなかった(Fig.3-1,2)。しかし、足底筋とヒラメ筋の重量の総和において一元配置分散分析を行った結果、有意な差が見られた($p < 0.05$)。さらにTukey-Kramer法によって多重比較検定を行った結果、Con群に比べてTr群で有意に高値を示した(Fig.3-3 , $p < 0.05$)。

足底筋重量/体重

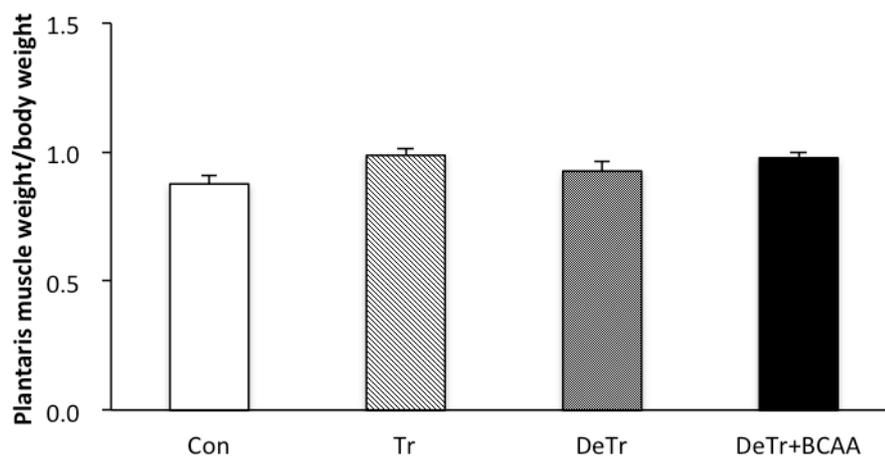


Fig.3-1 足底筋重量

ヒラメ筋重量/体重

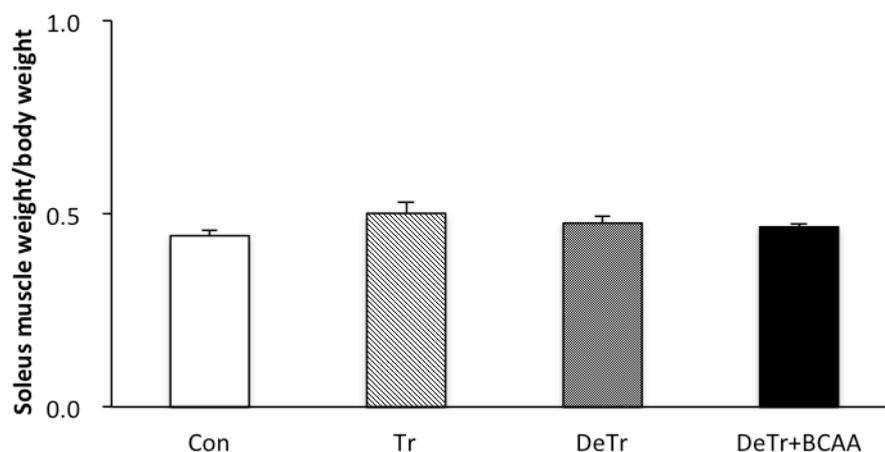


Fig.3-2 ヒラメ筋重量

足底筋+ヒラメ筋重量/体重

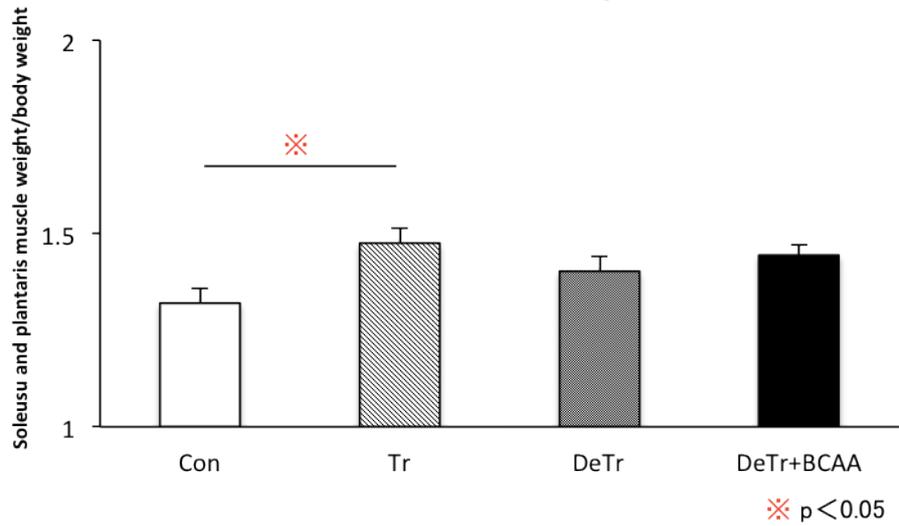


Fig.3-3 足底筋+ヒラメ筋重量

3-3. 血中グルコース濃度及び筋グリコーゲン濃度

血中グルコース濃度は、全ての群において差は見られなかった(Fig.4-1)。また、前脛骨筋赤色部位及び白色部位のグリコーゲン濃度においても全ての群で差が見られなかった(Fig.4-2,3)。

