

第3章 研究課題

第1節：長時間運動時の糖質摂取におけるトレハロースの検討

1. 長時間運動におけるトレハロース摂取が血中エネルギー基質とグリコーゲン利用に及ぼす影響

【緒言】

長時間運動では、筋グリコーゲンの枯渇や低血糖が運動パフォーマンスを制限する主要因となる (Bergström and Hultman 1967, Coggan 1989, Coyle 1983, 1986)。そして、運動前や運動中に糖質を摂取することによって、血糖値の低下を抑制して糖質の酸化率が維持され (Bosch 1994, Coggan 1989, Coyle 1986)、あるいは筋グリコーゲンが節約されて (Ericson 1987, Tsintzas 1995)、運動パフォーマンスの向上に役立つことが一般に認められている。

一方、Foster ら (1979) は、運動開始30分前に75 gのグルコースを摂取すると、急激な血糖値の上昇とそれに伴う血中インスリン濃度の上昇がおり、そして運動開始時には低血糖症が招来して、運動パフォーマンスが抑制されることを明らかにした。同様に75 gのグルコースを運動開始45分前に摂取したところ、運動15分目の血糖値がコントロール試行時よりも有意に低下したことも報告されている (Levine 1983, Koivisto 1981)。さらに、Koivisto ら (1981) は、運動開始時の血糖値あるいはインスリン濃度が高いほど運動中の血糖値の低下が大きいという関係を見出ししている。このように、長時間運動の直前に、素早く吸収されずみやかに血糖値を上昇させる糖を摂取すると、運動の初期に低血糖症を招き、パフォーマンスを抑制する可能性が示されている。

これらに対して、Koivisto ら (1981, 1985) およびLevine ら (1983) は、運動開始45分前に75 gのフルクトースを摂取しても、同量のグルコースを摂取した場合と比べて、血糖値とインスリン濃度の上昇は緩徐なことから、低血糖をきたす危険性が少ないことを報告している。また、フルクトースの摂取はグルコースと比べて、運動後半での血糖値を維持できること (Koivisto 1985)、インスリンの上昇が少ないことから遊離脂肪酸の利用を

抑制しないこと (Massicotte 1986), そして, 運動中の筋グリコーゲン利用が節約される可能性があること (Levine 1983, Okano 1988) など, 運動前に摂取する糖質として適した生理特性を持つことが示唆されている (Craig 1993).

この他にも, 血糖値およびインスリン濃度の応答がゆるやかなグライセミックインデックスの低い糖質食を長時間運動前に摂取することによって, 血糖の供給が持続的になされて運動後半の血糖値を維持できることから, 疲労困憊までの運動持続時間がグルコース摂取時よりも有意に延長したことが報告されている (Thomas 1991). これらのことから, 長時間運動の直前に摂取する糖質としては, 血糖値および血中インスリン濃度の急激な上昇を引き起こすことなく, 血糖値を長時間にわたり維持できるものが適していると考えられる.

ところで, トレハロースはD-グルコース2分子が1-1結合した非還元性の二糖類に属する難吸収性の炭水化物である. トレハロースはその消化酵素であるトレハラーゼにより腸管で加水分解され, グルコースとして吸収されてエネルギー源となる. そして, 熱量はグルコースと同様であるとされている (塩坂1997, 武内1997). また, トレハロースは易吸収性の他の二糖類や単糖類より吸収が緩徐であるため, 摂取後の血糖値の上昇はグルコース摂取時よりも緩慢であるといわれている (武内1997). このことから, トレハロース摂取後のインスリン応答は一般に軽微であると考えられ, それゆえ, 大量摂取した後も低血糖症を起こしにくく, さらに吸収が緩徐であるため持続的に血糖を供給できる可能性も考えられる. もし, トレハロースがこのような生理特性を持つのであれば, 長時間運動の直前に摂取する糖質として適していると思われるが, しかし, これまでこのような観点からトレハロースについて検討した研究はみられない.

そこで本研究では, ラットを用いて長時間運動直前のトレハロース投与が, 血中エネルギー基質および, 肝・筋グリコーゲン量に及ぼす影響を, グルコースならびに水を投与した場合とで比較検討した.

【実験方法】

I. 実験動物

測定には6週齢で購入したWistar系雄ラット（高杉実験動物）に、前もって持続的トレーニングを課した12週齢のものをを用いた。ラットはケージに個体別に収容され12時間の明暗サイクルと24の室温に設定された条件で飼育された。餌料は一般固形飼料（日本クレア株式会社, CE-2）を水とともに自由摂取させた。

6週間の飼育期間において、傾斜角度を10度にした動物用トレッドミル（夏目製作所）での強制ランニングを、週5日の頻度で実施した。この間、運動時間とランニング速度を1週間毎に漸増し、トレーニング終了時には、毎分20mで60分間の走行ができるようにしたうえで実験に供した。

II. 実験1：安静時血糖値に及ぼすトレハロース投与の影響

トレハロース投与後の血糖値の変化を検討する目的で、6週間の飼育を終えた被検ラット24匹を3群に分け、24時間の絶食後に8%濃度のグルコース溶液、8%濃度のトレハロース溶液あるいは水のいずれかを、それぞれ2mlずつ胃ゾンデにて経口的に投与した。溶液投与前、投与後15、30、45、60分目に尾静脈より血液を採取し、すみやかに血漿を分離し、酵素法（グルコースC-テストワコー、和光純薬工業）にて血糖値を測定した。

III. 実験2：運動時血糖値および肝・筋グリコーゲン量に及ぼすトレハロース投与の影響

実験に先立ち、6週間の飼育を終えた個々の被検ラットの持続的能力を判定するために、24時間の絶食をさせたラットに傾斜10度に設定したトレッドミルでのランニングを、毎分20mの速度で疲労困憊に至るまで行わせた。疲労困憊の判定は後方の電気刺激を受けても前進できなくなったときとした。その結果に基づき20匹のラットを持続的能力が均質となるように4群に分けた。

その後、別の日に4群のうち3群に対しては24時間の絶食後に8%トレハロース溶

液 (T 試行), 8 % グルコース溶液 (G 試行) あるいは水 (W 試行) のいずれかを, 運動前 15 分にそれぞれ 2ml ずつ胃ゾンデにて経口的に投与し, 持久的能力判定の場合と同様の条件で疲労困憊までランニングを行わせた。

溶液投与前, 運動 40 分目および疲労困憊時にラットの尾静脈より血液を採取して, すみやかに血漿を分離し血糖および遊離脂肪酸の測定に供した。また, 運動終了時のグリコーゲン量を定量するために, 血液採取直後に肝臓と腓腹筋を摘出し, 分析まで 80 で保存した。残りの 1 群については, 24 時間の絶食を課した後, 他の 3 群がランニングを開始したのと同じ時間帯に肝臓と腓腹筋を摘出し, グリコーゲン量を定量してそれを運動前の値とした。

