研究ノート

ラットの自発運動量に及ぼす分岐鎖 アミノ酸の影響

高橋 徹三*, 村松 成司**, 弓 狩 康三***

* 筑波大学体育科学系

** 千葉大学

*** 味の素中央研究所生物科学研究所

Effect of Branched Chain Amino Acids on Voluntary Exercise in Rats

Tetsuzo TAKAHASHI,* Shigeji MURAMATSU**
and Yasumi YUGARI***

*Institute of Health and Sports Sciences,
the University of Tsukuba, Niihari-gun,
Ibaraki, 305

**College of Art and Sciences, Chiba University,
Chiba, 260

***Life Science Laboratories, Central
Research Laboratory,
Ajinomoto Co., Inc., Yokohama, 244

Nippon Eiyo Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 39, 119~123 (1986)

Branched chain amino acids (BCAA), isoleucine 25 mg, leucine 50 mg and valine 30 mg per 100 g of diet, were added to casein 10% diet and wheat gluten 30% diet. SD strain male rats (body weight 160-170 g) were raised on four kinds of diets; casein, gluten, casein+BCAA and gluten+BCAA diets, in a cage with a wheel for voluntary exercise for 31 days. After 19th day of the experiment, rats in BCAA added diet groups were given non-BCAA diets and rats in non-BCAA diet groups were given BCAA added diets. The number of revolutions of the wheel was used as the amount of the voluntary exercise. The amount of voluntary exercise was greater in casein and casein+BCAA groups than gluten and gluten+BCAA groups respectively, though the difference was not significant statistically. The amount was significantly greater in casein+BCAA group than casein group and tended to be greater in gluten+BCAA group than gluten group. The amount decreased significantly when casein+BCAA diet was changed

to casein diet, and tended to decrease when gluten+BCAA diet was changed to gluten diet. It was concluded that the addition of BCAA to the diet increased the amount of voluntary exercise in rats.

(Received August 20, 1985)

分岐鎖アミノ酸が筋肉におけるタンパク質代謝、エネルギー代謝に重要な役割を果たしていることが明らかにされつつある。分岐鎖アミノ酸の運動能力に及ぼす影響を検討することを目的に、ラットを用いて行なった実験において、分岐鎖アミノ酸が自発運動量に影響を与えることが観察されたので、ここに報告する。

実験方法

体重 160~170 g 前後の SD 系雄ラット 40 匹を用いた。これらをタンパク源として牛乳カゼインを用いたカゼイン群と小麦グルテンを用いたグルテン群の 2 群に分け、さらにそれぞれの群を飼料に分岐鎖アミノ酸 (branched chain amino acid, BCAA) を添加した群と無添加の群とに分けた。これら 4 群にそれぞれ運動群と対照群をおいた。合計 8 群の実験群に、5 匹ずつのラットを平均初体重ができるだけ均一になるように割り当てた。

運動群は自発運動のための回転輪を備えたケージ (回転式運動量測定器, ANAC-70-II, 岡崎産業) で飼育し、毎日午後 4 時に 1 日の自発運動量 (回転数) を記録した。なお、群分けに当たっては、あらかじめ各ラットの自発運動量を測定し、各群の平均自発運動量になるべく同じになるように考慮した。対照群は比較的狭い 5 連ケージ (MR-9, 岡崎産業) で個別に飼育したもので、積極的に運動ができるようにした運動群 (exercise group) に対し、座業群 (sedentary group) ともいうべきものである。なお、対照群をおいたのは、自発運動量のみならず、運動の影響などに関する項目についても検討する計画であったためである。

実験食組成を Table 1 に示した。BCAA の添加量は、肝性昏睡患者に対する輸液の組成、投与量¹⁾を参考にしきめた。実験開始から 19 日目以降、BCAA 添加群に BCAA 無添加食を、BCAA 無添加群に BCAA 添加食を与え、実験食内容を逆にして、引きつづき 31 日まで飼育した。飼料、水は自由摂取とし、飼料は毎日午後 5 時に与え、翌日午後 3 時に残食をとり出した。飼育環境は、室温 22±1℃、湿度 55±5% で、照明は午前 8 時~午後 8 時を明、他の時間帯を暗とした。

体重を毎日午後 3 時に測定した。1 日の自発運動量

* 〒305 茨城県新治郡桜村天王台 1-1-1

** 〒260 千葉市弥生町 1-33

*** 〒244 横浜市戸塚区前田町 214

Table 1. Experimental diet composition.