血中グルコース濃度

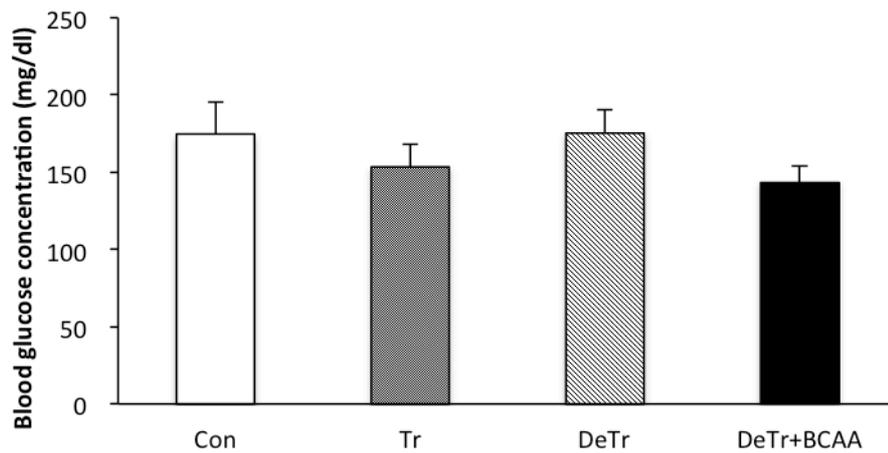


Fig.4-1 血中グルコース濃度

グリコーゲン濃度-前脛骨筋赤色部位

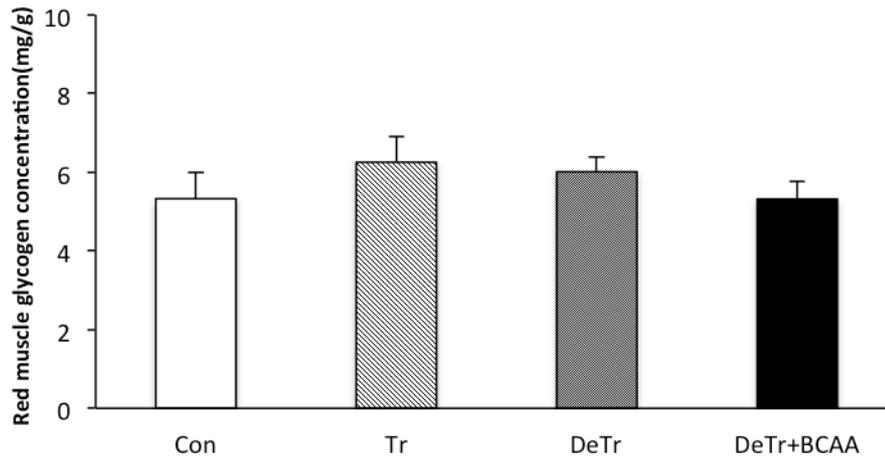


Fig.4-2 前脛骨筋赤色部位グリコーゲン濃度

グリコーゲン濃度-前脛骨筋白色部位

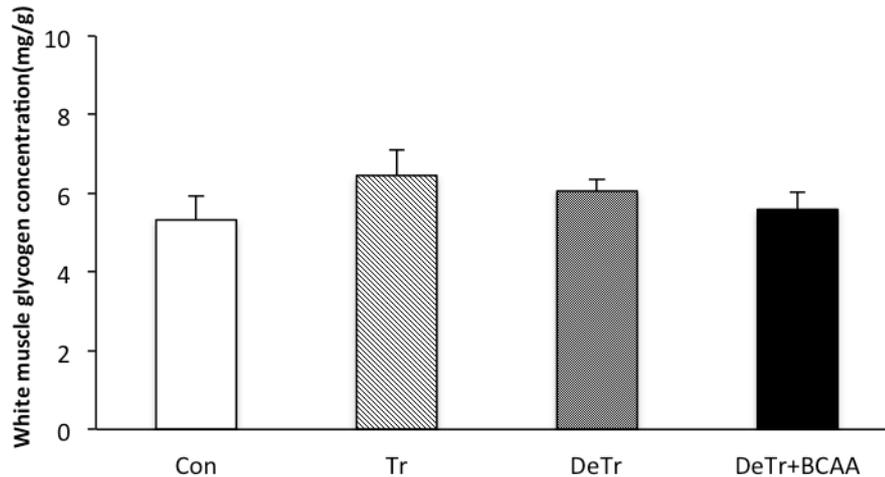


Fig.4-3 前脛骨筋白色部位グリコーゲン濃度

3-4. CS活性及びβ-HAD活性

ミトコンドリア量の指標としてCS活性及びβ-HAD活性の測定を行った。足底筋のCS活性(Fig.5-1)は、一元配置分散分析の結果、有意な差が見られた($p < 0.01$)。さらに多重比較検定を行った結果、Con群に比べてDeTr群で差が見られないものの、Tr群とDeTr+BCAA群で有意に高値を示した(Con vs Tr : $p < 0.01$, Con vs DeTr+BCAA : $p < 0.05$)。また、Tr群に比べてDeTr群で有意に低値を示した($p < 0.05$)。同様にヒラメ筋のCS活性(Fig.5-2)は、一元配置分散分析の結果、有意な差が見られた($p < 0.01$)。さらに多重比較検定を行った結果、Con群に比べてDeTr群で差が見られないものの、Tr群とDeTr+BCAA群で有意に高値を

