

トレーニングと食事制限下のタウリン投与が体重、骨格筋湿重量および骨格筋アミノ酸濃度変化に及ぼす影響

石倉恵介¹⁾, 中村祐介²⁾, 辻明宏²⁾, 宮崎照雄³⁾, 宮川俊平⁴⁾, 大森肇⁴⁾

要約

本研究は、トレーニング期に食事を制限したときの体重、骨格筋湿重量および骨格筋アミノ酸濃度動態に及ぼすタウリン投与の影響を明らかにすることを目的とした。ラットをタウリン投与群と非投与群の2群に分け、持久的トレーニングと50%の食事制限を3週間負荷した。トレーニング期の食事制限による体重減少に両群間の差を認めなかったが、タウリン投与は、体重当たりの骨格筋湿重量を減少させた。また、タウリン投与は、骨格筋タウリン濃度を高め、反対に骨格筋から他のアミノ酸を放出させ、アミノ酸濃度を低下させる拮抗調整作用を有することが推察された。

緒言

トレーニングと栄養摂取のバランスはアスリートのコンディショニング維持に重要である。過度なエネルギー制限は、除脂肪量を低下させ、筋力、グリコーゲン量、集中力、反応時間などを減少させ、障害を誘発させる¹⁾。骨格筋のタンパク質の合成・分解にはアミノ酸動態が深く関係しており、レジスタンス運動後にはアミノ酸の筋への輸送が活性化することによって、タンパク質合成率が増加する²⁾。他方、長期間のトレーニングによる骨格筋の適応は、実施するトレーニングによって異なるものの、持久的な鍛錬者は非鍛錬者に比べ骨格筋アミノ酸濃度が高値を示すとの報告がある^{3,4)}。

妊娠時に低タンパク食で飼育された母ラットから誕生した子の体重は普通食で飼育された母ラットの子と比べて誕生時の体重が40%も低い⁵⁾が、母親にタウリンを投与すると肝臓や骨格筋の多くの遺伝子発現に影響し、子の低体重を抑制する⁵⁾。一方、タウリントランスポーターをノックアウトしたマウスは、骨格筋を含む組織タウリンが著しく減少し、低体重、

筋重量低下が起こる⁶⁾。これらのことから、骨格筋の形態維持にタウリンが不可欠であることが示唆される。他方、ラットへタウリンを3週間慢性投与すると、骨格筋スレオニン、セリン、グリシン濃度を低下させるが、この低下は骨格筋特異的であることを著者らは報告した⁷⁾。タウリン投与は他の骨格筋アミノ酸に影響を及ぼすものの、その生理的意義については十分に検討されていない。

そこで、トレーニング期に食事を制限したときの体重、骨格筋重量の減少をタウリン投与が抑制すると仮説を立てて、そのときの骨格筋アミノ酸濃度動態を明らかにすることを目的とした。

方法

A. 被験動物

本研究は、筑波大学動物実験指針に基づき、動物実験倫理委員会の承認を得て実施した。被験動物として8週齢のFischer344系雄性ラット19匹（日本SLC株式会社、静岡）を用いた。

B. 群分けとタウリン投与

食事制限の目安とするために、食事制限なし群（n=3）を設け、食事制限を負荷したラットをタウリン非投与群（Without, n=8）とタウリン投与群（With, n=8）に無作為に分けた。タウリン（タウリン散「大正」、大正製薬、東京）を蒸留水に溶かし、3%タウリン水溶液を作成した。タウリン投与群には、3%タウリン水溶液を自由摂取とした。

C. 持久的トレーニング

全ラットに持久的トレーニングとして走行を負荷した。走行トレーニングはトレッドミル走運動とし、小動物用トレッドミル（FVRO.4E9S-6、富士医科産業）を用いた。1週間の予備飼育後、走運動に慣れさせる目的で1週間の走行学習を施し、その後1日60分間の長時間走行を2週間、合計3週間負荷した。