血糖と遊離脂肪酸は酵素法 (グルコース C -テストワコー, NEFA-C-テストワコー, 和光純薬工業) により求め, グリコーゲンは *o*ら (1970) の方法で定量した。

IV. 統計処理

各々の値は平均値 ± 標準誤差で示した。血糖および遊離脂肪酸の分析には運動時間 × 投与条件の二元配置の分散分析を, また, 肝および筋グリコーゲン量の平均の差の検定には一元配置の分散分析を用いた。多重比較には LSD 検定法を実施し, 危険率 5% 未満をもって有意とした。

【実験結果】

I. 実験 1

図 3-1 に安静状態のラットに対して, 8 % トレハロース溶液, 8 % グルコース溶液あるいは水を投与した後の, 摂取前からの血糖値の変化量を示した。8 % グルコース溶液では投与後 15 分目で最大値に達した。このときの摂取前からの増加量は 8.4 ± 4.6 mg/dl であり, 水投与の 8.9 ± 3.8 mg/dl より有意に高い値であった ($p < 0.05$)。一方, 8 % トレハロース溶液では投与後 30 分目に最大値の増加量 (28.8 ± 2.7 mg/dl) を示した。8 % のグルコー

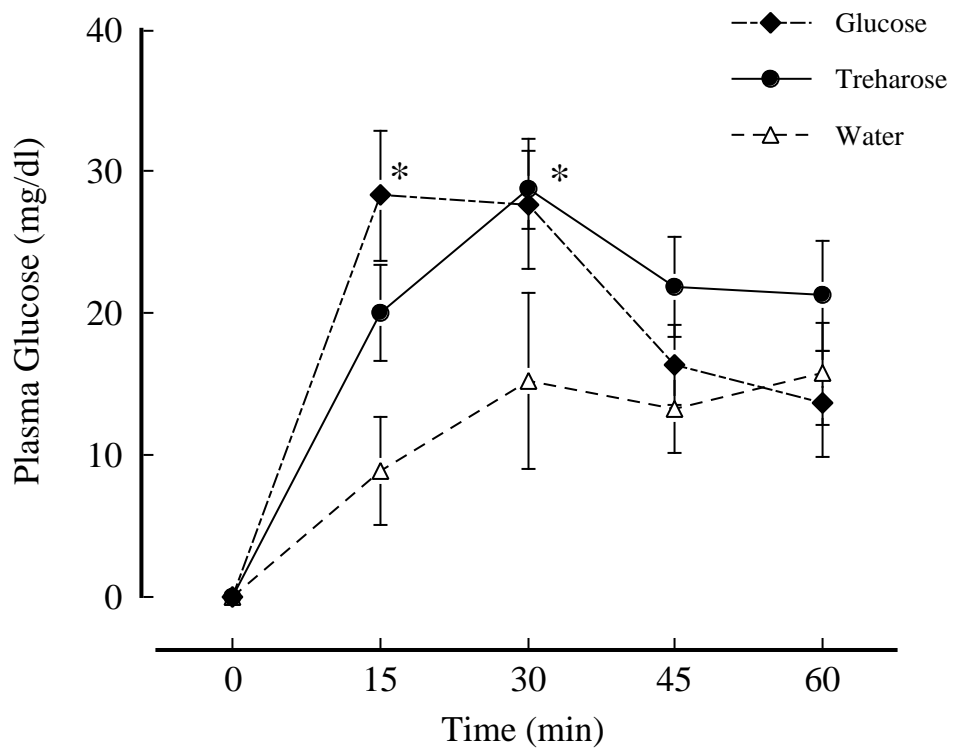


図3-1 安静状態における8%グルコース，8%トレハロースあるいは水摂取後の血糖値の時間変化．*は水摂取と比べて有意に高い値であることを示す． $p < 0.05$

スおよびトレハロース溶液投与後の各々の最大値は同等であった。さらに、8%グルコース溶液では、投与後60分目における血糖値の増加量は 13.6 ± 3.7 mg/dl まで低下したが、8%トレハロース溶液ではその低下は少なく(1.3 ± 3.9 mg/dl)、8%グルコース溶液と比べて高い値を維持する傾向にあった($p=0.08$)。

II. 実験2

1. 運動時の血糖値および遊離脂肪酸

図3-2にT試行、G試行およびW試行における運動40分目および疲労困憊時の血糖値を示した。運動前の血糖値は3試行で同等であった(W試行： 128.3 ± 1.6 mg/dl、G試行： 124.7 ± 1.0 mg/dl、T試行： 129.3 ± 2.6 mg/dl) 運動40分目でのそれはT試行で 115.4 ± 4.4 mg/dl、G試行で 109.7 ± 9.3 mg/dl、W試行で 103.8 ± 7.1 mg/dlであり、試行間に差は認められなかった。一方、疲労困憊時にはW試行とG試行の血糖値に違いはみられなかったものの(W試行： 79.6 ± 1.4 mg/dl、G試行： 84.2 ± 2.9 mg/dl)、T試行でのそれ(92.8 ± 2.5 mg/dl)は、W試行よりも有意に高く維持されていた($p<0.05$)。

図3-2には運動40分目および疲労困憊時の遊離脂肪酸濃度を示した。運動前の値は3試行で同等であったが(W試行： 1.41 ± 0.1 mEq/l、G試行： 1.30 ± 0.1 mEq/l、T試行： 1.35 ± 0.1 mEq/l)、運動40分目のW試行における 1.77 ± 0.1 mEq/lは、G試行の 1.37 ± 0.1 mEq/lよりも有意に高かった($p<0.05$)。一方、T試行の 1.63 ± 0.1 mEq/lにはW試行の値と比べて統計的な差は認められなかった。疲労困憊時の遊離脂肪酸濃度は3試行で同等であった。

2. 疲労困憊後の肝および筋グリコーゲン量

表3-1には運動前と疲労困憊直後の肝および筋グリコーゲン量を示した。疲労困憊直後の筋グリコーゲン量は3試行とも運動前値より有意に減少していたが($p<0.05$)、G試行とT試行におけるそれはW試行より有意に高かった($p<0.05$)。しかしながら、G試行とT試行の間に差はみられなかった。また、肝グリコーゲン量についても筋グリコーゲン量