示した(Con vs Tr : $p < 0.01$, Con vs DeTr+BCAA : $p < 0.05$)。また、DeTr群に比べてTr群及びDeTr+BCAA群で有意に高値を示した($p < 0.05$)。

足底筋の β -HAD 活性(Fig.5-3)は、一元配置分散分析の結果、有意な差が見られた($p < 0.01$)。さらに多重比較検定を行った結果、Con群に比べてDeTr群で差が見られないものの、Tr群とDeTr+BCAA群で有意に高値を示した(Con vs Tr : $p < 0.01$, Con vs DeTr+BCAA : $p < 0.05$)。また、Tr群に比べてDeTr群で有意に低値を示した($p < 0.01$)。同様にヒラメ筋の β -HAD 活性(Fig.5-4)は、一元配置分散分析の結果、有意な差が見られた($p < 0.01$)。さらに多重比較検定を行った結果、DeTr群に比べてTr群及びDeTr+BCAA群で有意に高値を示した($p < 0.01$)。

CS活性-足底筋

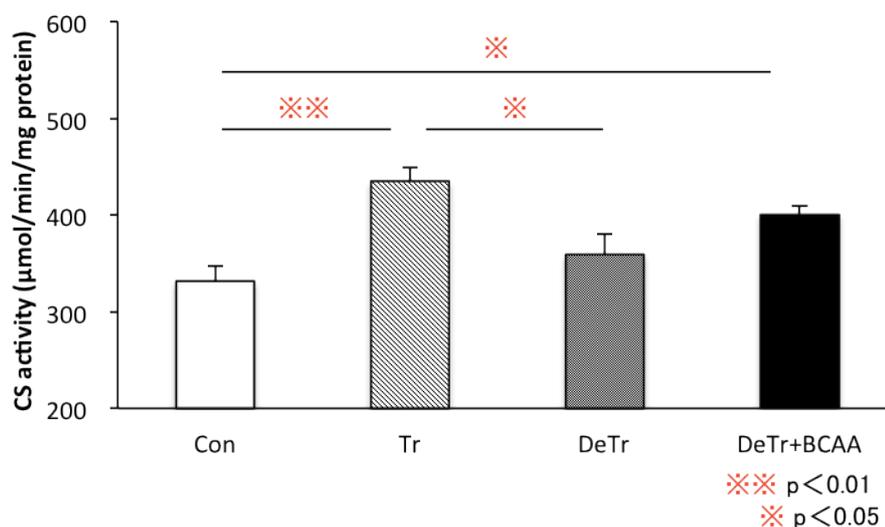


Fig.5-1 CS活性(足底筋)