キーワード: 骨格筋アミノ酸, トレーニング, 食事制限

1:崇城大学総合教育センター 2:筑波大学体育専門学群 3:東京医科大学茨城医療センター共同研究センター 4:筑波大学体育系

*〒860-0082 熊本県熊本市西区池田4-2-2-1

E-mail: ishikura@ed.sojo-u.ac.jp

長時間走行トレーニングは、ウォーミングアップとして 18.9 m/min の速度で 5 分間、その後 21.7 m/min の速度で 55 分間の計 1 時間を週 5 回、計 10 回行った。走行トレーニングはすべて 8:00~12:00 の間に実施した。

D. 食事制限

1 週間の予備飼育後、3 週間の食餌制限を課した。食餌制限なし群の前日の摂餌量の平均から 50% 制限の給餌量を算出し⁸、毎朝 8 時に給餌した。

E. 組織の採取

一過性の運動の影響を排除するために、3 週間の持久的トレーニングの最終日から 3 日後 (72 時間後) の 8:00~12:00 の間に解剖した。一夜絶食後、ペントバルビタールナトリウム 50 mg/kg/BW を腹腔に投与し、麻酔下で頸椎脱臼を施し屠殺した。下肢のヒラメ筋、足底筋、腓腹筋をそれぞれ単離し湿重量を測定した。ラットの走運動において腓腹筋内側頭の関与が大きいことから、腓腹筋内側頭を採取し赤色部と白色部に分け、液体窒素にて速やかに凍結させた。採取した組織は分析まで、-20 °C で冷凍保存した。

F. アミノ酸濃度分析

採取した組織に対して 20 倍量の 5% TCA (trichloroacetic acid) を添加し、ホモジナズした (Homogenizer T25 Basic Ultra Turrux; Ika Japan, 奈良)。ホモジナイズしたサンプルを遠心分離 (4 °C, 6,200g, 30 分間) し除タンパクを行った。遠心分離後、上澄みを 4 倍量のジエチルエーテルで 4 回抽出しサンプルを得た^{9,10}。サンプル中のアミノ酸濃度をアミノ酸自動分析器 (JLC-500/V2, JEOL, 東京, 日本) を用いて、陽イオン交換カラムにて分離されたアミノ酸をポストラベルニンヒドリン法により発色し、570nm および 440nm で検出した。陽イオン交換樹脂カラムとして高分離 (40mm×4 段, 160mm)、溶離液としてクエン酸リチウム緩衝液を用いた。

F. 統計処理

データはすべて平均値±標準偏差で示した。体重の経時的変化、実験条件間の比較を二元配置の分散分析を行い、その後 Bonferroni の多重比較検定を行った。骨格筋湿重量、アミノ酸濃度変化においては、条件間の平均値の差を比較するにあたり、対応のない t 検定を行った。すべての統計処理において危険率の有意水準は 5% とした。

結果

A. 体重の変化

3 週間の介入前後の体重 (介入前 vs. 介入後) は、食餌制限なし群 (197.0 ± 5.0 vs. 237 ± 7.5 g)、食事制限をした非投与群とタウリン投与群でそれぞれ、(191.8 ± 5.6 vs. 138.8 ± 4.2 g)、(191.8 ± 6.5 g vs. 141.5 ± 5.1 g) であった。食事制限なしに比べて食餌制限双方で介入後の体重は有意な低値を示したが、非投与群とタウリン投与群の間には有意な差を認めなかった。

B. 骨格筋湿重量の変化

3 週間の介入後のヒラメ筋、足底筋ならびに腓腹筋の湿重量および筋湿重量を体重で除した相対値を Fig.1 に示した。3 部位の筋湿重量はタウリン投与の有無で差を認めなかった。筋湿重量/体重の相対値は、ヒラメ筋、足底筋では差を認めなかったが、腓腹筋においては非投与群に比してタウリン投与群で有意に低値を示した。

C. 腓腹筋アミノ酸濃度の変化

3 週間の介入後の腓腹筋内側頭赤色部および白色部のアミノ酸濃度をそれぞれ Table1, Table2 に示した。赤色部および白色部のタウリン濃度は非投与群に比ベタウリン投与群で有意に高値を示した。赤色部のアスパラギン酸・スレオニン・セリン・グリシン・アラニン・シトルリン・バリン・イソロイシン・チロシン・オルニチン・ヒスチジン濃度はタウリン投与群で有意に低値を示し、タンパク質を構成するアミノ酸の総計もタウリン投与群で低値を示した。白色部の尿素・スレオニン・セリン・グリシン・アラニン・シトルリン・バリン・チロシン・ヒスチジン・リジン濃度はタウリン投与群で低値を示し、タンパク質を構成するアミノ酸の総計もタウリン投与群で低値を示した。

