

牛乳および乳タンパク質が ラット骨格筋および肝臓のグリコーゲン超回復に及ぼす影響 Effect of milk or milk protein on glycogen supercompensation in rat skeletal muscle and liver

早稲田大学スポーツ科学学術院
早稲田大学大学院人間科学研究科

樋口 満
園生 智広

キーワード：牛乳、乳タンパク、運動、骨格筋、肝臓、グリコーゲン

要 約

運動前に骨格筋ならびに肝臓のグリコーゲン濃度をより高めておくことは、持久性パフォーマンスに効果的であると考えられている。糖質はタンパク質と同時に摂取することで、骨格筋への取り込みが高まり、筋グリコーゲンの回復に効果的である可能性が示唆されている。そして、近年では、牛乳由来のタンパク質、特にホエイタンパク質の研究が盛んに行なわれているが、牛乳自体を摂取した場合のエネルギー基質の回復に及ぼす影響は明らかではない。本研究の目的は、運動後に牛乳を摂取することが、骨格筋および肝臓のグリコーゲン再合成、さらには超回復に及ぼす影響を検討することであった。実験にはSD系オスラットを用いた。全てのラットには、1週間の水泳運動トレーニングを行わせ十分にトレーニングされた状態にて、グリコーゲンを一旦減少させる目的で一過性的水泳運動を行わせた。その後、通常飼料に加えて、飲料として牛乳もしくは無脂肪乳、ならびに我々の先行研究でもっとも効果的に筋グリコーゲン超回復を惹起する5%のグルコース溶液を摂取させ、7時間もしくは24時間グリコーゲンを回復させた。その結果、牛乳および無脂肪乳を飲料として摂取した場合では、安静レベルにまでには筋グリコーゲンが回復するものの、グルコース溶液を摂取した場合ほどには、筋グリコーゲン超回復が生じない可能性が示唆された。

1. 序 論

糖質は、脂質と並び、運動中の主なエネルギー源である。食事によって摂取された糖質は、グリコーゲンという形態で骨格筋や肝臓に貯蔵されているが、その貯蔵量は脂肪に比べて少ない。Bergström et al. や Ahlborg et al. の1967年の研究で、運動前の筋グリコーゲン濃度が高いほど運動継続時間が長くなることが報告されている。また、肝臓のグリコーゲンの枯渇と、それに伴って血清グルコース濃度が低下することが、疲労困憊の要因の一つである可能性が示されている。したがって、運動前に骨格筋および肝臓のグリコーゲン濃度をできるだけ高めておくことが、ア

スリートの持久性パフォーマンス向上のうえで重要であると考えられる。

Bergström と Hultman (1966) によって、運動後に十分な糖質を摂取した場合では、運動の 24 ～ 48 時間後において、グリコーゲンが超回復することが報告された。それ以降、この現象を利用したグリコーゲン・ローディングがスポーツの現場で利用されてきている。このグリコーゲン超回復は現象面では良く知られているものの、そのレベルを最大限に高める方法や機序に関しては必ずしも明らかではない。最近、我々はグルコースの補助的な摂取が、スクロースを含む水やミネラルウォーターと比較して筋グリコーゲン超回復をより高めることを報告した (Sonou et al. 2007)。

ところで、運動後の筋グリコーゲン回復には、骨格筋での糖の取り込み速度が重要である可能性が示唆されている。また、運動後に摂取する場合、糖質単体よりもタンパク質と同時に摂取した方が、運動後のグリコーゲン回復においてより効果的であることが示唆されている (Zawadzki et al. 1992, Ivy et al. 2002)。最近 Morifuji ら (2005) は、乳タンパク質の一種であるホエイタンパク質の 2 週間の摂取が、トレーニングしたラットの骨格筋と肝臓のグリコーゲン量を増加させることを報告している。また、彼らと我々の共同研究において、運動後の回復期のみの一過性の食餌性タンパク質の違いが、グリコーゲンの回復に及ぼす影響を検討したところ、骨格筋では、もう一つの乳タンパク質であるカゼインと比較して、グリコーゲン回復に差が見られなかったものの、肝臓のグリコーゲン回復には、ホエイタンパクが効果的である可能性を示唆する結果を得ている (Sonou et al. 2006)。このように、乳タンパク質、特にホエイタンパクは、エネルギー基質に及ぼす影響のみならず、筋力増強（筋肥大）および筋損傷からの回復に関する影響など、近年注目されているが、牛乳そのものが、エネルギー基質の回復に及ぼす影響を調査した研究はほとんどない (Cockburn et al. 2008, Koopman et al. 2008, Nilsson et al. 2007, Tipton et al. 2007)。

そこで、本研究では、動物モデルを用いて、牛乳の摂取が運動後のグリコーゲン超回復に及ぼす影響を検証することを目的とした（研究課題 1）。また、一般の牛乳中の乳タンパク質比率（カゼイン：ホエイ＝8：2）に飼料中のタンパク質を調整し、運動後のグリコーゲン超回復に及ぼす、牛乳中の糖質や脂質等の影響を除いた乳タンパク質自体の影響を、それぞれのタンパク質単独で調整された飼料との比較によって検討した（研究課題 2）。

2. 実験方法

1) 実験動物と飼育条件

本実験では 3 週齢（体重 40 ～ 60g）の Sprague-Dawley (SD) 系雄ラットを日本クレア株式会社から購入した。室温 25℃、湿度 20-30 %、21 - 9 時を暗期に設定した飼育室において、実験終了まで 1 ～ 2 匹ずつステンレス製ワイヤーケージに入れて飼育した。全てのラットには、実験開始前（入荷後 3 ～ 4 日目）に 10 ～ 15 分間水泳運動を行わせ、水泳運動に慣れさせた。

