

運動誘発性酸化ストレスに対するアミノ酸サプリメント摂取の影響

The effect of acute exercise induced oxidative stress in amino acid supplement ingestion

渡辺 剛*, 永吉英記**, 伊藤 挙***

Tsuyoshi WATANABE *, Hideki NAGAYOSHI ** and Susumu ITO ***

はじめに

適度な運動は生活習慣病を予防・改善するとしてその有用性は広く認められている。その一方で、激しい運動は酸素摂取量の増大に伴い活性酸素種(ROS)の産生を著しく増大させると考えられている。ROSは紫外線や排気ガス、喫煙などの因子が増大するにつれ、より過剰に発生し、動脈硬化、糖尿病、癌などの生活習慣病を引き起こす要因となっていること、さらには、老化などにも関与していると考えられている。元来、生体にはROSによる傷害を抑制するために、種々の抗酸化機能が備わっている。グルタチオン(GSH)は生体内で最も豊富な抗酸化物質とされ、グルタミン酸、システイン、グリシンの3つのアミノ酸によって主に肝臓で合成される。激運動などによりROSの産生が増加する状態では生体内のGSHレベルは一過性に低下することが示されている。GSHの低下はROSによる酸化傷害を拡大させるため、生体内のGSHレベルを維持することが必要とされる。激運動を強いられるスポーツ選手ではアミノ酸サプリメントを筋肉増強や持久力の向上を目的として摂取する者が多いが、ROS産生を抑制し、健康の維持増進を目的として摂取する者は少ない。従って本研究では、代謝的ストレスが生じる激運動にお

いて、事前にアミノ酸サプリメントを摂取することによってROS増大が抑制されるかを検討する。

方 法

1. 被検者

被検者はバレーボール部に所属する男子大学生15名とし、部活動のシーズンオフで、日常生活に激しい運動を伴わない時期において、通常食を摂取するSta群7名と通常食に加えてアミノ酸サプリメントを摂取するSpu群8名に大別した。被検者らには、実験に伴う採血の目的及び採血量、回数、プライバシー等について、また、運動負荷等に伴う危険性についての説明会への参加と同意書による確認によって承認を得た。

2. アミノ酸サプリメント

アミノ酸サプリメントは、飯尾醸造株式会社が製造する玄米酢のもろみを凝縮した天然アミノ酸サプリメント(「食べる富士酢」)を使用し、体重10kgあたり3gを採血前夜の夕食時と、当日の起床後に摂取させた。一回のアミノ酸サプリメントで摂取されるアミノ酸量は、37mg/kgとした(表1)。採血当日の朝食は摂取せず、採血の2時間前に起床するよう指示した。

* 国立大学体育学部運動生理学教室 (Lab. of Exercise Physiology ,Faculty of Physical Education ,Kokushikan University)

** 国立大学大学院スポーツ・システム研究科 (Graduate school of sport system, Kokushikan University)

*** 国立大学体育学部スポーツ医科学科 (Dept. of Sport and Medical Science ,Faculty of Physical Education ,Kokushikan University)

3. 採血と運動負荷

採血は医師又は、医師による問診後に看護師によって行われ、採血したすべての血液サンプルは三菱化学ビー・シー・エルに分析を委託した。分析は、血清クレアチニナーゼ (CK)、血清乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性、血清過酸化脂質 (LPO) 濃度、アミノ酸分画 (タウリン、尿素、アスパラギン、ハイドロキシプロリン、トレオニン、セリン、アスパラギン、グルタミンサン、グルタミン、プロリン、グリシン、アラニン、シトルリン、アミノ酪酸、バリン、シスチン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェルニアラニン、ヒツチジン、リジン、トリプトファン、アルギニン) の項目について行った。採血はアミノ酸サプリメント摂取や運動負荷に影響のない条件 (Cont)、Spu群-Sta群の運動負荷前での条件 (Pre)、Spu群-Sta群の運動負荷後での条件 (After) の計3条件で行った。運動負荷は自転車エルゴメーターによるRump負荷法による最大努力運動とし、運動終了後5分後にAfter条件での採血を行った。