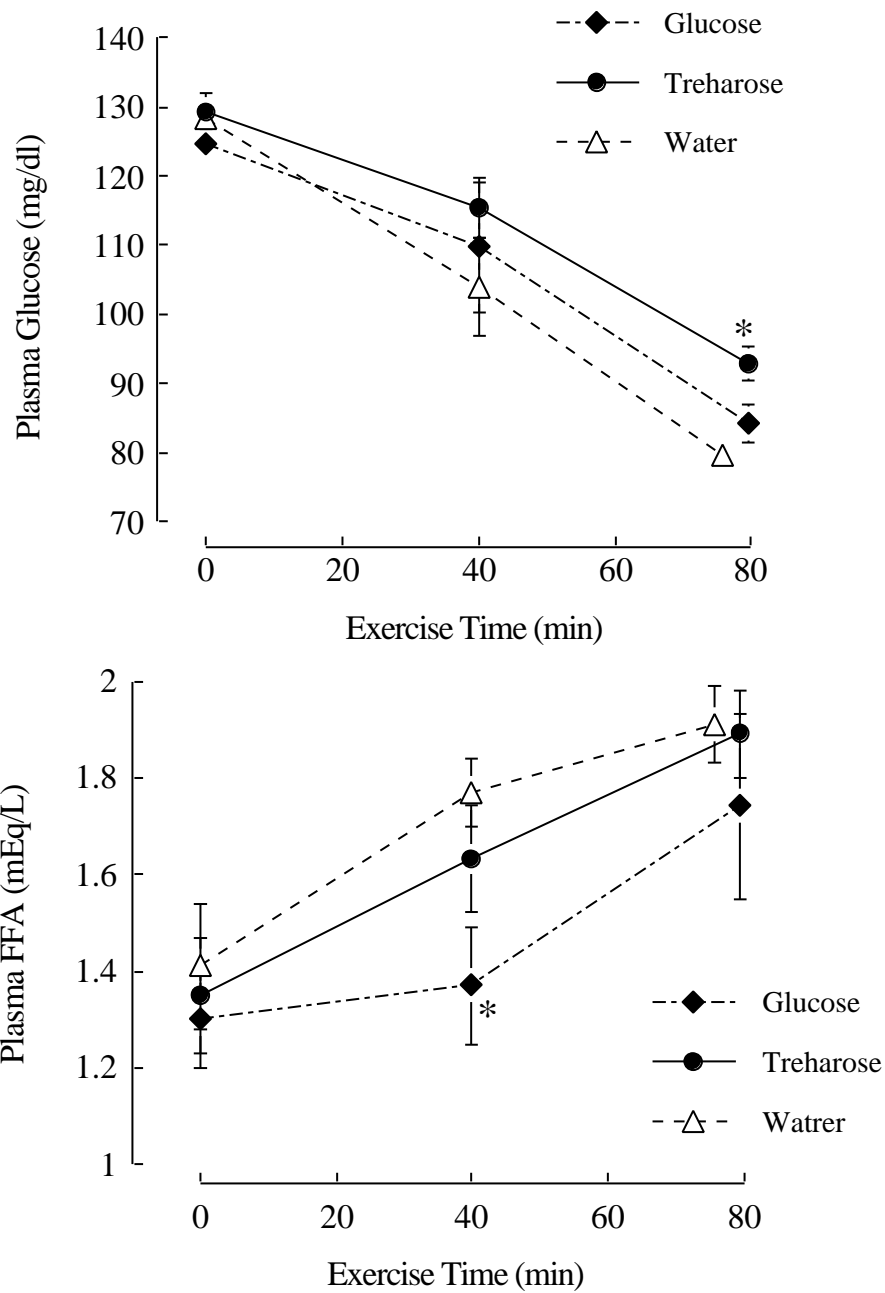


図3-2 8%グルコース, 8%トレハロースあるいは水摂取における運動中の血糖値と遊離脂肪酸濃度. *は水摂取と比べて有意に異なる値であることを示す. $p < 0.05$

表3-1 運動前後での肝臓と筋グリコーゲン量の変化

	Before running	After running		
		G	T	W
<i>gastrocnemius (mg/g wet weight)</i>				
Mean	4.63	3.25#*	3.60#*	2.17#
SE	± 0.35	± 0.22	± 0.38	± 0.11
<i>liver (mg/g wet weight)</i>				
Mean	26.0	12.3#*	12.3#*	4.42#
SE	± 1.40	± 1.56	± 0.91	± 0.28

* Significantly different from before running (p<0.05).

Significantly different from W (p<0.05).

と同様の傾向が認められた。

3. 運動持続時間

疲労困憊までの運動持続時間は、W 試行 (75.7 ± 14.5 分) と比べて T 試行 (79.4 ± 10.5 分) と G 試行 (79.3 ± 14.3 分) の延長はわずかであり、3 試行間で統計的な差は認められなかった。

【考察】

本研究では、安静状態におけるトレハロース投与後の血糖値の変化が、グルコース投与の場合よりも緩徐であった。また、長時間運動時にトレハロース溶液を投与した T 試行では、疲労困憊時の血糖値が水を投与した W 試行よりも有意に高いこと、ならびに、運動中の肝および筋グリコーゲン利用が、グルコース溶液を投与した G 試行と同様に、W 試行よりも有意に抑制されることが示された。さらに、運動 0 分目における G 試行の遊離脂肪酸濃度は W 試行よりも有意に低かったが、T 試行と W 試行では統計的な差は認められなかった。

運動開始 30~45 分前に 75g のグルコースを摂取すると、血糖値はすみやかに上昇するが、それに伴いインスリン分泌も亢進するために、運動開始時には血糖値が低下することが知られている (Foster 1979, Koivisto 1981, 1985, Levine 1983)。そして、このことが運動パフォーマンスを低下させる可能性もあることから、運動前に摂取する糖質としては、摂取後の血糖およびインスリンの応答が緩徐なものが望ましいとされている。

トレハロースの吸収はトレハラーゼ活性に大きく影響を受けるが、ヒトにおけるトレハラーゼ活性についての報告がいくつかみられる (Murray 2000, 塩坂 1997, 武内 1997)。しかしながら、ラットのトレハロース活性、およびトレハロース摂取が血糖応答に及ぼす影響についてはこれまで報告されていない。したがって、本研究では実験 1 において、安静状態におけるトレハロース溶液投与後の血糖値の変化を検討した。

8%グルコース溶液投与後，血糖値は15分目で最大値に達したのに対して，8%トレハロース溶液では投与後30分目で最大値を示しており（図3-1），武内ら（1997）の結果と同様に，トレハロース摂取後の血糖応答はグルコース摂取後よりも緩慢であると考えられた．このことには，トレハロースが腸管でトレハラーゼによりグルコースに分解されてから吸収されることが影響していると思われる（塩坂1997，武内1997）．従って，トレハロースを運動直前に摂取しても，一般的には運動初期における低血糖症を招く危険性は少ないものといえよう．

長時間運動では運動後半における血糖値の低下が疲労の発現と関わっており，それゆえ，糖質を摂取することで運動後半の血糖値および糖質酸化率を維持し，疲労の発現を遅らせることが報告されている（Coggan 1989, Coyle 1986）．また，Thomasら（1991）は，血糖値の上昇が緩徐で持続的に血糖を供給できるグライセミックインデックスの低い糖質食を長時間運動前に摂取することによって，運動後半における血糖値の低下を抑制して，疲労困憊までの運動持続時間を有意に延長することを認めている．