2) 水泳運動トレーニングおよび一過性の長時間運動

ラットの運動トレーニングは、水温 34 ～ 36℃に調節した水を 70L のポリバケツに水深 45cm に

なるまで入れ、8～10匹同時に泳がせて行った。ラット1匹当りの水表面積は192～240cm²であった。

水泳トレーニングは、無負荷で3時間の水泳運動を45分の休憩を挟み2セット、1日1回、1週間連続して行わせた。この運動トレーニングは、骨格筋の主要な糖輸送体であるGLUT-4を最大限に増加させることが報告されている(Ren et al. 1994, Terada et al. 2001)。最終トレーニングの翌日(最終トレーニング17時間後)に、筋グリコーゲンを枯渇させる目的で一過性長時間水泳運動(グリコーゲン枯渇運動)を行わせた。このグリコーゲン枯渇運動は、体重の2%に相当する錘をつけ、8匹同時に4時間の水泳運動を行わせた。

3) 群分け

研究課題1-1では、グリコーゲン枯渇運動後に、通常の固形飼料(CE-2, 日本クレア)に加え、①5%グルコース溶液、(Glu) ②牛乳(Milk; 小岩井乳業(株))、③無脂肪乳(NFM; 小岩井乳業(株))、④牛乳(小岩井乳業)にグルコースを5%添加したもの(Milk+Glu)および⑤無脂肪乳(小岩井乳業)にグルコースを5%添加したもの(NFM+Glu)、を液体として摂取する5群に分けた。本研究で使用した牛乳の成分をTable 1に示した。回復時間は、予備実験で運動後の筋グリコーゲン濃度がピークを迎える7時間とし、回復期間に飼料および液体は自由摂取とした。尚、1週間の水泳運動トレーニング期間には、飼料として通常固形飼料(CE-2, 日本クレア)および水道水を自由摂取させた。

研究課題1-2では、グリコーゲン枯渇運動後に、通常の固形飼料(CE-2, 日本クレア)に加え、①水(DM)、②5%グルコース溶液、③牛乳(小岩井乳業)、および④無脂肪乳(小岩井乳業)を液体として摂取する4群に分けた。回復時間は、24時間とし、飼料および液体は自由摂取とした。尚、1週間の水泳運動トレーニング期間には、飼料として通常固形飼料(CE-2, 日本クレア)および水道水を自由摂取させた。

研究課題1-3では、1週間の水泳運動トレーニング開始日より、全てのラットに、通常の固形飼料(CE-2, 日本クレア)に加え、牛乳を飲料として自由摂取させ飼育した。そして、グリコーゲン枯渇運動後、通常の固形飼料(CE-2, 日本クレア)に加え、①水、②5%グルコース溶液、③牛乳(小岩井乳業)、および④無脂肪乳(小岩井乳業)を液体として摂取する4群に分けた。回復時間は7時間とした。

研究課題2では、1週間の水泳運動トレーニング開始日より、全てのラットに、AIN-93Gで規定されている調整飼料(タンパク質はカゼイン)および水道水を自由摂取させ飼育した。本研究で使用した調整飼料の成分をTable 2に示した。全てのラットに、研究課題1と同様の水泳運動トレーニング、一過性のグリコーゲン枯渇運動を行わせた後、5%のグルコース溶液に加え、上記の調整飼料のタンパク質を①カゼイン(CASEIN)、②ホエイ(WHEY)、および③カゼイン：ホエイ＝8：2の割合に混合したもの(MIX)、3群に分けた。回復時間は24時間とし、期間中、飼料および液体は自由摂取とした。

4) サンプル採取

解剖に際し、ペントバルビタールナトリウム (5mg/100g) を腹腔内注射した。数分後、尾部圧迫の際の反射が見られないことを確認した後、開腹し心臓から採血を行い、速やかに肝臓および前肢骨格筋滑車上筋 (epitrochlearis ; EPI) を摘出した。血液は遠心して血清を分離した後に-50℃にて保存した。肝臓は濾紙で血液を十分に取り除いた後に液体窒素で凍結した。骨格筋は結合組織などを取り除いた後、液体窒素中で十分に冷却した tong (圧縮用鋏) で凍結した。肝臓および骨格筋は、測定の時まで-80℃で保存した。

5) 測定項目

i) 体重、摂食量

各解剖時に体重を計測した。また、回復期の摂食量と水分摂取量を計測し、飼料ならびに溶液に含まれる糖質量を算出した。

ii) 血液成分の分析

血清グルコース濃度は、グルコース CII-テストワコー (和光純薬工業株式会社) を用いて測定した。血清インスリン濃度は、Rat 用 ELISA-kit (Mercodia AB) を用いて測定した。

iii) 骨格筋グリコーゲン濃度の測定

肝臓および Epi は 0.3M の過塩素酸でホモジナイズした後、グリコーゲン濃度を Lowry and Passonneau (1972) の方法に基づいて測定した。

6) 統計処理

本研究で得られたデータはすべて平均値±標準偏差で表した。統計処理には SPSS (SPSS Japan Inc.) を用い、群間の比較には一元配置分散分析を行った。Post hoc test には最小有意差法を用いた。危険率が 5 %未満を以って有意とした。

なお、本実験は、早稲田大学スポーツ科学部動物実験委員会の承認を得て行った。

3. 結 果

1) 研究課題 1-1

i) 体重、血液成分、および総炭水化物摂取量

解剖時の体重、血清グルコース、インスリン濃度、および回復期の総炭水化物摂取量を Table 3 に示した。いずれの群においても体重ならびに血清インスリン濃度に有意差は認められなかった。血清グルコース濃度は、Milk+Glu 群が、Glu 群以外の 3 群と比較して有意に高値を示した (Milk, NFM+Glu ; $P<0.05$, NFM ; $P<0.01$)。グリコーゲン枯渇運動からの 7 時間の回復期間に摂取した総炭水化物摂取量は、Glu 群がその他の 4 群と比較して、有意に高値を示した ($P<0.05$)。

ii) 骨格筋および肝臓のグリコーゲン濃度

骨格筋のグリコーゲン濃度を Figure 1 に示した。グリコーゲン枯渇運動直後の骨格筋および肝臓のグリコーゲン濃度は、それぞれ 16.6 ± 3.9 、 $72.7\pm 43.6\mu\text{mol/g}$ であった。Glu 群は、グルコー

