

学 位 論 文 題 名

競走馬の大腿部筋タンパク質の合成および 分解速度に関する研究

学位論文内容の要旨

競走馬の経済価値を高めるためには走能力を向上させる必要がある。走能力は基本的に筋肉量に規定される以上、その向上には筋肥大が重要となる。筋肉組織では筋タンパク質の合成と分解が同時に起こるため、筋肥大は筋タンパク質の合成と分解の差分の増加であると解釈できる。ヒトやイヌを用いた研究により、運動後にアミノ酸およびグルコースを摂取させることによって筋タンパク質へのアミノ酸の正味の取り込み量（筋タンパク質の合成と分解の差分）が増加することが報告されている。その機序は、1）運動後は筋タンパク質合成亢進の効果を持つ成長因子ホルモンやインスリンなどの分泌が増加する、2）運動の物理的刺激はそれらのホルモンに対する筋肉組織の感受性を高める、3）摂取したアミノ酸は筋タンパク質の材料となる以外に特に分岐鎖アミノ酸は筋タンパク質の合成を亢進させる、4）グルコースの摂取は膵臓からのインスリン分泌を向上させ筋タンパク質の分解を抑制する、ことによることが明らかにされている。このような運動による筋タンパク質合成の亢進の効果と、栄養摂取による合成亢進・分解抑制効果の両者の相乗効果を、競走馬の調教・栄養管理に利用することが可能であれば、競走馬に求められる筋肥大が期待される。しかしながら、ウマにおける運動と栄養処方による筋タンパク質の合成や分解への影響について研究された例はない。したがって、ウマにおける運動と栄養処方が筋タンパク質の合成や分解に及ぼす効果とその機序について明らかにする必要がある。筋タンパク質の合成・分解速度の研究は、ヒトや実験動物では安定同位体アミノ酸を用いた動静脈差法にて行われているが、ウマにおいてこれらが測定された例もなく、その方法論も確立されていない。そこで、本研究はウマにおける安定同位体アミノ酸による筋タンパク質の合成（Rd）・分解速度（Ra）測定法を確立し、その方法により競走馬における Rd および Ra の運動に伴う変化、および運動後のアミノ酸およびグルコース投与による Rd および Ra に対する影響について、サラブレッド種成馬のべ 30 頭を供試し検討した。

結果は次のように要約される。

（1）「大腿部筋の筋タンパク質の合成および分解速度の測定方法の検討」

ウマの Rd および Ra を測定するにあたり、外腸骨静脈の採血方法、安定同位体アミノ酸として L-[ring- $^2\text{H}_5$]-フェニルアラニンの注入方法、および大腿部動脈血流量の測定方法を検討した。外腸骨静脈の採血は、伏在静脈（脛骨の中間より 10 cm 上）にカテーテルを留置後、75cm の深さでカテーテルを挿入することで可能であることを確認した。L-[ring- $^2\text{H}_5$]-フェニルアラニンの注入速度は $3.3\mu\text{mol}/\text{h}/\text{kg}$ （初期注入； $2.2\mu\text{mol}/\text{kg}$ ）が適当であり、フェニルアラニンエンリッチメント（生体アミノ酸

と注入同位体アミノ酸の存在比)は、プライムドーズ法を用いることで注入開始から約 75 分で安定状態に達した。大腿部動脈血流量は超音波診断装置により測定が可能であり、同一の者が測定を行うことで測定誤差は減少した。

(2)「運動前後における大腿部筋タンパク質の合成および分解速度の変化」

サラブレッド種成馬 5 頭を用い、(1) で確立した測定方法により運動前後における大腿部筋タンパク質の R_d および R_a の変化について検討した。供試馬の運動はトレッドミル (主運動 5 分間、 $85\%VO_{2max}$) 上で行った。

運動後の R_d および R_a は運動前のそれらと比べて差はなかった。しかし、運動後の時間経過にともない R_a は低下する傾向が伺われ、 R_a の減少と動脈血漿中インスリン濃度の変化との間に負の相関 ($P < 0.05$) が見られた。大腿部筋におけるグルコースのネットバランスは、運動前に比べて運動後に減少 (放出が増加) し ($P < 0.05$)、遊離脂肪酸のネットバランスは運動前に比べて運動後に増加した ($P < 0.05$)。これは、運動直後には筋肉組織でのエネルギー需要が高まったため、筋肉内グリコーゲンがグルコースに分解・遊離し、筋肉組織への遊離脂肪酸の取り込みが増えたためと考えられた。アミノ酸の筋肉組織への取り込みは運動後に増加する傾向があったが、これによる R_d の亢進は見られなかった。