4. 測定条件と測定場所

測定は、温度、湿度を一定の水準で管理維持で

きる実験室内において行った。実験室の温度は25°C、湿度は40%で設定し、午前9時から午後12時に全ての測定を行った。

5. 統計処理

結果は平均値と標準偏差で示し、条件間の比較には対応のあるt検定を、群間の比較には対応のないt検定を用いた。検定の有意水準はいずれも5%未満とした。

結果と考察

本研究では、運動による酸化ストレスを誘発させる目的で自転車エルゴメーターを用いて最大努力の運動を行わせた。運動による骨格筋の機械的損傷やROSによる骨格筋細胞膜傷害作用の指標とされている血清CK活性、血清LDH活性はCont-afterと、pre-afterでSta群、Spu群のいずれも顕著に増大していることから(図1、図2)、本研究で行った自転車エルゴメーター運動は被検者らに代謝ストレスを起こさせていたと推察される。

本研究におけるアミノ酸サプリメント摂取(37mg/kg)では、Spu群の血中アミノ酸分画の

表1 一回のアミノ酸摂取量

	mg/kg
アルギニン	0.20
リジン	0.10
ヒスチジン	0.09
フェルニアラニン	0.17
チロシン	0.17
ロイシン	0.32
イソロイシン	0.16
メチオニン	0.12
バリン	0.23
アラニン	0.27
グリシン	0.18
プロリン	0.18
グルタミン酸	0.63
セリン	0.21
スレオニン	0.17
アスパラギン酸	0.35
トリプトファン	0.06
シスチン	0.10
合計	3.69

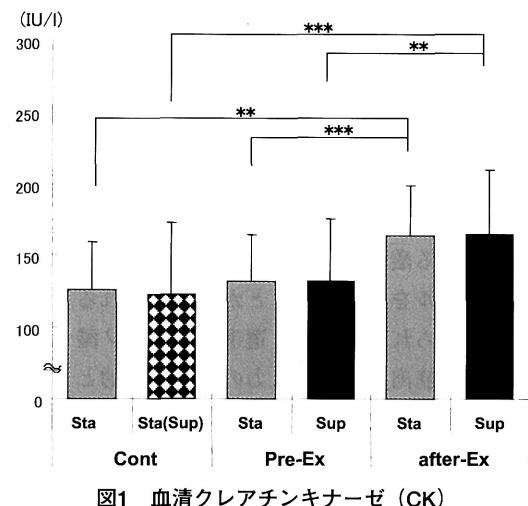


図1 血清クレアチニナーゼ (CK)

シスチン、イソロイシン、チロシン、アルギニンの4項目に有意な低下が確認された(表2, 表3)。この低下の要因に対しては、今後検討する必要があるといえる。また、Sta群とSpu群におけるPre-Afterでは、血中アミノ酸分画のいずれの値にお

いても、Afterで減少傾向が観察されること(表3)、さらに、Spu群のAfterはSta群のそれより有意な減少が確認されるアミノ酸が多いことから(表2)、Spu群では運動負荷に対するアミノ酸の代謝が促進され、その結果、血中のアミノ酸が

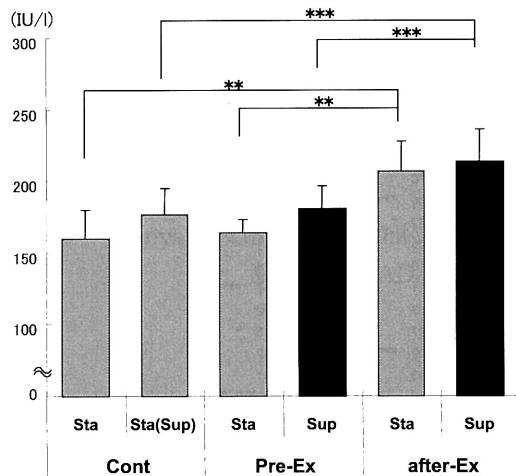


図2 血清乳酸脱水素酵素 (LDH)

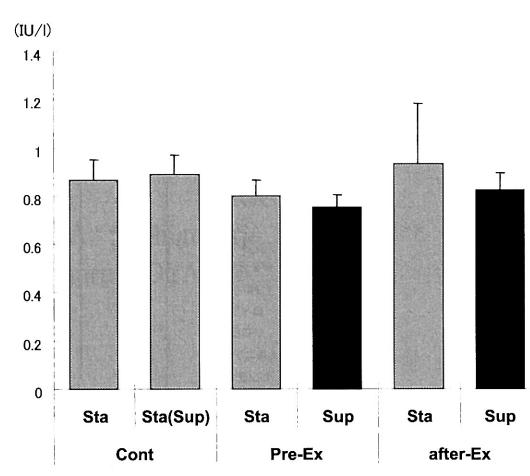


図3 血清過酸化脂質 (LPO)