本研究では，疲労困憊時の血糖値はW試行とG試行で同様であったのに対して，T試行とW試行を比べると，T試行のそれは有意に高く維持されていた（図3-2）．このことは，安静状態での血糖応答における結果（図3-1）および武内ら（1997）の報告で示されたように，トレハロース投与後の血糖値の応答速度が緩やかであったことによるものと思われる．このことから，運動前のトレハロース摂取は，運動後半において持続的に血糖を供給して，パフォーマンスの改善に貢献しうる可能性を有しているとも考えられた．

しかしながら，T試行における運動持続時間はW試行と同等であった．また，G試行においてもW試行と同様の結果であった（表3-1）．Slentzら（1990）は，グルコースの投与がラットの持続的パフォーマンスを向上させたことを認めている．本研究の結果はそれとは異なるものであったが，本実験の結果からは，その理由を明らかにすることはできない．

長時間運動時における糖質摂取は，筋グリコーゲンの節約（Ericson 1987, Tsintzas 1995）

あるいは血糖値および糖質酸化の維持に貢献するが (Bosch 1994, Coggan 1989, Coyle 1986), 一方で, 脂肪分解を抑制し運動中の主要なエネルギー源である脂肪酸の利用を妨げることも知られている (Coyle 1997). 従って, 一定強度での長時間運動前に摂取する糖質としては, 脂肪分解に対する抑制作用の少ないものが望ましいといえる .

G 試行における運動40 分目の遊離脂肪酸濃度はW 試行よりも有意に低く, これまでの報告 (Coyle 1983, 1986, Tsintzas 1995) と同様に, 脂肪酸の利用が抑制されていたことを示している . 一方, T 試行と W 試行の運動40 分目の遊離脂肪酸濃度には統計的な差はみられなかった . 本研究ではインスリン濃度を測定していないが, トレハロース投与後では血糖値の上昇がグルコース投与時よりも緩徐であったことから, インスリンの分泌も少なく, 従って, 脂肪分解に対する抑制も低かったものと推測される Massicotte ら (1986) は, フルクトース摂取は運動中に血糖値を維持しつつ脂肪酸の酸化を抑制しないことを認めているが, 本研究におけるT 試行での疲労困憊時の血糖値がW 試行よりも有意に高かったことを考えると, トレハロースにも同様の効果が期待できるように思われる .

疲労困憊時の肝および筋グリコーゲン量は G 試行と T 試行において W 試行よりも有意に高い値が示され, この結果は, 糖質摂取が運動中の筋グリコーゲン利用を節約したとするヒト (Ericson 1987, Tsintzas 1995) およびラット (Slentz 1990) における報告と同様であった . 一方, T 試行と G 試行を比べると, 両者の疲労困憊時の筋グリコーゲン量は同等であった (表 3-1). フルクトース摂取では, 血中インスリンの上昇が低く遊離脂肪酸の利用を抑制する度合いが少ないことから, 運動中の筋グリコーゲン利用が節約される可能性が示唆されている (Levine 1983, Okano 1988). トレハロースも同様の特性を有しており, それゆえ, 本研究における T 試行での筋グリコーゲン利用は, G 試行に比べて低くなることも予想されたが, そのような結果は得られなかった .

運動前の糖質摂取による筋グリコーゲンの節約効果については, 様々な実験条件の違いによって影響を受けるともいわれており (Coggan 1991), トレハロースの特性である血糖値とインスリン濃度の応答によってのみ, 運動中のグリコーゲン節約効果を説明すること

は困難であろう。事実、本研究の結果と同様に、フルクトース摂取によるグリコーゲン節約効果はグルコースと同様であるとする報告 (Koivisto 1985) もなされている。

本研究では、肝グリコーゲン量もまた筋グリコーゲン量と同様の変化を示していた。運動前に摂取したフルクトースの多くは肝臓でグルコースへ変換されるため、グルコースやショ糖摂取時と比べると、運動中の肝グリコーゲンの利用を抑制することが示唆されている (Addington 1987)。また、特に2時間以内の運動では、摂取したフルクトースの酸化量はグルコースよりも有意に少なく、外因性のエネルギー源としての利用能はグルコースよりも劣るとの報告もみられる (Massicotte 1986, 1989)。これに対して、トレハロースは腸管でトレハラーゼにより分解されグルコースとして吸収されることから (塩坂 1997, 武内 1997)、運動中において吸収後から酸化されるまでの時間と酸化量はグルコースと同等であるといえる。従って、疲労困憊時におけるG 試行と T 試行の肝グリコーゲン量は同等であったと考えられる。

ところで、トレハラーゼ活性には個人差がみられることが知られており、Murray ら (2000) は健常成人369名について検討した結果、その範囲は4.8~37.1 U/g protein であったことを報告している。このことは、トレハロースが吸収される量や時間には個人差があることを意味しており、それゆえ、トレハラーゼ活性の違いによっては、かなり異なる血糖およびインスリン応答を示すと予想される。この点に関して、今後さらに検討する必要があるように思われる。

以上まとめると、ラットにおける運動前の8%トレハロース溶液投与は、8%グルコース溶液の場合と比べると、脂肪動員を抑制する作用が弱い傾向と、血糖値の上昇が緩徐であり運動後半においても血糖値を維持できる可能性が示唆された。また、グルコース投与と同様に、トレハロース投与は運動中の肝および筋グリコーゲン利用を抑制した。これらのことから、平均的なトレハラーゼ活性を有する場合には、トレハロースは運動直前に摂取する糖質として適していると思われた。

第3章 研究課題

第1節：長時間運動時の糖質摂取におけるトレハロースの検討

2. トレハロース摂取が長時間運動時の基質代謝ならびにパフォーマンスに及ぼす影響

【緒言】

筋グリコーゲンならびに肝グリコーゲン分解および糖新生に由来する血中グルコースは、長時間運動時に活動筋で酸化される重要なエネルギー基質である。したがって、筋グリコーゲンの枯渇および肝グリコーゲンの枯渇とそれに伴う低血糖症は、長時間運動時のパフォーマンスを制限する (Coggan 1987, 1989, Coyle 1983, 1986)。そして、生体内に存在する糖質貯蔵量は少ないこともあり、より良いパフォーマンスを得るためには、これを節約し、その枯渇を防ぐことが重要となる。そのための方法として、運動前および運動中に糖質を摂取することが一般的である。

これまで、長時間運動時の糖質摂取は疲労の発現を遅らせ、持続的な運動のパフォーマンスを向上させることが報告されている (Bosch 1994, Coggan 1987, Coyle 1983, 1986)。その原因としては、糖質摂取が筋グリコーゲン利用率を低下させるためであると報告している研究 (Hargreaves 1984, Yaspelkis 1993) がある一方で、筋グリコーゲン利用率を低下させないが、筋グリコーゲン濃度が減少する運動後半において、糖質利用能および糖質酸化を維持するためであるとも考えられている (Coggan 1987, Coyle 1986)。これら一連の研究では、摂取する糖としてグルコース、ショ糖、グルコースポリマーが用いられており (Bosch 1994, Coggan 1987, Coyle 1983, 1986, Hargreaves 1984, 1988, Massicotte 1989, Murray 1989, Owen 1986, Yaspelkis 1993)、一方で、フルクトースはグルコースやショ糖に比べて、パフォーマンスの向上に効果的でないことも示唆されている。したがって、長時間運動時に糖質を摂取する際には、糖質の種類を何にするかも重要である。