CS活性-ヒラメ筋

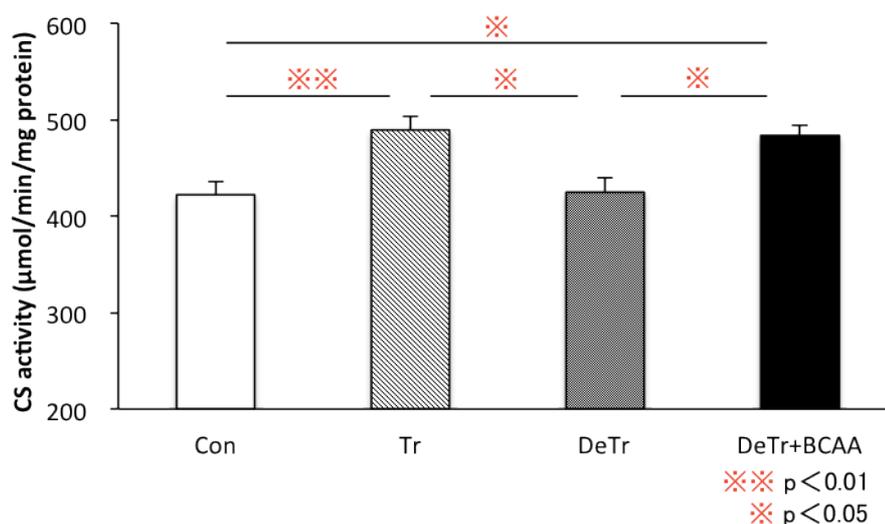


Fig.5-2 CS活性(ヒラメ筋)

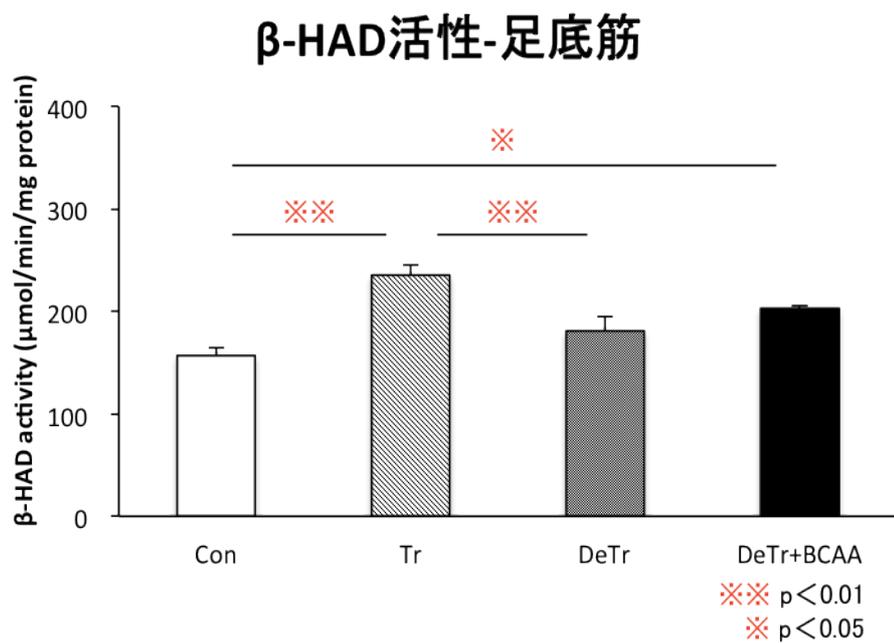


Fig.5-3 β-HAD活性(足底筋)