	Groups			
	Casein	Casein + BCAA ^a	Gluten	Gluten + BCAA ^a
Casein	10	10	—	—
Gluten	—	—	30	30
Corn oil	20	20	20	20
Corn starch	64	64	44	44
Mineral mix. ^b	5	5	5	5
Vitamin mix. ^c	1	1	1	1
	100	100	100	100

^a Branched chain amino acid : Mixture of Ile 25 mg, Leu 50 mg and Val 30 mg.

^b Minerals in 100 g of mixture : CaHPO₄ 2H₂O 14.56 g, KH₂PO₄ 25.72 g, NaH₂PO₄ H₂O 9.35 g, NaCl 4.66 g, Ca-lactate 35.09 g, Fe-citrate 3.18 g, MgSO₄ 7.17 g, ZnCO₃ 0.11 g, MnSO₄ 4-6H₂O 0.12 g, CuSO₄ 5H₂O 0.03 g, KI 0.01 g.

^c Vitamins in 100 g of mixture : A-acetate 50,000 IU, D₃ 10,000 IU, B₁-HCl 120 mg, B₂ 400 mg, B₆-HCl 80 mg, B₁₂ 0.05 mg, C 3,000 mg, E-acetate 500 mg, K₂ 520 mg, D-biotin 2 mg, Folic acid 20 mg, Ca-pantothenate 500 mg, *p*-Amino benzoic acid 500 mg, Nicotinic acid 600 mg, Inositol 600 mg, Choline-chloride 20,000 mg.

Table 2. Changes in body weight.

	1st day (Initial)	18th day (Food change)*	31st day (Final)
Control			
Casein	160.0 ± 4.8	232.3 ± 7.1	270.4 ± 10.4 ^a
Casein + BCAA	164.5 ± 6.8	235.1 ± 5.6	274.0 ± 11.4 ^b
Gluten	171.2 ± 2.7	230.5 ± 3.6	273.0 ± 6.8 ^c
Gluten + BCAA	168.7 ± 4.8	228.9 ± 5.2	279.5 ± 9.2 ^d
Exercise			
Casein	159.6 ± 5.6	208.8 ± 5.8	247.2 ± 8.3 ^{a'}
Casein + BCAA	161.8 ± 1.3	202.5 ± 6.8	239.8 ± 16.8 ^{b'}
Gluten	170.5 ± 10.5	205.0 ± 11.7	239.0 ± 11.6 ^{c'}
Gluten + BCAA	169.8 ± 6.1	200.1 ± 1.4	239.6 ± 4.3 ^{d'}

Mean ± S.D., g.

* Food change from BCAA added diet to non-BCAA diet and from non-BCAA diet to BCAA added diet was conducted on and after 19th day.

Significant difference : a vs a', b vs b' $p < 0.01$; c vs c', d vs d' $p < 0.001$.

(回転数)を毎日午後4時に記録した。なお、18日目に遊泳持久力テストを試みたが、結果にばらつきが大きく、実験群間に一定の傾向がみられなかったので、1日でテストを中止した。

結果および考察

1. 体重増加量

初体重、18日目(飼料切換え前日)の体重および最終体重を Table 2 に示した。

実験計画の段階で、運動能力などに及ぼすタンパク質の質の影響をも検討する目的で、動物性タンパク質として牛乳カゼイン、植物性タンパク質として小麦グルテンを用いることにしたが、成長の差が運動能力などの実験結果に影響することをできるだけ防ぐため、タンパク質の質は異なってもなるべく同じ成長がえられるように、飼料中カゼインとグルテンのレベルについて検討し、それぞれ 10% と 30% にした。実験の結果は、カゼイン 10% 飼料とグルテン 30% 飼料とでほぼ同じ体重増加が

Table 3. Mean daily amount (revolution) of voluntary exercise for 13 days (5-17 days).