トレハロースはD-グルコース2分子が結合した二糖類であり、生理的燃焼熱量はショ糖、デンプンと同等である (大谷 1994, 塩坂 1997)。近年、低価格で多量生産が可能と

なったことから様々な分野で注目されている。また、トレハロース摂取時の血糖はグルコース摂取時に比べて、緩やかに上昇および低下することから（武内997）、持続的に血糖は供給されて、運動後半においても血糖値が維持される可能性も考えられる。

したがって、トレハロース摂取は運動後半において血糖値の低下やそれに伴って起こる糖質酸化の低下を抑制し、パフォーマンスを向上させるかもしれない。一方、運動～45分前のグルコース摂取は血糖の急激な上昇と引続いて運動開始時に低血糖をひき起しパフォーマンスを制限するが（Foster 1979）、急激な血糖上昇を伴わないトレハロース摂取は、インスリン応答を低減させフルクトース摂取時と同様に（Koivisto 1985）、運動開始時の低血糖症を起こりにくくするかもしれない、また、トレハロースの甘味度はショ糖の45%で、甘味は後味が残らず爽やかであるという特徴を有している（塩坂997）。これらのことより、長時間運動時に摂取する糖質としてトレハロースの有効性が期待される。

そこで本研究では、運動前および運動中のトレハロース摂取が長時間運動時の血中エネルギー基質、エネルギー基質の動員に関連するホルモン動態およびパフォーマンスに及ぼす影響を、グルコース、ショ糖、水を摂取した場合と比較検討することとした。

【方法】

1. 被検者

被検者は活動的な男子大学生7名であり、彼らの身体特性を表-2に示した。彼らは実験に関する説明を受け、実験の内容と実験に伴う危険を十分に理解した上で同意書に署名し実験に参加した。

2. 事前測定

実験運動での運動負荷を決定するために、室温25℃、湿度60%に設定された実験室において、自転車エルゴメーター（RS-232C、コンビ社）を用いて漸増負荷運動を疲労困憊まで行わせた。負荷は0ワットから毎分30ワットの割合でランプ式に増加させ、ペダル回転数は毎分60回転とした。疲労困憊の判定は、検者の叱咤激励にもかかわらず規定の

表3-2 7名の被検者の身体的特徴

	年齢 (歳)	身長 (cm)	体重 (kg)	$\dot{V}O_2\text{max}$ (ml/kg/min)
平均値	21.9	172.4	69.2	46.2
SD	±1.2	±6.5	±5.1	±5.8

回転数を維持できなくなったときとした。運動中は30秒毎に呼気ガスを自動呼気ガス分析器(RM-300, MG-360, ミナト医科学社)によって分析し酸素摂取量を求めた。また, 30秒毎に胸部双極誘導法により心拍数を心電計(カルディオスーパーE32, 日本電気三栄社)によって記録した。得られた酸素摂取量の最大値を最大酸素摂取量($\dot{V}O_{2max}$)とした。

3. 実験プロトコール

被検者には実験の12時間前より絶食を課して実験室に来室させ実験運動を行わせた。実験運動は最大酸素摂取量の $58.6 \pm 1.9\% \dot{V}O_{2max}$ 強度での60分間の一定運動と, その後引き続いて毎分10ワットの割合で疲労困憊までランプ式に負荷を漸増する自転車運動からなっていた。ペダル回転数は毎分60回転とし, 疲労困憊の判定は, 検者の叱咤激励にもかかわらず規定の回転数を維持できなくなったときとした。

実験運動としては, 8%濃度のトレハロース溶液(T 試行), 等量の8%濃度トレハロースと8%濃度ショ糖の混合液(TS 試行), 8%濃度グルコース溶液(G 試行), 8%濃度のショ糖溶液(S 試行), ならびに, アスパルテーム0.03%で甘味を添加したプラセボ溶液(P 試行)を摂取する5つの試行が行われた。これらは二重盲検法を用い試行順序はランダムに割当てられた。溶液の温度は約5℃とし, 溶液は運動開始5分前に400ml, 運動開始20, 40, 60分後にそれぞれ200mlずつ摂取させた(図3-3)。

4. 測定項目

運動開始前の5分間, 一定運動の10~15分, 30~35分, 50~55分および漸増運動中は30秒毎に呼気ガスを自動呼気ガス分析器によって分析し, 酸素摂取量と呼吸交換比を求めた。心拍数は実験運動中連続して記録した。運動前の飲料摂取前, 運動開始0分と60分目, 疲労困憊による運動終了5分後に, 肘前静脈より血液を採取した。得られた血液よりヘマトクリット値を高速遠心法により求め, 血中乳酸濃度を自動分析器(Model 23 Lactate Analyzer, YSI社)で測定した。残りの血液をすみやかに血漿と血清に遠心分離した。血清より血糖, 遊離脂肪酸, 中性脂肪を酵素法にて求め, また, 血漿よりインスリンとコルチ