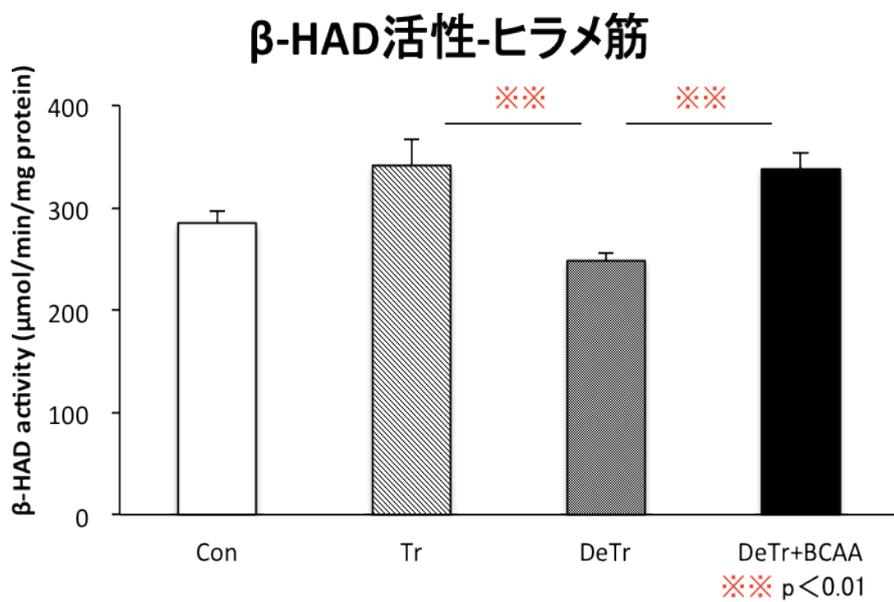


Fig.5-4 β-HAD活性(ヒラメ筋)

3-5. COXIV タンパク質量発現量

ミトコンドリア量の指標としてCOXIVタンパク質の発現量を測定した。足底筋においては一元配置分散分析の結果有意な差が見られ($p < 0.05$)、多重比較検定の結果、Tr 群に比べて DeTr+BCAA 群で差が見られないものの DeTr 群で有意に低値を示した(Fig.6-1, $p < 0.05$)。ヒラメ筋においては全ての群で差は見られなかった(Fig6-2)。

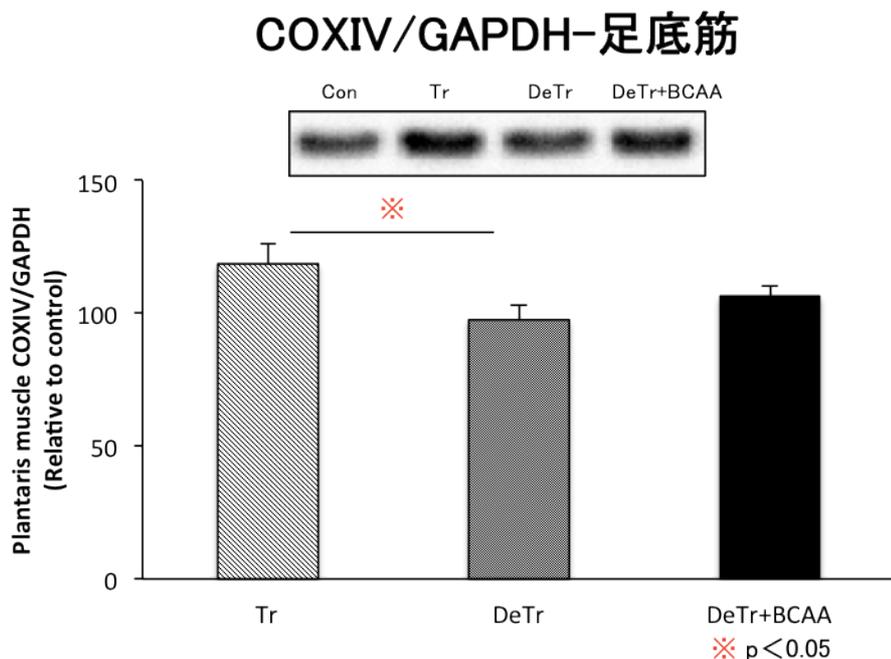


Fig.6-1 COXIVタンパク質発現量(足底筋)