スの補助的な摂取が効果的に筋グリコーゲン超回復を引き起こすことを報告した我々の先行研究 (Sonou et al. 2007) と同程度の回復を示していた (約 $120\mu\text{mol/g}$)。Glu 群と比較してその他の 4 群は、有意に低値を示した ($P<0.001$)。無脂肪乳に 5%のグルコースを添加した飲料を摂取した群 (NFM+Glu) は牛乳を摂取した群 (Milk) と比較して、有意に高値を示した ($P<0.05$)。

肝臓のグリコーゲン濃度は、群間の違いが認められなかった (Figure 2)。

2) 研究課題 1-2

i) 体重、血液成分、および総炭水化物摂取量

解剖時の体重および血清グルコース、インスリン濃度、ならびに 24 時間の回復期間の総炭水化物摂取量を Table 4 に示した。いずれの測定項目においても、群間に有意差は認められなかった。

ii) 骨格筋および肝臓のグリコーゲン濃度

グリコーゲン枯渇運動後から 24 時間の回復後の骨格筋および肝臓のグリコーゲン濃度に群間の違いは認められなかった (Figure 3 および 4)。

3) 研究課題 1-3

i) 体重、血液成分、および総炭水化物摂取量

解剖時の体重、血液成分および 7 時間の回復期間の総炭水化物摂取量を Table 5 に示したが、いずれの項目においても群間に有意差は認められなかった。

ii) 骨格筋および肝臓のグリコーゲン濃度

1 週間の水泳運動トレーニング中、飲料として牛乳を摂取させたラットの、安静状態の骨格筋ならびに肝臓のグリコーゲン濃度は 61.1 ± 13.8 、 $369.4\pm 33.9\mu\text{mol/g}$ であり、グリコーゲン枯渇運動直後には、 34.5 ± 19.7 、 $107.3\pm 37.0\mu\text{mol/g}$ に減少していた (Figure 5 および 6)。7 時間の回復後の筋グリコーゲン濃度は、Glu 群が、他の 3 群と比較して有意に高値を示した (DW; $P<0.05$, Milk; $P<0.001$, NFM; $P<0.01$)。また、DW 群は Milk 群と比較して有意に高値を示した ($P<0.05$) (Figure 5)。肝臓のグリコーゲン濃度は、Glu 群が Milk 群および NFM 群と比較して有意に高値を示した (Milk; $P<0.05$, NFM; $P<0.01$)。また、DW 群は NFM 群と比較して有意に高値を示した ($P<0.05$) (Figure 6)。

4) 研究課題 2

i) 体重、血液成分、および総炭水化物摂取量

解剖時の体重、血液成分および 24 時間の回復期間の調整飼料および 5%グルコース溶液から摂取した総炭水化物摂取量を Table 6 に示した。いずれの項目においても群間に有意差は認められなかった。

ii) 骨格筋および肝臓のグリコーゲン濃度

1 週間の水泳運動トレーニング中、AIN-93G に基づくタンパク質源をカゼインとして調整した飲料を摂取させたラットの、安静状態の骨格筋ならびに肝臓のグリコーゲン濃度は 65.2 ± 16.2 、

395.4±37.6μmol/g であり、グリコーゲン枯渇運動直後には、25.1±9.5、71.2±30.1μmol/g に減少していた (Figure 7 および 8)。24 時間の回復後、骨格筋ならびに肝臓のグリコーゲン濃度に群間の違いは認められなかった (Figure 7 および 8)。

4. 考 察

我々は、筋グリコーゲン超回復のレベルをより高めるという目的として、運動後に摂取する糖質の種類を、日常的に摂取する主な糖質であるグルコースとスクロースとで比較検討し、グルコースが効果的であることを報告している (Sonou et al. 2007)。本研究課題 1-1 の Glu 群は、その先行研究と同程度の筋グリコーゲン超回復のレベルを示した。ところで、運動後には、糖質単体よりもタンパク質と同時に摂取した方が、運動後のグリコーゲン回復においてより効果的であることが示唆されている (Zawadzki et al. 1992, Ivy et al. 2002)。それゆえ、糖質とタンパク質を含んでいる牛乳は、運動後の筋グリコーゲンの回復に効果的である可能性が考えられた。また、牛乳に含まれる糖質は 99.9%が乳糖 (ラクトース) であるため、グリコーゲンの回復に迅速に利用されにくい可能性も考えられたため、牛乳に 5%のグルコースを溶解させたものを摂取させる群を設けて比較検討を行なった。しかしながら、通常の固形飼料に加え、牛乳を摂取した Milk 群、無脂肪乳を摂取した NFM 群、牛乳に 5%のグルコースを溶解させた溶液を摂取した Milk+Glu 群、および無脂肪乳に 5%のグルコースを溶解させた溶液を摂取した NFM+Glu 群の 4 群とも、Glu 群の筋グリコーゲンレベルには至らなかった。

食餌由来の炭水化物の吸収は、胃を経由して小腸で行われる。いくつかの研究では、ラットにおいて、小腸での糖質の吸収に日内変動が存在する可能性が示唆されている (Fisher & Gardner 1976, Furuya & Yugari 1974)。それゆえ、本研究では、ラットに対してゾンデによる強制摂取でなく自由摂取とした。その結果、本研究では、Glu 群がその他の 4 群 (Milk, NFM, Milk+Glu, NFM+Glu 群) と比較して、7 時間の回復期に摂取した総炭水化物摂取量が多かった (Table 3)。したがって、Glu 群の高い筋グリコーゲン濃度は、摂取した溶液の種類の違いによるものではなく、単に摂取した糖質の量が多かったためである可能性が考えられる。しかしながら、総炭水化物摂取量が同程度であった Glu 群を除く 4 群のみを比較した場合、筋グリコーゲン濃度に有意差が認められず、牛乳や無脂肪乳に 5%のグルコースを添加しても、運動後の筋グリコーゲン回復を亢進しない可能性が示唆された。