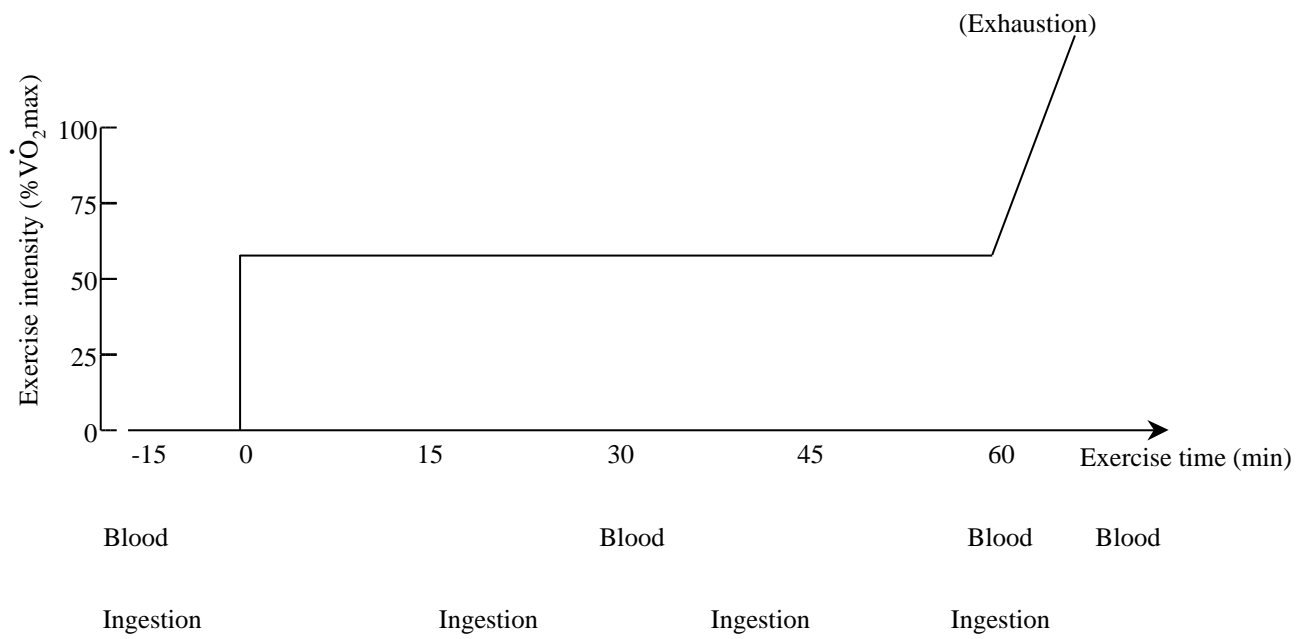


図3-3 実験プロトコール

ゾールを RIA 固相法にて、アドレナリンとノルアドレナリンを高速液体クロマトグラフィーにて測定した。また、漸増運動における疲労困憊までの運動持続時間をパフォーマンスの指標とした。

5. 統計処理

得られたデータは平均値 ± 標準偏差で表した。運動0分、60分および運動終了後の血中エネルギー基質とホルモン濃度は、運動前値からの変化量で示した。また、5試行間の有意差検定には一元配置の分散分析を施し、効果が認められた場合には多重比較を行った。危険率5%未満をもって有意とした。

【結果】

1. 血中エネルギー基質濃度

運動前からの変化分およびその絶対値において、運動0分目におけるS試行の血糖値 (8.6 ± 5.9 mg/dl, 105.9 ± 7.1 mg/dl) は、P試行 (-3.9 ± 4.5 mg/dl, 95.1 ± 9.5 mg/dl) およびT試行 (1.1 ± 8.8 mg/dl, 101.9 ± 13.8 mg/dl) に比べて有意に高い値を示した。しかしながら、それ以外に運動中および運動後の血糖値の変化分に差はみられなかった。またP試行、T試行およびTS試行において一定運動中の経時的な変化はみられなかったがS試行の60分目の血糖値は30分目よりも有意に高い値を示した。それに対してG試行の30分目の血糖値は運動前と運動60分目の値よりも有意に低かった (図-4)。

遊離脂肪酸については、運動30分目におけるS試行の -0.22 ± 0.14 mEq/L は、T試行の -0.09 ± 0.07 mEq/L およびP試行の -0.15 ± 0.26 mEq/L より有意に低い値であった。また、運動60分目においてP試行の 0.47 ± 0.25 mEq/L は他の4試行よりも有意に高い値であり、さらに、T試行の値もS試行とTS試行と比べて有意に高かった。同様に、運動終了後においても、T試行ではS試行およびTS試行よりも有意に高い値を示し、またP試行の 0.70 ± 0.27 mEq/L はS試行、TS試行およびG試行よりも有意に高かった。さらに、一定運動中においてG試行の遊離脂肪酸に経時変化はみられなかったもののT試行とP

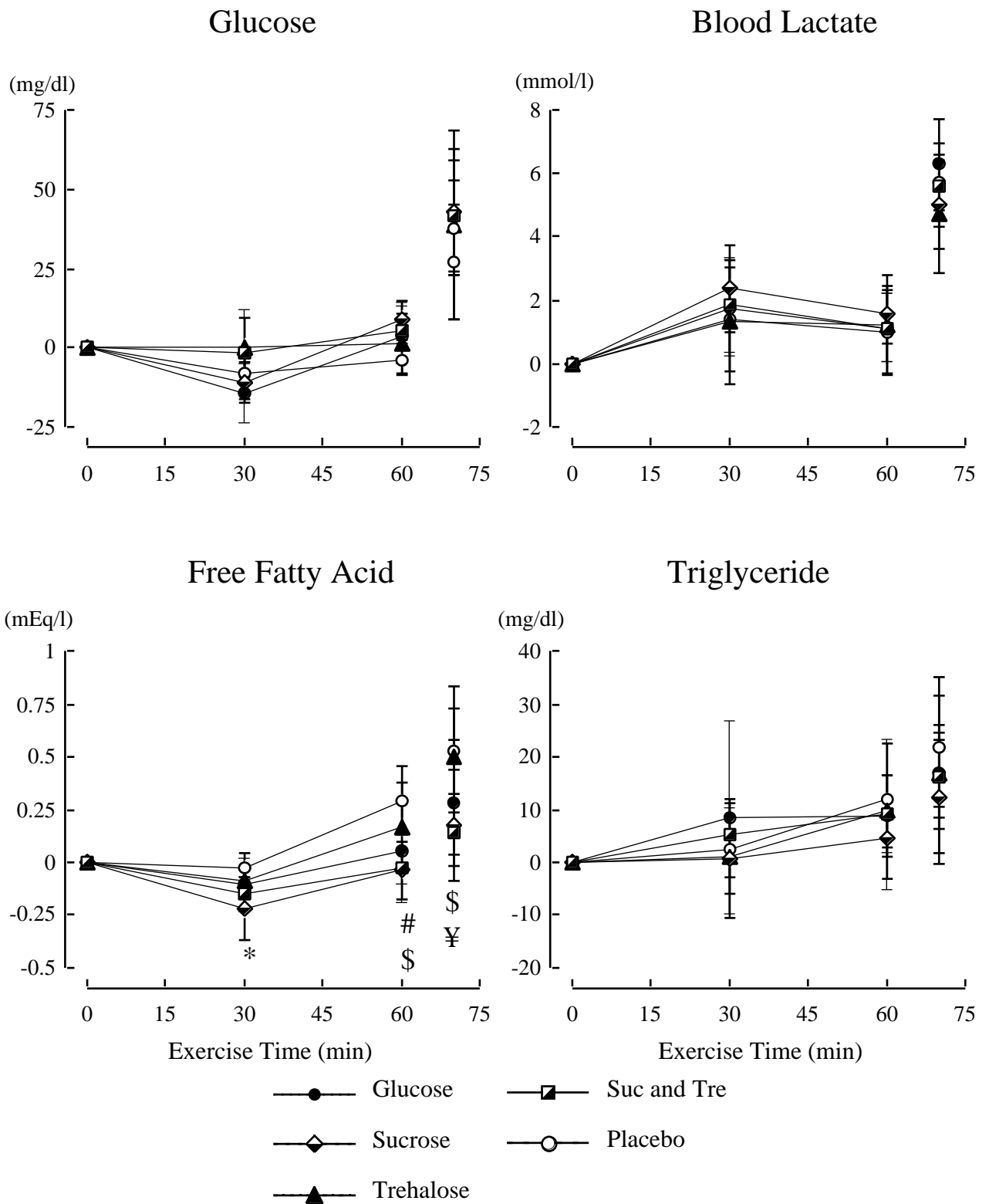


図3-4 一定運動中と疲労困憊後の血糖値，血中乳酸濃度，遊離脂肪酸濃度と中性脂肪。

* : S試行 vs T試行, P試行 (p<0.05)