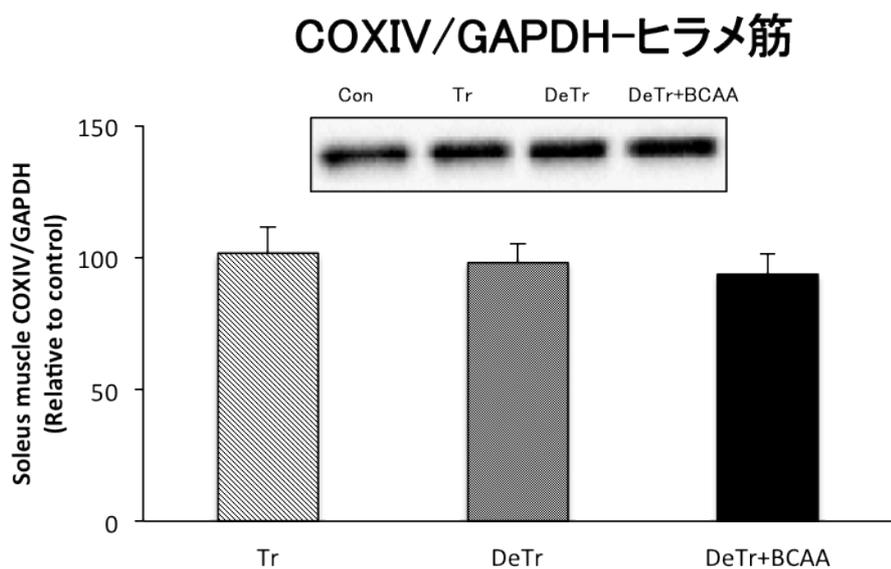


Fig.6-2 COXIVタンパク質発現量(ヒラメ筋)

4. 考察

本研究では、トレーニング休止に伴う身体機能の低下、その中でもエネルギー産生の中心的役割を担うミトコンドリアの減少を抑制する方法として分岐鎖アミノ酸(BCAA)に注目した。

4-1. 体重増加量及び摂取エネルギー量について

本研究において、全ての群で摂取エネルギー量に差が見られなかった。そのため、本実験で得られた結果は、摂取エネルギー量の違いによって起こったものではないといえる。また、体重増加量にも差が見られなかった。このことから、トレーニングやBCAAの摂取によって摂取エネルギー量が変わることは無く、その結果、体重に差が見られなかったと考えられる。食事をすることによって熱産生は高まるとされているが、その中でもタンパク質摂取による熱産生量は炭水化物や脂質摂取による熱産生量に比べて高いことが知られており(鈴木, 2001)、高タンパク質摂取によってエネルギー消費が高まることが報告されている(Crovetti et al. 1998)。また、タンパク質摂取は満腹感を満たすことも報告されており(Poppitt et al. 1998)、これらのことからタンパク質摂取量が増えることで体重の減少に影響を与える可能性が考えられ、実際に高タンパク質摂取によって体重と脂肪減少が起こるとい報告(Skov et al. 1999)もされている。本研究では、摂取エネルギー量に差は見られなかった。その理由としてアミノ酸の摂取量が考えられる。本研究ではBCAA 0.6 mg/g BW×2回/日を経口投与によって与えた。総摂取エネルギー量のうちBCAA摂取によるエネルギー摂取量は1%未満であり、体重や摂取エネルギー量に影響を与える程の量では無かった可能性が考えられる。

4-2. ミトコンドリア酵素活性及びタンパク質発現量について

ミトコンドリア酵素活性であるCS活性においては足底筋ヒラメ筋ともにCon群に比べてTr群で高値を示した。このことから本実験で用いた4週間の持続的トレーニングによってミトコンドリアの酵素活性が向上したといえる。また、Tr群に比べてDeTr群で有意に低値を示し、Con群とDeTr群に差が見られなかったことから、2週間のトレーニング休止によってミトコンドリア酵素活性が低下し、トレーニング前の状態に戻ったことが示された。しかし、足底筋及びヒラメ筋ともにDeTr+BCAA群ではCon群に比べて高値を示し、またヒラメ筋においてはDeTr群に比べてDeTr+BCAA群で高値を示した。これらのことから、トレーニングによって向上し、トレーニング休止によって低下したCS活性をBCAAの摂取によって抑制したことが明らかとなった。

CS活性と同様に、 β -HAD活性においてもCon群と比較してDeTr群で差が見られないものの、Tr群及びDeTr+BCAA群で高値を示した。このことから、持続的トレーニングによって β -HAD活性が向上し、トレーニングの休止によって元の状態に戻ることも、またトレーニングの休止の際にBCAAを摂取することによって、その低下を抑制したことが明らかとなった。

さらにミトコンドリア関連タンパク質としてCOXIVのタンパク質発現量について解析を行ったところ、足底筋についてはTr群に対してDeTr群で有意に低値を示したものの、DeTr+BCAA群とは差が見られなかった。この結果はミトコンドリア酵素活性のデータと同様に、トレーニングの休止に伴ってミトコンドリア関連のタンパク質発現量が減少すること、また、BCAAの摂取によってその減少を抑制することを示すものである。一方で、ヒラメ筋のCOXIVタンパク質発現量は、差が見られなかった。一般的に、速筋線維はミトコンドリア量が少なく酵素活性も低く、遅筋線維はミトコンドリアの量が多く酵素活性も高いことが知られている。また、