そこで、回復期の総炭水化物摂取量をいずれの群も同程度にする目的で、2 つの実験を追加で行なった。1 つ目は、回復時間を 24 時間に延ばした研究課題 1-2 である。本研究は、グリコーゲンを減少させる目的のグリコーゲン枯渇運動を行わせたラットに、運動後から一過性に牛乳等を摂取させている。一般的に、慣れていない飼料および飲料をいきなり実験動物に摂取させた場合、食餌量が低下する可能性があることが知られている。したがって、本来、同週齢の同様にトレーニング・一過性運動を負荷したラットの骨格筋のグリコーゲン再合成の過程では、7 時間でピー

クを迎えることを我々の研究室の実験で確認しているが (未発表データ)、運動後で、エネルギー補給を迅速に行ないたい状態であっても、7 時間という比較的短時間では、飲料の変化によって食餌量が低下した可能性が考えられた。そこで、実際に、回復時間を延長し、24 時間にした研究課題 1-2 では、いずれの飲料を摂取した群においても、同程度の糖質摂取量であった (Table 4)。その結果、筋グリコーゲン濃度は、いずれの群も同程度であった (Figure 3)。しかしながら、研究課題 1-1 と比較して、Glu 群のグリコーゲン濃度が低値を示していたため、回復期の総炭水化物摂取量が同じであるならば、牛乳でもグルコースと同程度のレベルに筋グリコーゲン超回復を惹起すると結論づけることは出来ないかもしれない。

ラットにおいては、運動後の筋グリコーゲンの回復は、ヒトと比較して迅速であり、1-4 時間で元のレベルになり、4-24 時間でプラトーになることが知られている (Terjung et al. 1974)。我々の先行研究 (Sonou et al. 2007) では、筋グリコーゲン濃度は、運動後 6 時間で超回復のレベルとなり、24 時間後でもそのレベルを維持していた。一方で、上記した同週齢の 1 週間の水泳運動でトレーニングされたラットにおいて、運動後の筋グリコーゲン濃度は 7 時間でピークとなり、運動から 9 時間後では、運動 5 時間後と同程度にまで低下していることを観察している (未発表データ)。本研究では、我々の先行研究 (Sonou et al. 2007) と違い、グリコーゲン枯渇運動の前日、つまり最終トレーニングの後に、食餌量の制限をしていない。これは、実際のスポーツの現場に置き換えた場合、試合前のトレーニング後に、食事制限を行なうことは非現実的であると考えたためである。しかしながら、この方法論的な相違によって、実際、先行研究と比較して、グリコーゲン枯渇運動後の骨格筋ならびに肝臓のグリコーゲン濃度が、枯渇というレベルにまで十分減少しきれていなかったと思われる。したがって、グリコーゲン再合成の機序におよぼす刺激が減弱されている可能性が考えられ、ピークまで回復した筋グリコーゲン濃度を維持する能力が低下し、研究課題 1-2 の運動 24 時間後のグリコーゲン濃度の低値を引き起こしたのかも知れない。

研究課題 1-3 では、1 週間の水泳運動トレーニング開始と同時に、ラットに通常の固形飼料に加え、飲料として牛乳を摂取させ、牛乳に慣れさせた。その結果、一過性運動後の回復期に摂取した総炭水化物摂取量は、いずれの群も同程度となった (Table 5)。運動 7 時間後の筋グリコーゲン濃度は、研究課題 1-1 と同様に、最も高値を示した Glu 群と比較して、Milk 群および NFM 群で有意に低値を示した (Figure 5)。したがって、糖質の摂取量が同程度であっても、運動後の筋グリコーゲン超回復に関しては、牛乳は効果的でない可能性が示唆された。

牛乳の糖質は大部分が乳糖であり、乳糖は小腸で β -ガラクトシダーゼによってグルコースとガラクトースとに分解された後に吸収される。ガラクトースは肝臓でグルコースに変換された後に肝臓のグリコーゲンの回復もしくは血糖の維持に利用されることが知られている。ガラクトースの運動後の筋グリコーゲン再合成に及ぼす影響は不明であるが、同様に、肝臓でグルコースに変換されて利用される果糖 (フルクトース) は、肝臓のグリコーゲン回復には効果的であるが、骨格筋に対してはグルコースと比較して効果が弱いことが知られており (Conlee et al. 1987)、グリコー

ゲンの基質であるグルコースとなるまでに時間のかかるガラクトースも、運動後の筋グリコーゲンの回復には効果的でないのかも知れない。しかしながら、Milk、NFM 群ともに、1 週間の水泳運動で十分にトレーニングされ、通常の固形飼料に加え、飲料として牛乳を摂取させたラットの安静状態の筋グリコーゲンレベル (CONT) には回復していた (Figure 5)。それゆえ、牛乳および無脂肪乳は、運動後の筋グリコーゲンの回復に、グルコース溶液ほどは効果的ではなかったと思われる。

グルコースを 100 として、血糖上昇反応度を示すグリセミック指数 (Glycemic Index: GI) は、高いほど血糖値の上昇度が高く、それゆえ、インスリンの分泌作用が強いと考えられている。牛乳の GI は 27 であり、牛乳に含まれる糖質の乳糖は 46 である (Foster-Powell et al. 2002)。本研究では、ラットに自由摂取にて飼料ならびに飲料を摂取させているため、解剖時の直前に糖質を摂取している場合があるという方法論上の問題があるため、血清のグルコースおよびインスリンの濃度は非常にバラツキが大きく、いずれの液体を摂取した群においても、GI を反映した濃度の違いが表れにくい (Table 3-6)。しかしながら、それぞれの GI の観点から、グルコース溶液を補助的に摂取する場合と比較すると、牛乳を摂取した場合、グルコースの上昇が緩やかであり、インスリン濃度も低くなることが考えられる。また、Sugiyama et al. (2003) は、ヒトでの研究において、牛乳を他の食品と同時に摂取することで、実際にグルコースの上昇曲線が低下し、総合した GI が低くなることを報告している。インスリンは、骨格筋のグリコーゲン再合成に重要な骨格筋への糖の取り込み能力、ならびに、取り込んだ糖を貯蔵形態であるグリコーゲンへと合成するグリコーゲン合成酵素を活性化することが知られており、牛乳で血糖値の上昇、そしてそれに伴うインスリン分泌が抑制され、その結果として、運動後の筋グリコーゲン濃度の回復が抑制されたのかも知れない。