: P試行 vs 他の4試行 (p<0.05)

\$: T試行 vs TS試行, S試行 (p<0.05)

¥ : P試行 vs S試行, TS試行, G試行 (p<0.05)

試行の 60 分目の値は、30 分目よりも有意に上昇した S 試行と TS 試行の 30 分目の値は運動前よりも低かった。

中性脂肪は運動時間に伴い上昇する傾向を示したが、試行間に差はみられなかった（図 3-4）。血中乳酸濃度は、一定運動中はおよそ 0.0 mmol/L に増加しその水準を維持したが、漸増運動後には大きく上昇した。しかしながら、その時点においても試行間で差はみられなかった（図 3-4）。

2. ホルモン濃度

運動 30 分目と 60 分目のインスリン濃度は、運動前と同様の値を示し試行間にも違いはみられなかった（図 3-5）。しかし、漸増運動終了後の G 試行におけるインスリン濃度は、P 試行と比べて有意に高かった。コルチゾールはいずれの運動時間においても運動前の値を維持する傾向を示し、いずれの試行間にも差はみられなかった。アドレナリンとノルアドレナリンについても同様であった（図 3-5）。

3. 呼吸循環系変量

心拍数および酸素摂取量は、時間の経過とともに上昇したが、いずれの時点においても試行間で差は認められなかった。また、呼吸交換比も試行間で同様であり、一定運動中は 0.9 以上の値を示し経時的変化はみられなかった。

4. パフォーマンス

パフォーマンスタイムは、P 試行で 11.5 ± 3.2 分、T 試行で 10.4 ± 3.4 分、S 試行で 11.2 ± 2.7 分、TS 試行で 10.6 ± 2.6 分、G 試行で 11.9 ± 3.2 分であり、試行間に違いはなかった。

【考察】

本研究の目的は、長時間運動におけるトレハロース摂取が基質代謝ならびにパフォーマンスに及ぼす影響を検討することであった。

多くの先行研究で、長時間運動時の糖質摂取が疲労の発現を遅らせてパフォーマンスを向上させることが報告されている (Coggan 1989, Fielding 1985, Mitchell 1988)。一方、Flynn

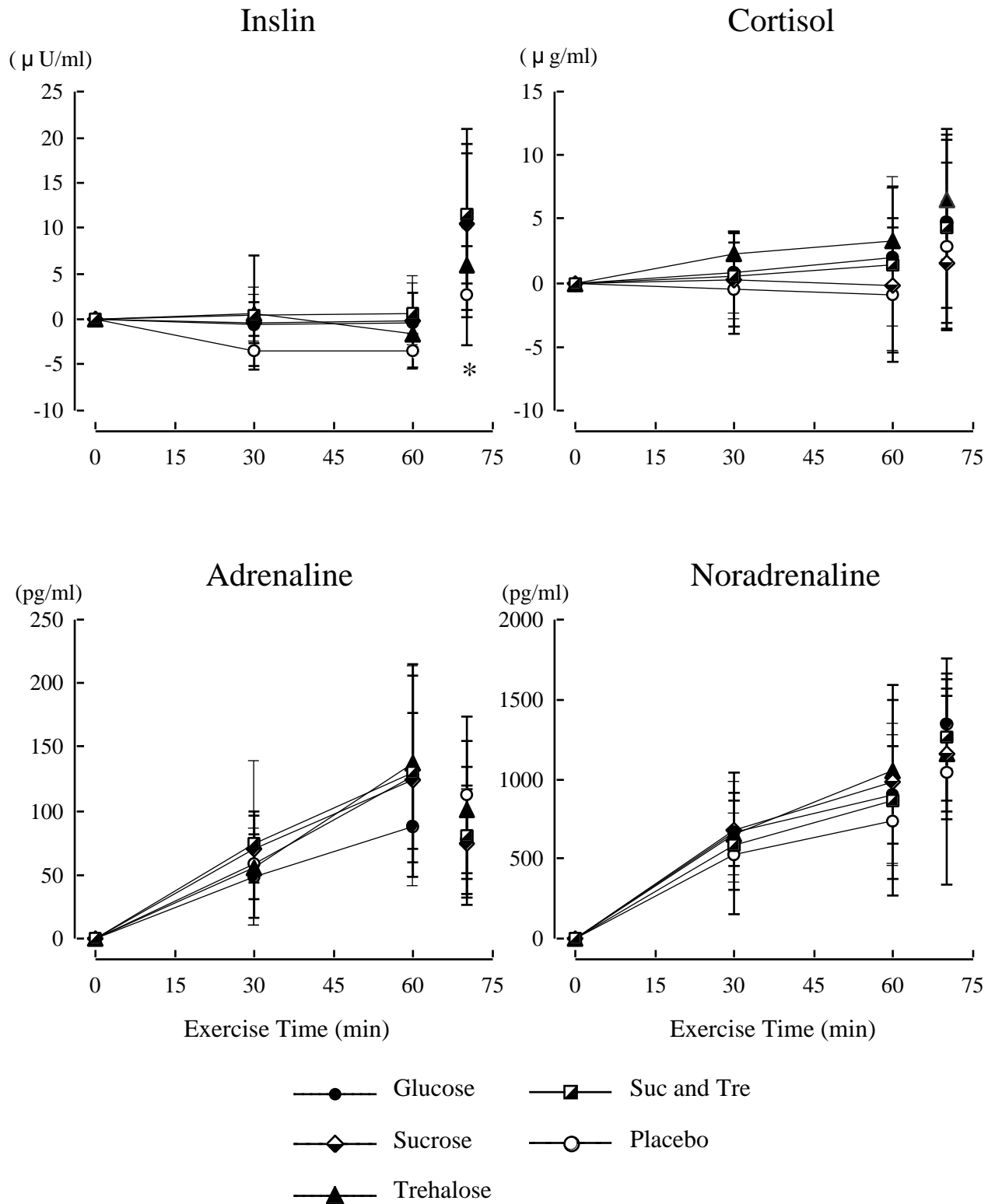


図3-5 一定運動中と疲労困憊後のインスリン，コルチゾール
 アドレナリンとノルアドレナリン。
 * : S試行 vs T試行，P試行 (p<0.05)

ら (1987) は、運動前に筋グリコーゲンを高めた状態で糖質混合溶液を摂取させても、2 時間の自転車運動中の仕事量は、プラセボ溶液摂取との間に差は認められなかったことを報告している。また、Felig ら (1982) も、約 60% $\dot{V}O_{2max}$ 強度での自転車運動を行わせるときに、グルコースとプラセボ溶液摂取試行で疲労困憊までの時間に有意な違いを認めていない。これらの報告と同様に、本研究における糖質摂取試行と P 試行のパフォーマンスに違いは認められなかった。