先行研究ではミトコンドリアの多い筋では AMP-activated protein kinase(AMPK)や Mitogen-activated protein kinase(MAPK)といったミトコンドリアの増加に関係するプロテインキナーゼのリン酸化がミトコンドリアの少ない筋よりも起きにくいとの報告がある(Liubicic and Hood. 2009)。このことから、速筋線維の割合の高い足底筋においては COXIV タンパク質発現量が本実験で用いた持続的トレーニングによって増加したものの、遅筋線維の割合の高いヒラメ筋においてはトレーニングの適応が起きなかったと考えられる。また、ヒラメ筋はもともと存在するミトコンドリア量が多いため、トレーニング休止による影響やトレーニング休止期のBCAA 摂取の影響を受けにくかったことが考えられる。

先行研究においては、middle-age のマウスにおいて BCAA を摂取することによってミトコンドリアを増加させ、寿命を延ばすとの報告がされている(Antona et al. 2010)。さらに、高脂肪食摂取のような代謝異常を起こす様な条件において BCAA の一つであるロイシンを摂取させることで、ミトコンドリアを増加させ、代謝異常を改善させるとの報告もある(Li et al. 2012)。これらのことから、本研究においてもトレーニング休止に伴ってミトコンドリアが減少する際に、BCAA を摂取させることによってその減少を抑制した可能性が考えられる。

4-3. 筋重量及びグリコーゲン量について

ミトコンドリア以外に運動パフォーマンスに影響を与える要因に筋肉量やグリコーゲンの貯蔵量がある。本研究において、足底筋及びヒラメ筋それぞれの筋重量に差は見られなかった。しかし、足底筋とヒラメ筋の重量の総和においては Con 群に比べて Tr 群で高値を示した。このことから、持続的トレーニングを行うことにより、走行時に主に使われる下肢の筋が肥大したと考えられる。また、Con 群と比較し DeTr 群及び DeTr+BCAA 群には差が見られなかったことから、トレーニングの休止によって筋重量がトレーニング前の値まで戻る事、トレーニング休止中に BCAA を摂取することでは筋重量の減少は抑制できないことが示された。先行研究においては、血中アミノ酸濃度の上昇によって筋タンパク質の合成が高まること(Bohe et al. 2003)、また運動前に BCAA を摂取することで、運動中の筋タンパク質の分解を抑制することが報告されている(Maclean et al. 1994)。しかし、本研究のような持続的トレーニング休止に伴う筋重量の減少には BCAA の摂取で抑制することはできないことが明らかとなった。

筋のグリコーゲン量については、前脛骨筋の赤色部位及び白色部位について測定を行った。その結果、全ての群で差は見られなかった。また、血中のグルコース濃度にも差は見られなかった。これらの結果は、持続的トレーニング休止期に BCAA を摂取してもグリコーゲン量には影響が無いことを示すものである。

5. まとめ

5-1. 本研究の限界と今後の課題

本研究の限界としてパフォーマンスの評価を行っていないことが挙げられる。本研究ではトレーニング休止期にBCAAを摂取することによってミトコンドリアの減少を抑制することを明らかにした。しかし、ミトコンドリアの減少を抑制したことによって、実際の運動パフォーマンスに改善があるかについては検討を行っておらず、今後の課題として残っている。また、なぜBCAAを摂取するとトレーニング休止に伴うミトコンドリアの減少を抑制するのか、そのメカニズムは明らかになっていない。先行研究においては、ラットから摘出した滑車筋にロイシンを添加し電気刺激を行うことによってミトコンドリア増加に関わるとされるAMPKのリン酸化が高まることが報告されている(Iwanaka et al. 2010)。また、DNAの転写・翻訳の制御や筋タンパク合成に関わるmammalian target of rapamycin (mTOR)というタンパク質キナーゼがミトコンドリアの酸化機能を制御しているという報告(Cunningham et al. 2007)がされ、mTORC1の活性化がミトコンドリア量増加のシグナルになる可能性が示唆されているが、BCAAの一つであるロイシンの摂取によって、mTORC1が活性化することも報告されている(Crozier et al. 2005)。これらのことから、BCAAを摂取することにより、ミトコンドリアの増加に関与するAMPK及びmTORC1が活性化し、トレーニング休止に伴うミトコンドリアの減少を抑制した可能性が考えられるが、詳細は明らかになっておらず、今後詳細な検討が必要である。