	Group			
	Casein	Casein + BCAA	Gluten	Gluten + BCAA
	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)
	6,127	17,124	2,196	9,131
	9,151	17,226	5,525	9,551
	9,475	17,568	9,105	12,371
	11,050	17,582	12,183	17,764
	15,953	24,139	13,358	21,620
Mean	10,351 ^a	18,728 ^b	8,455 ^c	14,087 ^d
(S.D.)	(3,603)	(3,032)	(4,637)	(5,439)

Significant difference : a vs b ($p < 0.01$).No significant difference : c vs d ($p < 0.1$), a vs c, b vs d.

みられた。

18日目(飼料切換え前日)までの体重増加量は、運動群、対照群ともに、BCAA 添加群と BCAA 無添加群とで差がなく、BCAA の添加は体重増加に対し影響を及ぼさなかった。

運動群は、それぞれ対応する対照群にくらべて体重が有意に軽かった。強制運動ではなく自発運動で、しかも自由摂食という条件においても、運動群のほうが体重が軽かったことはすでに報告した²⁾³⁾結果と一致する。

2. 自発運動量

各群の自発運動量の経日変化を平均値で Fig.1 に示した。自発運動量は、14～15日目までしだいに増加する傾向がみられた。18日目に自発運動量が著しく低下したのは、遊泳持久力テストのためである。実験方法において述べたように、18日目に遊泳持久力テストを行なったが、各実験群間に特記すべき差はみいだされず、1回でテストを中止し、19日目から実験食の内容を入れ換えた。19日目の自発運動量は、ほぼ遊泳テスト前の値にもどっていた。なお、遊泳テストの際(グルテン+BCAA)群のラットの1匹が死亡したため、19日目以降の同群の値は4匹の平均値である。自発運動量は、BCAA 添加群を BCAA 無添加群に切り換えた場合には減少の傾向が、BCAA 無添加群を BCAA 添加群に切り換えた場合には増大の傾向があり、4群の値は近づく傾向がみられた。

飼料切換えまでの4群の自発運動量を比較すると、(カゼイン+BCAA)群>(グルテン+BCAA)群>カゼイン群>グルテン群の順に多く、BCAA 添加群のほうが無添加群より、また、カゼイン群のほうがグルテン群より多い傾向がみられた。(カゼイン+BCAA)群とカゼイン群との間に、6日目($p < 0.2$)、9日目($p < 0.1$)、14

Fig.1. Changes in voluntary exercise.

^a Food change from BCAA addition diet to BCAA non-addition diet and from BCAA non-addition diet to BCAA addition diet was conducted on and after 19th day.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$: comparison between Casein group and (Casein+BCAA) group.

$p < 0.05$: comparison between Gluten group and (Gluten+BCAA) group.

日目($p < 0.1$)を除き、5～17日目の間、有意差がみられた。(グルテン+BCAA)群とグルテン群の間には、17日目のみ有意差がみられた。5～17日目の13日間の自発運動量の平均値を Table 3 に示したが、自発運動量は、BCAA の添加により、カゼイン食の場合は有意($p < 0.01$)に増加し、グルテン食の場合には増加の傾向($p < 0.1$)がみられた。カゼイン群はグルテン群より、(カゼイン+BCAA)群は(グルテン+BCAA)群より自発

Table 4. Changes in the amount of voluntary exercise due to food change.