長時間運動時の糖質摂取がパフォーマンスを向上させる原因として、筋グリコーゲン利用率の低下が報告されている。Hargreaves ら (1984) や Yaspelkis ら (1993) は、長時間運動時の糖質摂取が疲労発現を遅らせ、その原因を筋グリコーゲン利用が節約されたためであるとしている。しかしながら、それらの実験での運動 1 時間目では、糖質摂取試行とプラセボ摂取試行との間で筋グリコーゲン利用あるいは濃度に違いは認められていない。また、糖質摂取が長時間運動時の筋グリコーゲン利用率に影響しないことを報告している知見 (Fielding 1985, Hargreaves 1988) や、自転車運動では筋グリコーゲン利用率の低下は認められないとの報告 (Bosch 1994, Coyle 1986) から考えると、本研究では、試行間の筋グリコーゲン濃度には違いはなかったと推測され、したがって、トレハロースを含む糖質摂取試行におけるパフォーマンスに改善がみられなかったと思われる。

一方、長時間運動時の糖質摂取がパフォーマンスを向上させる原因として、筋グリコーゲンが低下した運動後半において、血糖値や糖質酸化が維持されるためであると報告されている。Coggan ら (1989) や Coyle ら (1983) は、長時間運動時の糖質摂取が疲労の発現を遅らせることを認め、その原因を血糖値あるいは糖質酸化率の低下を防止するためであることを示唆している。これらの研究では、糖質摂取試行における血糖値および糖質酸化率は運動後半に有意に低下しなかった一方で、プラセボ摂取試行における血糖値は約 5.5 mM (63 mg/dl) まで低下し、また、呼吸交換比は 0.85 以下を示していた。

本研究では、運動 60 分目の血糖値が S 試行に比べて T 試行および P 試行で有意に低い値を示したものの、T 試行と P 試行の血糖値は運動前の値を維持していた。また、運動

分目の血糖値の絶対値はT 試行とP 試行ともに95 mg/dl 以上であり, Coggan ら (1989) や Coyle ら (1983) の報告にみられる低い値まで減少していない。さらに, 本研究における一定運動中の呼吸交換比に試行間で差がみられなかったことから, 糖質酸化率には全試行で違いはなかったと考えられる。また, 一定運動中の呼吸交換比は1.9 以上を示し経時変化はみられなかった。これらのことから, トレハロースを含む糖質摂取試行と P 試行のパフォーマンスの間に差がみられなかったのは P 試行でも運動後半における血糖値および糖質酸化率が低下しなかったことによると考えられる。

骨格筋への血糖の取込みや酸化は運動強度と運動時間に比例し, 筋グリコーゲン濃度に反比例することが知られている (Hargreaves 1997)。Van Handel ら (1980) は, 50% $\dot{V}O_2\text{max}$ 強度でなされた2時間の運動中に摂取した42g のグルコースのほとんどは酸化されなかったことを示している。このことから, 本研究における運動強度での1時間の自転車運動ではエネルギー源の大半を筋グリコーゲンに依存し, 血糖に依存する割合が少ないために, 糖質摂取の効果がみられなかったのかもしれない。一方, 1時間程度の運動時における糖質摂取がパフォーマンスを向上させたとする報告 (El-Sayed 1995, 1997, Jeukendrup 1997, Neuffer 1987) もあり, 本研究ではこれらとは異なる結果であった。

安静時でのトレハロース摂取は, グルコース摂取と比べて血糖値の上昇がやや緩慢であるとの報告がなされている (武内 1997)。しかしながら, 本研究において, T 試行と G 試行の血糖値に違いは示されなかった。一定運動中 T 試行での血糖値は運動前値と同様であり, 一方, T 試行での遊離脂肪酸濃度はP 試行と同様に他の糖質摂取試行よりも高かった。このことから, 遊離脂肪酸の動員という点からみてT 試行ではP 試行と他の糖質摂取試行との中間的傾向を示すといえる。これらのことは, トレハロース溶液摂取が血糖を維持し, 他の糖質摂取試行よりも遊離脂肪酸の動員抑制を低下させる作用を持つことを窺わせるものである。ただし, 全試行において呼吸交換比に差がみられなかったことから, 1時間の一定運動中, トレハロース試行において脂肪の酸化率がより高かったという証拠はない。

血糖や遊離脂肪酸の動員をはじめとして、その濃度調節には多くのホルモンが関与している。しかしながら、本研究では一定運動時のエネルギー源動員に関与するホルモン濃度に差が認められなかった一方で、血糖値と遊離脂肪酸濃度に違いが観察された Carlson ら (1991) は、血糖値の変化そのものがホルモンとは独立的に遊離脂肪酸の動員を調節することを報告している。そして彼らは、高血糖よりも正常閾血糖で遊離脂肪酸の動員率が高まることを認めている。このことから、本研究でみられた血糖値と遊離脂肪酸濃度の試行間の違いは、ホルモンの調節よりも溶液摂取に伴う血糖の応答により依存していた可能性が考えられる。S 試行での運動60分目の血糖値は30分目よりも高く、さらに、P 試行と T 試行よりも大きな値を示した一方で、遊離脂肪酸濃度は P 試行と T 試行よりも低かった。したがって、本研究における T 試行では、一定運動中に血糖値は上昇せず経時的変化がみられなかったことが原因の一部となり、他の糖質摂取試行よりも遊離脂肪酸の動員を抑制しなかったのかもしれない。

一方、T 試行において血糖値が維持され、さほど上昇しなかったのは、トレハロースの吸収が十分になされなかった結果である可能性も考えられる。まれな例ではあるが、一部の人では小腸においてトレハロースを分解するトレハラーゼが少なく、吸収が十分になされないことが認められている (塩坂1997)。したがって、このことが脂肪酸の動員を抑制しなかった要因とも考えられるが、本研究の被検者の多くがこの例に該当していた可能性は極めて少ないと考えられる。それゆえ T 試行で血糖値が維持されたのは、肝グリコーゲン分解由来および摂取したトレハロース由来の血糖の量と、運動時に骨格筋で取込まれる血糖の量が等しかったことによるものであるといえよう。

【結論】

$58.6 \pm 1.9\% \dot{V}O_{2max}$ での 60 分間一定運動に引続いて行われる負荷漸増最大運動を用いた長時間運動において、トレハロース溶液摂取は、他の糖質摂取に比べて、血糖を一定に維持する一方で、遊離脂肪酸の動員抑制を減少させる可能性が示された。しかし、水や他

の糖質溶液摂取と比較し，エネルギー基質動員に関連するホルモン濃度およびパフォーマンスに違いは認められなかった．今後，より長時間の運動でのトレハロース摂取について，そのタイミングや濃度に関するさらなる検討が必要であると思われた．