考察

本研究において、3 週間にわたるトレーニングと 50% の食事制限によって、両群において体重は有意に減少したが、この時のタウリン投与は、仮説に反し体重減少を抑制する効果は認められず、腓腹筋の体重当たりの骨格筋湿重量を減少させた。またタウリン投与は骨格筋タウリン濃度を増加させ、他の骨格筋アミノ酸濃度を低下させた。

妊娠時の低タンパク食は子の低体重を誘発するが、タウリン投与は、肝臓と骨格筋の多くの遺伝子発現

に大きく影響を及ぼし、子の低体重を抑制するとの報告がある⁵ものの、本研究ではタウリン投与によってトレーニング期の食事制限による体重減少を抑制する効果は認められなかった。上述の先行研究においては、母親の体重を検討しておらず、タウリン投与の体重減少抑制効果は骨格筋形態形成時などに限定されるのかも知れない。

トレーニングによる骨格筋アミノ酸濃度動態を検討した研究は少ないものの、非鍛錬者に比べ鍛錬者の骨格筋アミノ酸濃度は高いとの報告がある^{3,4}。Henriksson³は骨格筋アミノ酸 11 種のうち 8 種類が非鍛錬者に比べ鍛錬者で濃度が高く、特にグルタミン酸、タウリンが有意に高いことを報告した。同様に Graham et al.⁴は非鍛錬者に比べ鍛錬者の骨格筋のグルタミン酸、タウリン、フェニルアラニン、アラニン濃度が高いと報告している。本研究において、3 週間の持久的トレーニングによる骨格筋アミノ酸濃度の上昇が推察されるが、タウリン投与群では骨格筋タウリン濃度の上昇に反して、多くのアミノ酸濃度が低値を示した。一般に骨格筋アミノ酸濃度の低下は、1) 筋タンパク分解の減少、2) 筋タンパク合成の増加、3) 不要なアミノ酸の産生低下、4) 筋への遊離アミノ酸の取り込み低下、5) 筋からの遊離アミノ酸の放出が増加、6) アミノ酸の酸化増大が考えられる¹¹。本研究において、タウリン投与群において、骨格筋湿重量/体重が低値であり、タンパク質を構成するアミノ酸濃度の総和が減少したこと、そして減少した多くのアミノ酸群は筋では酸化されないことから、タウリン投与群に認められたアミノ酸濃度の低下は、3) 不要なアミノ酸産生の低下、4) 筋への遊離アミノ酸の取り込み低下または、5) 筋からアミノ酸が放出された、ことのいずれかであると推察される。

タウリンの慢性投与は、組織タウリン濃度を上昇させる^{7,9,10}が、他のアミノ酸に及ぼす影響を検討した研究は少ない。Korang et al.¹²は、タウリンを一過性に腹腔へ注入し心血管組織の多種のアミノ酸に影響を及ぼしたことを示した。これまでに著者らは 3 週間のタウリン投与によって、骨格筋スレオニン、セリン、グルタミン濃度が低下したことを報告した⁷。一方、2 型糖尿病モデルラット Zucker は、対照群と比べ骨格筋タウリン、アラニン、バリン、ロイシン濃度が高く、スレオニン、セリン、アスパラギン、グルタミン、グリシン、チロシン、リジン、アルギニン濃度が低いとの報告がある¹³。他方、タウリ

ンの構造類似体であるグアニジノエタンサルフォン酸投与とタウリン欠乏食によって、骨格筋タウリン濃度を低下させると、スレオニン、セリン、グリシン、メチオニン、チロシン、リジン、アルギニン濃度が上昇する¹⁴。これらのことから、骨格筋内のいくつかのアミノ酸はタウリンと拮抗するように見える。