	Casein→ Casein+BCAA (n=5)	Casein+BCAA →Casein (n=5)	Gluten→ Gluten+BCAA (n=5)	Gluten+BCAA →Gluten (n=4)
	2,259	-3,653	4,687	907
	-927	-2,763	1,470	-3,697
	-4,751	-2,483	874	—
	-177	-10,643	-55	-10,119
	1,635	-10,932	-221	-9,438
Mean	-392 ^a	-6,095 ^b	1,351 ^c	-5,587 ^d
(S.D.)	(2,760)	(4,307)	(1,989)	(5,200)

Significance : ^a N.S., ^b $p < 0.05$, ^c N.S., ^d N.S. ($p < 0.1$).

運動量が多かったが、その差は有意ではなかった。

飼料切換えによる影響をみるため、各ラットについて、飼料切換え前の終りの5日間(13~17日目)の平均値と、切換え後の実験の終りの5日間(27~31日目)の平均値の差を Table 4 に示した。(カゼイン+BCAA) 食からカゼイン食に切り換えた群では自発運動量は有意に($p < 0.05$) 減少し、(グルテン+BCAA) 食からグルテン食に切り換えた群では減少の傾向($p < 0.1$) がみられた。

以上、BCAA 添加飼料摂取時のほうが BCAA 無添加飼料摂取時よりも自発運動量が多いことが観察され、この傾向はタンパク源がカゼインの場合に明らかであった。ただし、Table 4 にみられるように、BCAA 無添加群を BCAA 添加群に切り換えたときは、BCAA の添加にもかかわらず、個々のラットをみると、カゼインの場合もグルテンの場合も、自発運動量は必ずしも増加せず一定の傾向がみられなかった。この理由については明らかではない。より長期の観察が必要であったように思われる。

Goldberg ら⁴⁾ は筋肉運動における BCAA の重要な役割について述べている。Odessey ら⁵⁾ は筋肉でのアラニンの生成と BCAA の分解に関する研究から BCAA-アラニンサイクルの存在を示唆し、Rennie ら⁶⁾、Millward ら⁷⁾、福島ら⁸⁾ はヒトに $1\text{-}^{13}\text{C}$ -ロイシンを投与し、運動時に BCAA の酸化(呼吸への $^{13}\text{CO}_2$ 排泄量)が増加することを認めている。また、根本ら⁹⁾ はスケート選手の強化合宿中 BCAA を投与した実験群の選手は投与期間前に比し、 $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ が有意に増大したのに対し、BCAA 非投与の対照群では有意な増大が認められなかったと報告し、村松ら¹⁰⁾ は柔道選手の合宿訓練時に BCAA 投与群と非投与群を設け、訓練期間前後の諸指標を比較したところ、自転車エルゴメータでのオールアウトに至るまでの総仕事量が、BCAA 投与群では有意に増加したが、非

投与群では増加が認められなかったと報告している。このようなヒトでのパフォーマンスの向上の原因については不明であるが、BCAA の補添供与が筋肉のエネルギー代謝に好影響を与えたことが一要因として考えられる。飼料に対する BCAA の添加がラットの自発運動量を増加させたという今回の実験結果も BCAA の筋肉でのエネルギー代謝に対する影響を介してもたらされたという可能性も考えられる。一方、Wurtman ら¹¹⁾ は、脳へのトリプトファンの取込みに対してトリプトファンは他の中性アミノ酸とせり合い、脳のトリプトファンレベルは血漿中チロシン、フェニールアラニン、BCAA (ロイシン、イソロイシン、バリン) の合計に対するトリプトファンの比により調節されるという仮説を提出している。この仮説によると、BCAA 添加飼料の摂取が脳内のトリプトファン、セロトニン、5-ヒドロキシインドール酢酸等のレベルに影響し、これが行動に反映されたとする考えも不可能ではない。ただし、今回、BCAA 添加飼料を摂取したラットに、自発運動量の増大以外に異常な行動は認められなかった。