表2 各条件による血中アミノ酸の平均及び標準偏差値

	Sta			Sup		
	Cont	Pre	After	Cont	Pre	After
CK	126.33 ± 32.82	132.00 ± 32.37	164.00 ± 35.21	122.38 ± 50.81	131.63 ± 43.85	164.38 ± 45.49
LDH	159.83 ± 20.53	164.33 ± 8.62	207.17 ± 20.99	176.38 ± 18.72	180.75 ± 16.38	213.25 ± 23.06
LPO	0.87 ± 0.08	0.80 ± 0.06	0.93 ± 0.25	0.89 ± 0.08	0.75 ± 0.05	0.83 ± 0.07
タウリン	75.32 ± 42.46	77.65 ± 33.10	88.68 ± 42.97	71.45 ± 11.20	76.93 ± 26.09	79.50 ± 28.21
尿素	4328.83 ± 768.94	5029.00 ± 497.51	5010.33 ± 492.40	5126.25 ± 1013.38	4603.25 ± 839.86	4604.00 ± 768.18
アスパラギン	5.97 ± 5.21	89.68 ± 203.48	6.23 ± 3.25	6.09 ± 1.57	5.44 ± 2.31	5.69 ± 2.16
ハイドロキシプロリン	18.47 ± 5.13	20.07 ± 3.14	19.67 ± 4.34	34.26 ± 43.40	17.99 ± 3.28	18.90 ± 9.64
トレオニン	133.72 ± 8.15	150.75 ± 25.60	144.28 ± 18.35	147.45 ± 28.46	150.13 ± 21.41	139.03 ± 24.47
ゼリン	139.12 ± 19.70	148.97 ± 16.40	143.87 ± 10.47	123.04 ± 34.05	144.21 ± 21.19	140.50 ± 25.43
アスパラギン	52.08 ± 5.18	54.57 ± 10.27	51.65 ± 6.70	57.56 ± 10.59	57.71 ± 7.25	53.43 ± 5.89
グルタミンサン	71.88 ± 64.64	70.13 ± 37.54	85.00 ± 45.57	144.24 ± 198.40	67.49 ± 30.41	65.73 ± 16.67
グルタミン	629.25 ± 67.08	670.53 ± 81.15	665.13 ± 85.62	566.45 ± 180.64	674.28 ± 68.97	684.11 ± 63.87
プロリン	175.45 ± 8.02	200.10 ± 33.98	198.07 ± 37.51	222.89 ± 41.85	206.96 ± 37.20	202.76 ± 37.44
グリシン	314.80 ± 23.55	330.30 ± 37.88	322.97 ± 28.78	312.11 ± 41.96	312.41 ± 37.76	328.71 ± 86.21
アラニン	407.80 ± 58.54	420.18 ± 88.84	539.08 ± 100.04	431.63 ± 65.18	438.41 ± 89.35	567.53 ± 106.89
シトルリン	38.38 ± 5.61	41.82 ± 4.13	37.95 ± 5.44	33.35 ± 9.27	38.09 ± 4.71	36.46 ± 3.15
アミノ酪酸	14.17 ± 1.30	18.83 ± 5.42	17.33 ± 4.83	15.49 ± 3.33	17.60 ± 4.32	15.41 ± 4.28
バリン	289.60 ± 27.32	291.78 ± 39.02	277.47 ± 39.63	306.10 ± 33.70	266.25 ± 37.75	255.40 ± 35.50
シスチン	43.00 ± 4.55	45.67 ± 4.52	43.63 ± 5.91	41.54 ± 5.69	37.59 ± 8.64	40.76 ± 5.31
メチオニン	33.35 ± 4.11	34.37 ± 4.42	34.45 ± 3.14	33.73 ± 3.30	31.14 ± 4.65	31.70 ± 4.64
イソロイシン	88.22 ± 11.82	94.23 ± 19.74	87.25 ± 20.55	97.39 ± 13.66	85.46 ± 14.39	79.85 ± 14.58
ロイシン	172.83 ± 18.43	180.92 ± 23.46	168.58 ± 28.65	182.76 ± 17.69	165.18 ± 27.98	158.39 ± 30.28
チロシン	69.92 ± 4.61	70.95 ± 6.70	67.63 ± 2.78	75.88 ± 6.37	67.71 ± 7.82	67.06 ± 8.50
フェルニアラニン	74.25 ± 13.83	79.75 ± 22.70	75.68 ± 15.22	73.18 ± 9.15	71.44 ± 10.52	67.79 ± 9.03
ヒツチジン	92.55 ± 6.08	97.45 ± 6.88	98.03 ± 8.08	91.23 ± 7.36	76.33 ± 30.41	93.06 ± 11.12
リジン	237.28 ± 32.75	240.58 ± 49.62	242.40 ± 56.71	249.60 ± 22.20	219.00 ± 27.80	225.31 ± 35.65
トリプトファン	58.83 ± 13.16	63.30 ± 8.27	54.52 ± 9.31	63.69 ± 11.46	60.50 ± 13.08	51.36 ± 14.14
アルギニン	101.78 ± 19.07	109.70 ± 24.33	114.03 ± 19.78	112.31 ± 14.46	90.54 ± 19.57	102.14 ± 24.08