(3)「運動後のアミノ酸およびグルコース投与が大腿部筋タンパク質の合成および分解速度に及ぼす影響」

サラブレッド種成馬 6 頭を用い、(2) と同様の方法で運動負荷を与えた。運動直後から生理食塩水 (Con 区)、10%総合アミノ酸溶剤 (10-AA 区)、10%グルコース (10-Glu 区)、5%総合アミノ酸+5%グルコースの混合溶剤 (5-Mix 区) および 10%総合アミノ酸+10%グルコースの混合溶剤 (10-Mix 区) を頸静脈に連続投与 (120 分間) して、これらが大腿部筋タンパク質の R_d および R_a に及ぼす影響を検討した。また、動脈血漿中のインスリンならびに成長ホルモン濃度の変化を同時に測定し、これらと筋タンパク質の合成および分解との関連についても検討した。

10-AA 区および 10-Mix 区では、運動前に比べて運動後に R_d が顕著に増加し ($P < 0.05$)、5-Mix 区では若干の増加傾向が認められた。10-Glu 区では Con 区と同様に R_d に大きな変化は見られなかった。10-AA 区および 10-Mix 区の R_d は投与開始の 15~60 分後では同様の増加を示し、75~120 分後においては 10-Mix 区ではさらに増加したが、10-AA 区では減少した。75~120 分後の R_d は 10-Mix 区が 10-AA 区より高かった ($P < 0.05$)。一方、 R_a については、投与開始後 15~120 分で 5-Mix 区、10-Mix 区および 10-AA 区の処理間に差はなかった。全ての処理区の動脈血漿中分岐鎖アミノ酸濃度と R_d の結果をまとめると、両者の間に正の相関が認められた ($P < 0.01$)。これらの結果から、運動後のアミノ酸の供給はその量に応じて大腿筋タンパク質の合成を亢進し、グルコースの同時供給はその効果を高めることが示唆された。

10%グルコースを投与した処理 (10-Glu, 10-Mix) では、動脈血漿中のインスリン濃度が投与後増加したが、10-Glu において筋タンパク質の合成亢進が見られなかったことからインスリンの分泌のみでは筋タンパク質の合成の亢進効果がなかったと考えられた。成長ホルモンの分泌は運動後に上昇したが、処理による影響がみられず、筋タンパク質の合成および分解との関連性は明確でなかった。

以上の結果から、 $L\text{-}[\text{ring-}^2\text{H}_5]\text{-フェニルアラニン}$ をトレーサーに用いた動静脈差法によりウマ大腿部筋タンパク質の合成および分解の測定が可能となった。またこの方法を用いた検討により、一般的な

競走馬のトレーニングにおける運動強度の負荷を行った場合に、筋タンパク質の合成および分解速度には運動による影響がみられなかった。しかしながら、アミノ酸とグルコースを運動後に併用投与することにより筋タンパク質の合成は亢進することが明らかとなった。このことから競走馬の筋肥大には運動後のアミノ酸とグルコース（炭水化物）の補給は有効であり、競走馬の筋肥大に資する運動とそれに付随する栄養管理の提言が可能となった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 近 藤 誠 司

副 査 教 授 服 部 昭 仁

副 査 教 授 小 林 泰 男

副 査 助 教 授 小 櫃 剛 人 (広島大学大学院生物圏
科学研究科)

副 査 助 教 授 上 田 宏 一 郎

学 位 論 文 題 名

競走馬の大腿部筋タンパク質の合成および 分解速度に関する研究

本論文は7章からなり、図29、表13、引用文献213を含む、総頁数153の和文論文であり、別に9編の参考論文が添えられている。

競走馬の経済価値を高めるためには走能力を向上させる必要がある。走能力は基本的に筋肉量に規定される以上、その向上には筋肥大が重要となる。筋肉組織では筋タンパク質の合成と分解が同時に起こるため、筋肥大は筋タンパク質の合成と分解の差分の増加であると解釈できる。ヒトやイヌを用いた研究により、運動後にアミノ酸およびグルコースを摂取させることによって筋タンパク質へのアミノ酸の正味の取り込み量（筋タンパク質の合成と分解の差分）が増加することが報告されている。このような運動による筋タンパク質合成の亢進の効果と、栄養摂取による合成亢進・分解抑制効果の両者の相乗効果を、競走馬の調教・栄養管理に利用することが可能であれば、競走馬に求められる筋肥大が期待される。しかしながら、ウマにおける運動と栄養処方による筋タンパク質の合成や分解への影響について研究された例はない。そこで、本研究はウマにおける安定同位体アミノ酸による筋タンパク質の合成(Rd)・分解速度(Ra)測定法を確立し、その方法により競走馬におけるRdおよびRaの運動に伴う変化、および運動後のアミノ酸およびグルコース投与によるRdおよびRaに対する影響について、サラブレッド種成馬のべ30頭を供試し検討した。得られた結果の概要は、以下のとおりである。