5-2. 本研究のまとめ

これまでは、より効率的・効果的なトレーニング方法の検討、もしくはスポーツ傷害や内科的疾患によりトレーニングの休止を余儀なくされる場合、早急な競技復帰に向けて故障した患部そのものに対する効果的な治療やリハビリテーション方法が数多く検討されてきた。それに対し、本研究はトレーニング休止期に引き起こされる持続的運動能力の低下を抑制する方法としてBCAAに着目し、持続的運動能力に大きく関わるとされるミトコンドリアがトレーニングの休止によって減少することをBCAAの摂取によって抑制した。この結果は、栄養摂取による持続的運動能力に対する効果的なリハビリテーション方法につながる有益な知見になる可能性が考えられる。

謝辞

本研究は、第12回上月財団スポーツ研究助成事業の支援により行われました。ここに深い感謝の意を表します。

参考文献

1. Fitts RH, Booth FW, Winder WW, Holloszy JO. Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization. *Am J Physiol.* 228(4):1029-33. 1975
2. Coyle EF, Martin WH 3rd, Sinacore DR, Joyner MJ, Hagberg JM, Holloszy JO. Time course of loss of adaptations after stopping prolonged intense endurance training. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 57(6):1857-64. 1984
3. Holloszy JO. Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem.* 242:2278-2282. 1967
4. Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *J Physiol.* 588:1011-1022. 2010
5. D'Antona G, Ragni M, Cardile A, Tedesco L, Dossena M, Bruttini F, Caliaro F, Corsetti G, Bottinelli R, Carruba MO, Valerio A, Nisoli E. Branched-chain amino acid supplementation promotes survival and supports cardiac and skeletal muscle mitochondrial biogenesis in middle-aged mice. *Cell Metab.* 12:362-372. 2010
6. Li H, Xu M, Lee J, He C, Xie Z. Leucine supplementation increases SIRT1 expression and prevents mitochondrial dysfunction and metabolic disorders in high-fat diet-induced obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 303:E1234-E1244. 2012
7. Lo S, Russell JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol.* 28:234-236. 1970
8. Srere PA. Citrate Synthase. *Methods in Enzymology.* 13:3-5. 1969
9. Bass A, Brdiczka D, Eyer P, Hofer S, Pette D. Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. *Eur J Biochem.* 10:198-206. 1969
10. 鈴木志保子, 樋口満. コンディショニングのスポーツ栄養学. 市村出版:54-68. 2001
11. Crovetti R, Porrini M, Santangelo A, Testolin G. The influence of thermic effect of food on satiety. *Eur J Clin Nutr.* 52:482-488. 1998
12. Poppitt SD, McCormack D, Buffenstein R. Short-term effects of macronutrient preloads on appetite and energy intake in lean women. *Physiol Behav.* 64:279-285. 1998

13. Skov AR, Toubro S, Ronn B, Holm L, Astrup A. Randomized trial on protein vs carbohydrate in ad libitum fat reduced diet for the treatment of obesity. *Int J Obes.* 23:528-536. 1999
14. Liubicic V, Hood DA. Specific attenuation of protein kinase phosphorylation in muscle with a high mitochondrial content. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 297:E749-E758. 2009
15. Bohe J, Low A, Wolfe RR, Rennie MJ. Human muscle protein synthesis is modulated by extracellular, not intramuscular amino acid availability: a dose-response study. *J Physiol.* 552:315-324. 2003
16. MacLean DA, Graham TE, Saltin B. Branched-chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise. *Am J Physiol.* 267(6 Pt 1):E1010-22. 1994
17. Iwanaka N, Egawa T, Satoubu N, Karaike K, Ma X, Masuda S, Hayashi T. Leucine modulates contraction- and insulin-stimulated glucose transport and upstream signaling events in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 108:274-282. 2010
18. Cunningham JT, Rodgers JT, Arlow DH, VazquezF, Mootha VK, Puigserver P. mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1-PGC-1alpha transcriptional complex. *Nature* 450:736-740. 2007
19. Crozier SJ, Kimball SR, Emmert SW, Anthony JC, Jefferson LS. Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle. *J Nutr.* 135(3):376-82. 2005