タンパク源は、カゼインの場合のほうがグルテンの場合より、自発運動に対する BCAA 添加の影響がより明らかに認められたが、その原因としては、飼料中カゼイン含量が 10% であるのに対しグルテンは 30% であり、BCAA を含むアミノ酸量は、カゼイン食のほうが少ないにもかかわらず、カゼイン食とグルテン食に同量の BCAA を添加したので、相対的な BCAA 添加量はカゼイン食のほうが多かったことが影響したと考えられ、また、カゼイン、グルテンのアミノ酸組成のちがひによる影響も考えられる。

今回観察された現象の原因、機作については今後、検討、解明を進める必要がある。

要 約

体重 160~170 g 前後の SD 系雄ラットを用いた。10%カゼイン食, 30%小麦グルテン食, それぞれに BCAA (飼料 100 g 当たりイソロイシン 25 mg, ロイシン 50 mg, バリン 30 mg) を添加したもの, 合計 4 種類の飼料群をおき, それぞれに運動群, 対照群をおいた。運動群は自発運動のための回転輪のついたケージで, 対照群は通常の 5 連ケージで, 個別に飼育した。19 日目にそれまでの BCAA 無添加群に BCAA 添加食を, BCAA 添加群に BCAA 無添加食を与えるという飼料の切換えを行ない, 31 日目まで飼育した。えられた主要な結果は次のとおりである。

(1) タンパク源を 10% カゼインにした場合と 30% グルテンにした場合とで, ほぼ同じ体重増加がえられた。

(2) 運動群, 対照群ともに BCAA の添加は体重増加に対し影響を及ぼさなかった。

(3) 運動群は, それぞれ対応する対照群にくらべ体重は有意に軽かった。

(4) 自発運動量は, (カゼイン+BCAA) 群はカゼイン群より有意に多く, (グルテン+BCAA) 群はグルテン群より多い傾向がみられた。

(5) タンパク源がカゼインの場合はグルテンの場合より自発運動量が多い傾向がみられたが, その差は有意ではなかった。

(6) (カゼイン+BCAA) 食からカゼイン食に切り換えたときは自発運動量は有意に減少し, (グルテン+BCAA) 食からグルテン食に切り換えたときは減少の傾

向がみられた。

以上の結果から, 飼料への BCAA の添加は自発運動量を増加させるという結論がえられた。

文 献

- 1) 武藤泰敏, 吉田 貢, 山藤正広: 日本医事新報, 3101, 3 (1983)
- 2) 村松成司, 高橋徹三, 鈴木正敏, 小尾裕志, 宮元章次: 筑波大学体育科学系紀要, 6, 217 (1983)
- 3) 高橋徹三, 村松成司, 鈴木正敏: 筑波大学体育科学系紀要, 7, 209 (1984)
- 4) Goldberg, A.L. and Chang, T.W.: *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 37, 2301 (1978)
- 5) Odessey, R., Khairallah, E.A. and Goldberg, A.L.: *J. Biol. Chem.*, 249, 7623 (1974)
- 6) Rennie, M.J., Edwards, R.H.T., Krywawych, S., Davies, C.T.M., Halliday, D., Waterlow, J.C. and Millward, D.J.: *Clin. Sci.*, 61, 627 (1981)
- 7) Millward, D.J., Davies, C.T.M., Halliday, D., Wolman, S.L., Matthews, D. and Rennie, M.: *Fed. Proc. Fed. Soc. Exp. Biol.*, 41, 2686 (1982)
- 8) 福島秀夫, 飯島潤一, 合田浩二, 三輪泰子, 大地隆子, 織田敏次: 必須アミノ酸研究, 101, 43 (1984)
- 9) 根本 勇, 吉岡伸彦, 山本正嘉, 武藤芳照, 宮下充正: *Jpn. J. Sports. Sci.*, 4, 209 (1985)
- 10) 村松成司, 片岡幸雄, 徳山郁夫, 高橋徹三, 山田哲雄, 服部洋児: 千葉体育学研究, 7, 7 (1984)
- 11) Wurtman, R.J. and Fernstrom, J.D.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 28, 638 (1975)

(昭和 60 年 8 月 20 日受理)