すでに述べたように、運動後の筋グリコーゲン回復には、糖質単体よりもタンパク質との同時摂取がより効果的である可能性が示唆されている (Zawadzki et al. 1992, Ivy et al. 2002)。最近 Morifuji et al. (2005) は、乳タンパク質の一種であるホエイタンパク質の 2 週間の摂取が、トレーニングしたラットの骨格筋と肝臓のグリコーゲン量を増加させることを報告している。したがって、牛乳そのものの筋グリコーゲンの回復効果のみならず、乳タンパク質の種類の違いが、運動後の筋グリコーゲン超回復に及ぼす影響を研究課題 2 で検討した。また、牛乳には、タンパク質以外の成分も多く含まれており、牛乳に含まれている 2 種類の乳タンパク質の比率でタンパク源を調整した飼料を摂取した場合も、牛乳のタンパク質の効果として同時に比較検討した。

その結果、回復期に摂取した総糖質摂取量が同程度であり (Table 6)、筋グリコーゲンの回復量も同程度であった。Morifuji らと我々の共同研究においても、運動からの回復期の一過性にホエイタンパク質を摂取しても、もう 1 つの乳タンパク質であるカゼインと比較して、筋グリコーゲンの回復は同程度であった (Sonou et al. 2006)。したがって、ホエイタンパク質のグリコーゲン合成の促進効果は、短期間では効果が生じない可能性が示唆された。また、牛乳中のタンパク質

の組成に調整した MIX 群も、その他 2 つの乳タンパク質それぞれ単独で調整された飼料の群と、同程度の筋グリコーゲン回復量であったため、牛乳のタンパク質組成が、運動後の筋グリコーゲン回復に効果的な働きを有していない可能性が示唆された。

研究課題 1-1 において、肝臓のグリコーゲン濃度は、群間に有意差は認められなかったが、研究課題 1-3 においては、回復期間中の総炭水化物摂取量がいずれの群も同程度であったにもかかわらず、グルコース溶液を摂取した場合と比較して、牛乳および無脂肪乳を摂取した場合で有意に低値を示した (Figure 6)。上記の乳糖の分解された形態の 1 つであるガラクトースは肝臓でグルコースに変換された後に肝臓のグリコーゲンの回復もしくは血糖の維持に利用されることが知られており、Niewoehner et al. (1990, 1992) は、絶食後の肝臓のグリコーゲン再合成においては、ガラクトースは 52% が尿に排出され、18% 程度しか利用されないこと、また、グルコースと比較してグリコーゲン合成速度が遅いことを報告している。ガラクトースの運動後の肝グリコーゲンの回復に関する効果は十分に明らかにされていないが、Figure 6 で示されたように、運動後の肝臓のグリコーゲンの回復に関しても、ガラクトースとして代謝される乳糖を含む牛乳は、効果的でない可能性が考えられる。

研究課題 2 において、WHEY 群の肝臓のグリコーゲン濃度は CASEIN 群と同程度であった。これは、我々の先行研究 (2006) と異なる結果である。しかしながら、上述したように、本研究では、1) グリコーゲン枯渇運動の前夜からの食餌制限を行っていないこと、そして 2) 回復時間を 24 時間と長くしたこと (先行研究は 12 時間) という方法論的な違いによるものであるかも知れない。

ところで、グリコーゲン超回復という現象は、実際のスポーツの現場において、マラソンなどの持久的な運動形態の競技に、グリコーゲン・ローディング法として利用されている。本研究の結果からは、運動後の骨格筋および肝臓のグリコーゲンの回復ならびに、超回復を目指すという視点からは、牛乳の摂取は適切でない可能性が示唆された。したがって、グリコーゲン超回復により持久性パフォーマンス向上を期待するグリコーゲン・ローディング法の実施期間に限ってみると、超回復を目的として牛乳を摂取することは、好ましくないと考えられる。しかしながら、Karp et al. (2006) は、疲労困憊運動後にチョコレート牛乳を摂取した場合には、その後の自転車運動の走行距離が、その他のスポーツ飲料等と比較して、1.5 倍となることを報告している。Karp et al. (2006) の研究では、筋グリコーゲン濃度を測定していないが、我々が行った本研究の結果から、骨格筋および肝臓のグリコーゲン濃度がより高いレベルにまで回復したためとは考えにくい。しかし、本研究では、最短でも 7 時間というラットでは十分にグリコーゲンが回復する回復期間を設けているため、もっと短時間のエネルギーの回復には、牛乳は効果的であるのかも知れない。また、近年の研究では、牛乳をベースにした飲料が、遅発性筋痛を軽減させる可能性も示唆されており (Cockburn et al. 2008)、牛乳のスポーツ栄養学的な効果の研究は、今後さらなる発展が期待されるだろう。

5. 結 論

以上まとめると、運動後の骨格筋ならびに肝臓のグリコーゲン超回復のレベルに対して、牛乳および無脂肪乳は効果的ではない可能性が示唆された。したがって、グリコーゲン・ローディング法の実施期間に限ってみると、長時間に及ぶ持久的な競技の直前には、牛乳を摂取するのは控えた方がよいのかも知れない。