飢餓や糖尿病は肝のセリンデヒドロゲナーゼの活性上昇を引き起こす¹⁵、ことからスレオニン、セリン、グリシン濃度の低下は、これらのアミノ酸の糖新生への利用亢進が推察されている^{7,13}。Ward et al.¹⁶は、持久走によって血漿タウリン濃度が上昇し、反対にアミノ酸濃度の総和が減少したことを示し、このアミノ酸総和の減少は糖新生に用いられたと考察しており、タウリンの長時間運動時誘発性血糖低下を抑制する効果も指摘されている^{17,18}。減量時の脂肪体重維持には、食事制限のみより運動併用時の方が有効であることが知られている¹⁹。本研究で認められたタウリン群の骨格筋湿重量/体重の低値について、タウリンの拮抗作用により骨格筋分解によるアミノ酸を筋から放出し、トレーニングと食事制限下の血糖値を維持するために糖新生を亢進させた可能性が推察される。

タウリンの浸透圧調節作用²⁰はよく知られており、タウリントランスポーターをノックアウトしたマウスでは、心筋のタウリン濃度が著しく減少するものの、浸透圧調整作用の低下を補うために、グルタミン、アラニン、グリシンなどのアミノ酸濃度が代償的に増加するとの報告がある²¹。本研究のタウリン濃度増加によって、浸透圧調整作用の基質のバランスをとるために、他のアミノ酸を放出させた可能性も考えられる。加えて、タウリン投与による、不要なアミノ酸産生低下や筋への遊離アミノ酸取り込み抑制の可能性も否定できず、これらは今後の検討課題である。

まとめ

トレーニング期に食事を制限したときの体重減少にタウリン投与の抑制効果は認められず、体重当たりの骨格筋湿重量を減少させた。またこのとき、骨格筋タウリン濃度の上昇に拮抗して他の骨格筋アミノ酸濃度を放出し減少させることが推察された。

謝辞

本研究におけるタウリン散を提供いただいた大正

製薬株式会社に感謝致します。

文献

- 1) Manore Sports Med 2015, 45 Suppl 1:S83-92.
- 2) Biolo et al. Am J Physiol 1995, 268:E514-20.
- 3) Henriksson J Exp Biol 1991, 160:149-65.
- 4) Graham et al. J Appl Physiol 1995, 78:725-35.
- 5) Mortensen et al. In J biomed sci. Volume 17 Suppl 1. England; 2010:S38.
- 6) Ito et al. J Mol Cell Cardiol 2008, 44:927-37.
- 7) Ishikura et al. Journal of Sports Science and Medicine 2011, 10:306-314.
- 8) Kinzig et al. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009, 296:E282-90.
- 9) Yatabe et al. J Orthop Sci 2003, 8:415-9.
- 10) Miyazaki et al. Amino Acids 2004, 27:291-298.
- 11) Galloway et al. In J appl physiol. Volume 105. United States; 2008:643-51.
- 12) Korang et al. Pharmacology 1996, 52:263-70.
- 13) Wijekoon et al. Can J Physiol Pharmacol 2004, 82:506-14.
- 14) Marnela et al. Med Biol 1984, 62:239-44.
- 15) Kanamoto et al. Arch Biochem Biophys 1991, 288:562-6.
- 16) Ward RJ et al. Amino Acids 1999, 16:71-7.
- 17) 久保田と早乙女 応用薬理 1974, 8:887-894.
- 18) Ishikura et al. Japanese Journal of Physical Fitness Sports Medicine 2008, 57:475-484.
- 19) Douglas et al. International Journal of Obesity 1994, 18, 35-40
- 20) Thurston et al. Life Sciences 1980, 26, 1561-1568
- 21) Warsklat et al. FASEB J 2004, 18, 577-579

Figure legend

Fig. 1. Effect of 3 weeks taurine supplementation on the absolute (top) and relative (bottom) wet weights of soleus (A), plantaris (B), and gastrocnemius (C) after 3 weeks diet restriction and endurance training. Relative muscle weight, the muscle weight to body weight; □, without taurine supplementation; ■, with taurine supplementation. Values are means \pm SD (n = 8). *, Significant difference between with and without taurine supplementation ($p < 0.05$).