(nmol/ml)

表3 各条件による血中アミノ酸の平均及び標準偏差値

	Sta	Sup	Sta	Sup	Sta	Sup
	Cont-Pre	Cont-Pre	Pre-After	Pre-After	Cont-After	Cont-After
CK	0.444	0.137	0.0053 ***	0.013 **	0.012 **	0.008 ***
LDH	0.622	0.339	0.0098 ***	0.001 ***	0.024	0.000 ***
LPO	0.025 **	0.001 ***	0.3177	0.020 **	0.595	0.095
タウリン	0.904	0.492	0.5368	0.792	0.661	0.416
尿素	0.068	0.013 **	0.8099	0.991	0.080	0.038 *
アスパラギン	0.361	0.356	0.3635	0.734	0.924	0.632
ハイドロキシプロリン	0.557	0.340	0.7286	0.750	0.552	0.384
トレオニン	0.222	0.740	0.2069	0.006 ***	0.322	0.199
セリン	0.130	0.267	0.4212	0.251	0.546	0.363
アスパラギン	0.411	0.974	0.2216	0.001 ***	0.797	0.313
グルタミンサン	0.957	0.337	0.4829	0.878	0.703	0.303
グルタミン	0.237	0.104	0.7605	0.451	0.237	0.119
プロリン	0.145	0.385	0.5978	0.100	0.196	0.263
グリシン	0.202	0.980	0.3113	0.636	0.497	0.679
アラニン	0.775	0.873	0.0001 ***	0.000 ***	0.027 **	0.017 **
シトルリン	0.188	0.132	0.0042 ***	0.070	0.859	0.287
アミノ酷酸	0.100	0.105	0.0283 *	0.000 ***	0.186	0.950
パリン	0.893	0.050	0.1376	0.042 *	0.475	0.020 **
シスチン	0.311	0.022 **	0.2500	0.109	0.819	0.361
メチオニン	0.652	0.240	0.9595	0.510	0.508	0.314
イソロイシン	0.504	0.021 **	0.1561	0.021	0.916	0.007 ***
ロイシン	0.349	0.096	0.1579	0.093	0.650	0.052
チロシン	0.780	0.029 **	0.2508	0.607	0.151	0.035 *
フェルニニアラニン	0.208	0.629	0.2926	0.009 ***	0.492	0.142
ヒツチジン	0.155	0.309	0.8793	0.343	0.266	0.691
リジン	0.821	0.052	0.8276	0.406	0.703	0.113
トリプトファン	0.192	0.497	0.0045 ***	0.001 ***	0.342	0.048 *
アルギニン	0.300	0.040 *	0.4769	0.092	0.217	0.412

*;P<0.05 **;P<0.03 ***;P<0.01

Sta群より減少したと考えることが出来る。

LPOは生体内のROSによる脂質の過酸化を表す酸化ストレス指標である。本研究における自転車エルゴメーター運動負荷での血清LPO濃度ではPre-Afterで上昇は観察されたが有意な上昇は確認できなかった。また、Cont-Afterでも差が認められないことから、本研究における自転車エルゴメーター運動において酸化ストレスは確認できなかった。この結果に対して、負荷量や検査法について検討の必要がある。本研究では酸化ストレスに対するアミノ酸サプリメントの影響は検討することが出来なかつたが、Spu群の運動に伴う代謝

ストレスに対する血中アミノ酸の減少の要因と、酸化ストレスと運動負荷量の関係について今後の課題としていきたい。

参考文献

- 1) 阿部岳：スズメバチ栄養液アミノ酸混合物（VAAM）のマウス持久運動における血中アミノ酸変動への作用，日本運動生理学雑誌，5(1), pp55, 1998.
- 2) 佐藤佑、鈴木省三：間欠的激運動を24時間実施した時の血中アミノ酸濃度の変動，体力科学，45(6) pp771, 1996.
- 3) 小山勝弘、武村政徳：長時間運動による血中アミノ酸動態の変化，体力科学，46(6), pp739, 1997.