参考文献

- Ahlborg B, Bergström J, Brohult J, Ekelund LG, Hultman E, Maschio G. (1967) Human muscle glycogen content and capacity for prolonged exercise after different diets. *Forsvarsmedicin.* 3 : 85-99
- Bergström J, Hermansen L, Hultman E, Saltin B. (1967) Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiol Scand.* 71 (2) : 140-50.
- Bergström J, Hultman E. (1966) Muscle glycogen synthesis after exercise: an enhancing factor localized to the muscle cell in man. *Nature* 210 : 309-310.
- Cockburn E, Hayes PR, French DN, Stevenson E, St Clair Gibson A. (2008) Acute milk-based protein-CHO supplementation attenuates exercise-induced muscle damage. *Appl Physiol Nutr Metab.* 33 : 775-83.
- Conlee RK, Lawler RM, and Ross PE. (1987) Effects of glucose or fructose feeding on glycogen repletion in muscle and liver after exercise or fasting. *Ann Nutr Metab.* 31 : 126-32.
- Foster-Powell K, Holt SH, Brand-Miller JC. (2002) International table of glycemic index and glycemic load values : 2002. *Am J Clin Nutr.* 76 : 5-56.
- Ivy JL Goforth HW Jr Damon BM McCauley TR Parsons EC Price TB (2002) Early postexercise muscle glycogen recovery is enhanced with a carbohydrate-protein supplement *J Appl Physiol* 93 1337-1344.
- Karp JR, Johnston JD, Tecklenburg S, Mickleborough TD, Fly AD, Stager JM. (2006) Chocolate milk as a post-exercise recovery aid. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 16 : 78-91.
- Koopman R, Verdijk LB, Beelen M, Gorselink M, Kruseman AN, Wagenmakers AJ, Kuipers H, van Loon LJ. (2008) Co-ingestion of leucine with protein does not further augment post-exercise muscle protein synthesis rates in elderly men. *Br J Nutr.* 99 : 571-80.
- Lowry OH and Passoneau JV. (1972) *A Flexible System of Enzymatic Analysis.* New York : Academic.
- Morifuji M, Sakai K, Sanbongi C, Sugiura K. (2005) Dietary whey protein increases liver and skeletal muscle glycogen levels in exercise-trained rats. *Br J Nutr.* 93 : 439-45.
- Niewoehner CB, Neil B, Martin T. (1990) Hepatic uptake and metabolism of oral galactose in adult fasted rats. *Am J Physiol.* 259 : E804-13.
- Niewoehner CB, Neil B. (1992) Mechanism of delayed hepatic glycogen synthesis after an oral galactose load vs. an oral glucose load in adult rats. *Am J Physiol.* 263 : E42-9.

- Nilsson M, Holst JJ, Bjorck MEL. (2007) Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects : studies using glucose-equivalent drinks. *Am J Clin Nutr.* 85 : 996-1004.
- Ren JM, Semenkovich CF, Gulve EA, Gao J, Holloszy JO. (1994) Exercise induces rapid increases in GLUT4 expression, glucose transport capacity, and insulin-stimulated glycogen storage in muscle. *J Biol Chem.* 269 : 14396-401.
- Sonou T, Morifuji M, Sanbongi C, Higuchi M. (2006) Dietary whey protein enhanced liver glycogen restoration after exercise in rats. *Med Sci Sports Exerc.* 38 : S188.
- Sonou T, Terada S, Kimura M, Muraoka I, Nakamura Y, Higuchi M. (2007) Effect of different types of carbohydrate supplementation on glycogen supercompensation in rat skeletal muscle. *Sport Science Research.* 4 : 85-92.
- Sugiyama M, Tang AC, Wakaki Y, Koyama W. (2003) Glycemic index of single and mixed meal foods among common Japanese foods with white rice as a reference food. *Eur J Clin Nutr.* 57 : 743-52.
- Terada S, Yokozeki T, Kawanaka K, Ogawa K, Higuchi M, Ezaki O, Tabata I. (2001) Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 90 : 2019-24.
- Terjung RL, Baldwin KM, Winder WW, Holloszy JO. (1974) Glycogen repletion in different types of muscle and in liver after exhausting exercise. *Am J Physiol.* 226 : 1387-91.
- Tipton KD, Elliott TA, Cree MG, Aarsland AA, Sanford AP, Wolfe RR. (2007) Stimulation of net muscle protein synthesis by whey protein ingestion before and after exercise. *Am J Physiol.* 292:E71-6.
- Zawadzki KM, Yaspelkis BB 3rd, Ivy JL. (1992) Carbohydrate-protein complex increases the rate of muscle glycogen storage after exercise *J Appl Physiol* 72 : 1854 - 1859.

Table 1. 実験で使った牛乳の成分 (100mL 当たり)

	牛乳	無脂肪乳
エネルギー(kcal)	66	35
炭水化物(g)	4.8	5.1
タンパク質(g)	3.1	3.5
脂質(g)	3.8	0
ナトリウム(mg)	53	41
カルシウム(mg)	107	117

Table 2. 調整飼料の成分 (g/kg)

	CASEIN	WHEY	MIX***
カゼイン*	228	-	182.4
ホエイ*	-	252	50.4
ビタミン混合**	10	10	10
コリン酒石酸塩**	2.5	2.5	2.5
ミネラル混合	35	35	35
コーンオイル	70	70	70
コーンスターチ*	654.5	630.5	649.7

*ケダール法によるタンパク含有量の測定結果により重量を補正し、重量の違いをコーンスターチで補正した。

**AIN-93Gに基づく。

***カゼイン:ホエイ=8:2の割合にした群。

Table 3. 体重および総炭水化物摂取量 (研究課題 1-1)

	Glu	Milk	NFM	Milk+ Glucose	NFM+ Glucose
体重(g)	121.6±8.7	119.9±10.8	120.0±6.8	119.3±11.0	117.1±7.8
血清グルコース 濃度(mg/100μL)	214.3±73.2	180.6±62.1 [†]	193.4±49.8 [†]	274.1±84.3	183.4±61.1 [‡]
血清インスリン 濃度(μU/μL)	20.4±13.6	16.2±4.3	14.4±12.1	48.8±60.8	29.5±35.8
総炭水化物摂取量 (g)	8.0±0.8*	4.1±1.1	4.6±0.8	4.3±0.8	4.8±0.2

Glu:5%グルコース摂取群, NFM:無脂肪乳摂取群

[†] P<0.05, [‡] P<0.01 vs Milk+Glu.