(1)「大腿部筋の筋タンパク質の合成および分解速度の測定方法の検討」

ウマのRdおよびRaを測定するにあたり、外腸骨静脈の採血方法、安定同位体アミノ酸としてL-[ring-²H₅]-フェニルアラニンの注入方法、および大腿部動脈血流量の測定方法を検討した。外腸骨静脈の採血は、伏在静脈にカテーテルを留置後、75cmの深さでカテーテル

を挿入することで可能であることを確認した。L-[ring- $^2\text{H}_5$]-フェニルアラニンの注入速度は $3.3\mu\text{mol} / \text{h} / \text{kg}$ (初期注入; $2.2\mu\text{mol} / \text{kg}$) が適当であり、フェニルアラニンエンリッチメント (生体アミノ酸と注入同位体アミノ酸の存在比) は、プライムドーズ法を用いることで注入開始から約 75 分で安定状態に達した。大腿部動脈血流量は超音波診断装置により測定が可能であり、同一の者が測定を行うことで測定誤差は減少した。

(2) 「運動前後における大腿部筋タンパク質の合成および分解速度の変化」

サラブレッド種成馬 5 頭を用い、運動前後における大腿部筋タンパク質の Rd および Ra の変化について検討した。供試馬の運動はトレッドミル (主運動 5 分間, $85\%\text{VO}_{2\text{max}}$) 上で行った。

運動後の Rd および Ra は運動前のそれらと比べて差はなかった。しかし、運動後の時間経過にともない Ra は低下する傾向が何われ、Ra の減少と動脈血漿中インスリン濃度の変化との間に負の相関が見られた。大腿部筋におけるグルコースのネットバランスは、運動前に比べて運動後に減少 (放出が増加) し、遊離脂肪酸のネットバランスは運動前に比べて運動後に増加した。アミノ酸の筋肉組織への取り込みは運動後に増加する傾向があったが、これによる Rd の亢進は見られなかった。

(3) 「運動後のアミノ酸およびグルコース投与が大腿部筋タンパク質の合成および分解速度に及ぼす影響」

サラブレッド種成馬 6 頭を用い、(2) と同様の方法で運動負荷を与えた。運動直後から生理食塩水 (Con 区)、10% 総合アミノ酸溶剤 (10-AA 区)、10% グルコース (10-Glu 区)、5% 総合アミノ酸 + 5% グルコースの混合溶剤 (5-Mix 区) および 10% 総合アミノ酸 + 10% グルコースの混合溶剤 (10-Mix 区) を頸静脈に連続投与 (120 分間) して、これらが大腿部筋タンパク質の Rd および分 Ra に及ぼす影響を検討した。

10-AA 区および 10-Mix 区では、運動前に比べて運動後に Rd が顕著に増加し、5-Mix 区では若干の増加傾向が認められた。10-Glu 区では Con 区と同様に Rd に大きな変化は見られなかった。10-AA 区および 10-Mix 区の Rd は投与開始の 15~60 分後では同様の増加を示し、75~120 分後においては 10-Mix 区ではさらに増加したが、10-AA 区では減少した。75~120 分後の Rd は 10-Mix 区が 10-AA 区より高かった。一方、Ra については、投与開始後 15~120 分で 5-Mix 区、10-Mix 区および 10-AA 区の処理間に差はなかった。全ての処理区の動脈血漿中分岐鎖アミノ酸濃度と Rd の結果をまとめると、両者の間に正の相関が認められた。これらの結果から、運動後のアミノ酸の供給はその量に応じて大腿筋タンパク質の合成を亢進し、グルコースの同時供給はその効果を高めることが示唆された。

10% グルコースを投与した処理 (10-Glu, 10-Mix) では、動脈血漿中のインスリン濃度が投与後増加したが、10-Glu において筋タンパク質の合成亢進が見られなかった。成長ホルモンの分泌は運動後に上昇したが、処理による影響がみられず、筋タンパク質の合成および分解との関連性は明確でなかった。

以上のように本研究は、ウマにおける運動と栄養処方による筋タンパク質の合成や分解への影響について追究し、一般的な競走馬のトレーニングにおける運動強度の負荷を行った場合、アミノ酸とグルコースを運動後に同時投与することにより筋タンパク質の合成は亢進す

ることを明らかとした。この成果は、競走馬の筋肥大に資する運動とそれに付随する栄養管理について新たな知見を示したものであり、学術面において高く評価され、競走馬の飼養管理への応用面での貢献度も大きい。

よって審査員一同は、松井 朗が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。