* P<0.05 vs. Glu, Milk, NFM, Milk+Glu, Milk+Glu

Table 4. 体重および総炭水化物摂取量 (研究課題 1-2)

	DW	Glu	Milk	NFM
体重 (g)	126.8±16.0	129.7±12.2	128.2± 8.5	130.5± 5.1
血清グルコース 濃度 (mg/100mL)	180.8±64.5	216.9±69.6	172.6±21.0	195.9±69.7
血清インスリン 濃度 (μU/mL)	40.4± 68.3	85.6±85.5	15.1±11.8	13.6± 6.9
総炭水化物摂取量 (g)	14.0± 1.6	16.5± 1.9	13.8± 2.0	15.0± 1.7

DW:水摂取群, Glu:5%グルコース摂取群, NFM:無脂肪乳摂取群

Table 5. 体重および総炭水化物摂取量 (研究課題 1-3)

	DW	Glu	Milk	NFM
体重 (g)	123.0± 9.8	122.8±13.5	121.0± 6.4	124.7± 5.1
血清グルコース 濃度 (mg/100mL)	153.6±82.3	169.2±31.3	193.2±60.7	228.1±75.0
血清インスリン 濃度 (μU/mL)	10.4± 4.7	20.0±26.4	19.1±27.7	50.7±74.4
総炭水化物摂取量 (g)	5.1± 0.9	5.9± 1.0	4.2± 1.0	5.1± 1.0

DW:水摂取群, Glu:5%グルコース摂取群, NFM:無脂肪乳摂取群

Table 6. 体重および総炭水化物摂取量 (研究課題 2)

	CASEIN	WHEY	MIX
体重 (g)	137.0±9.7	135.2±8.8	133.7±2.7
血清グルコース 濃度 (mg/100mL)	165.2±25.4	152.5±36.3	161.9±32.8
血清インスリン 濃度 (μU/mL)	24.9±22.9	21.0±13.3	23.4±15.1
総炭水化物摂取量 (g)	14.9±1.2	14.0±1.0	18.5±1.2 ^{*)}

MIX:カゼイン:ホエイ比 8:2 に調整した飼料摂取群

*) P<0.05 vs CASEIN, † P<0.001 vs WHEY

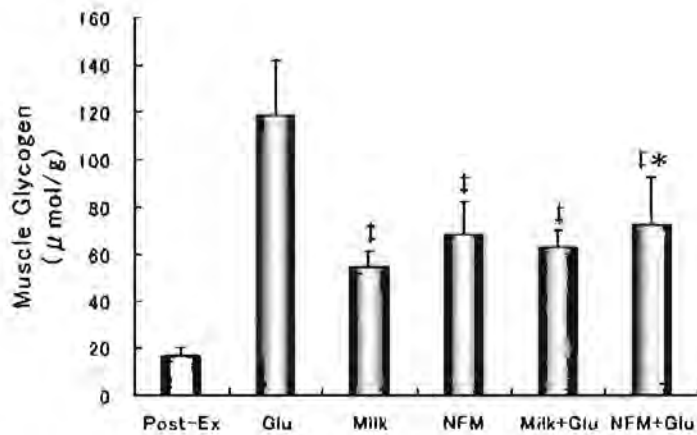


Figure 1. Glycogen concentration in rat epitrochlearis muscles at 7 h after glycogen-depleting exercise in Experiment 1-1. Mean±SD. Post-Ex; immediately after glycogen-depleting exercise Glu; 5% glucose solution NFM; non-fat milk † P<0.001 vs. Glu * P<0.05 vs. Milk

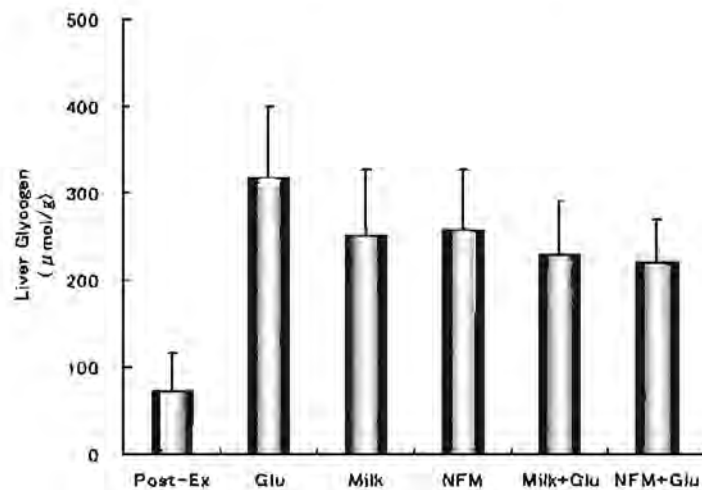


Figure 2. Hepatic glycogen concentration in rats at 7 h after glycogen-depleting exercise in Experiment 1-1. Mean±SD. Post-Ex; immediately after glycogen-depleting exercise Glu; 5% glucose solution NFM; non-fat milk

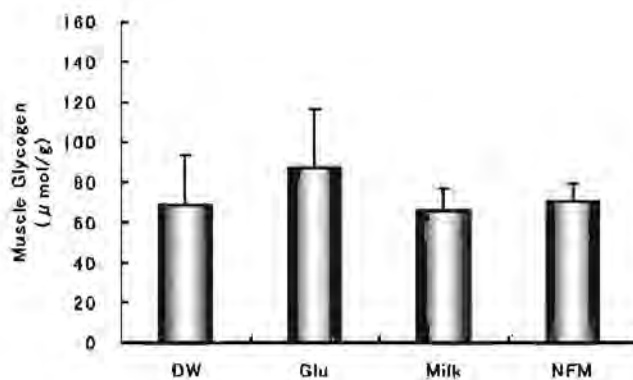


Figure 3. Glycogen concentration in rat epitrochlearis muscles at 24 h after glycogen-depleting exercise in Experiment 1-2. Mean±SD. DW; distilled water Glu; 5% glucose solution NFM; non-fat milk

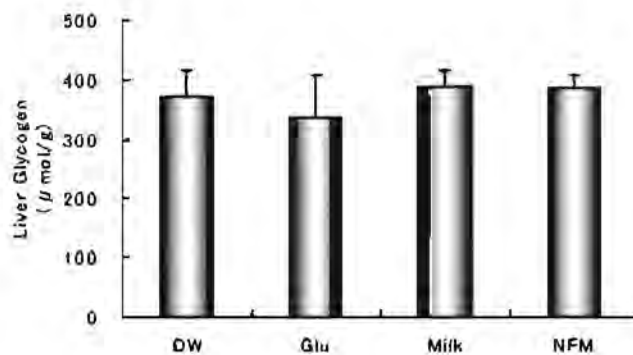


Figure 4. Hepatic glycogen concentration in rats at 24 h after glycogen-depleting exercise in Experiment 1-2. Mean±SD. DW ; distilled water Glu ; 5% glucose solution NFM ; non-fat milk

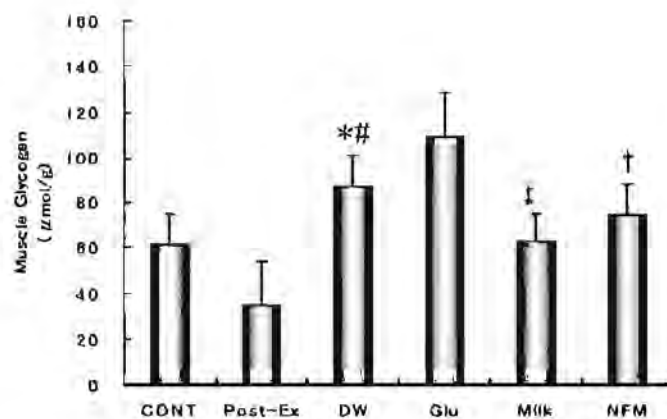


Figure 5. Muscle glycogen concentration at 7 h after glycogen-depleting exercise in rats drunk milk for 1 wk in Experiment 1-3. Mean±SD. CONT ; control values in age-matched rats with same intervention Post-Ex ; immediately after glycogen-depleting exercise DW ; distilled water Glu ; 5% glucose solution NFM ; non-fat milk * $P < 0.05$, † $P < 0.01$, ‡ $P < 0.001$ vs. Glu # $P < 0.05$ vs. Milk

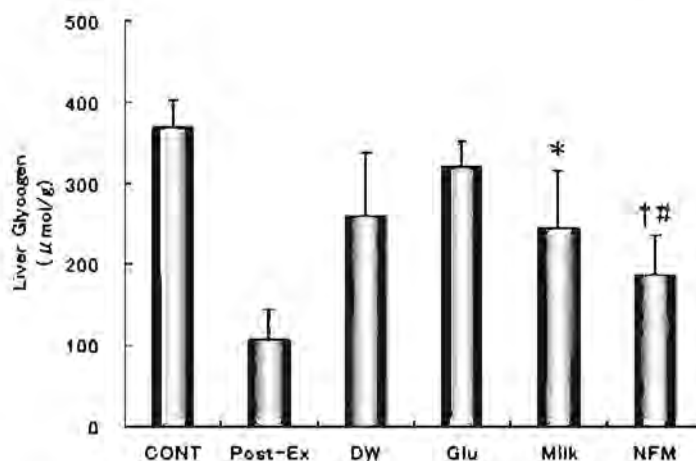


Figure 6. Hepatic glycogen concentration at 7 h after glycogen-depleting exercise in rats drunk milk for 1 wk in Experiment 1-3. Mean±SD. CONT ; control values in age-matched rats with same intervention Post-Ex ; immediately after glycogen-depleting exercise DW ; distilled water Glu ; 5% glucose solution NFM ; non-fat milk * $P < 0.05$, † $P < 0.01$ vs. Glu # $P < 0.05$ vs. DW

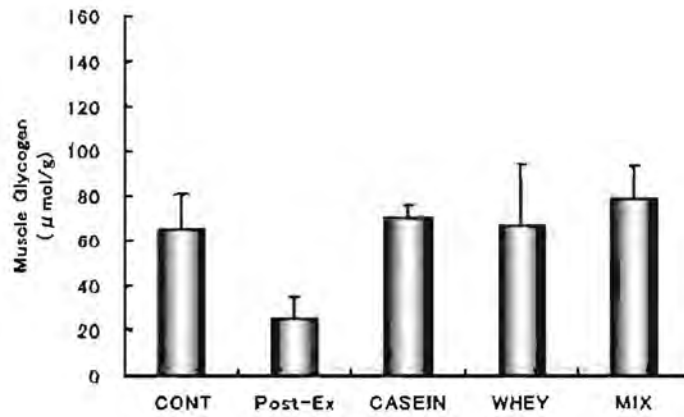


Figure 7. Effect of dietary protein on epitrochlearis muscle glycogen concentration in rats at 24 h after glycogen-depleting exercise In Experiment 2. Mean±SD. CONT ; control values In age-matched rats with same intervention Post-Ex ; immediately after glycogen-depleting exercise MIX ; Casein : Whey = 8 : 2

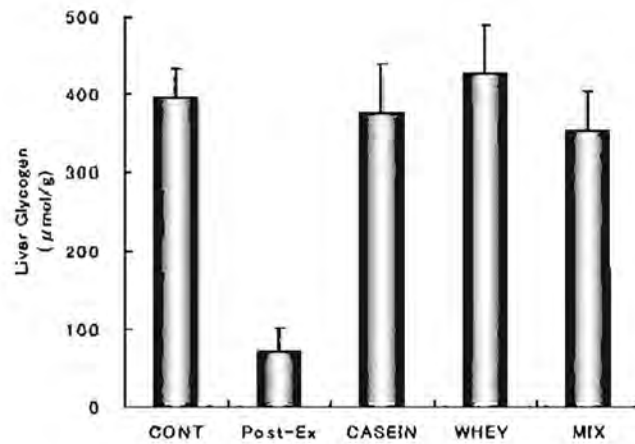


Figure 8. Effect of dietary protein on hepatic glycogen concentration in rats at 24 h after glycogen-depleting exercise In Experiment 2. Mean±SD. CONT ; control values In age-matched rats with same intervention Post-Ex ; Immediately after glycogen-depleting exercise MIX ; Casein : Whey = 8 : 2