

## 博士学位論文審査報告書

|       |   |           |                        |
|-------|---|-----------|------------------------|
| 大学名   | 早稲田大学   |           |                        |
| 研究科名  | スポーツ科学研究科   |           |                        |
| 申請者氏名 | 李 茜   |           |                        |
| 学位の種類 | 博士（スポーツ科学）  |           |                        |
| 論文題目  | Muscle adaptations to nutritional modulation on rodent models<br>High-fat diet regimen and mitochondrial biogenesis<br>動物モデルでの栄養調節による骨格筋の適応<br>高脂肪食とミトコンドリア新生 |           |                        |
| 論文審査員 | 主査  | 早稲田大学教授   | 樋口 満 教育学博士（東京大学）       |
|       | 副査  | 早稲田大学教授   | 村岡 功 博士（医学）（東京医科大学）    |
|       | 副査  | 早稲田大学教授   | 鈴木克彦 博士（医学）（弘前大学）      |
|       | 副査  | 滋賀県立大学准教授 | 東田一彦 博士（スポーツ科学）（早稲田大学） |

骨格筋は様々な刺激に対して、その表現型を多様に変化させることができる能力をもっていることが知られている。例えば、持久性トレーニングによって、骨格筋はミトコンドリアの含量を増加させ、その結果として、運動中の脂肪酸化を高めて、筋グリコーゲンを節約することができるようになる。

また、骨格筋は、様々な栄養素の摂取により形態と機能を調節する可塑性を示すが、摂取する3大エネルギー源栄養素（糖質、脂質、タンパク質）の比率を変えると、骨格筋において異なった適応が引き起こされることが知られている。例えば、半世紀以上にわたって研究されてきた、持久性運動前の数日間にわたる高糖質食の摂取（カーボ・ローディング）については、骨格筋のグリコーゲン含量を増加させ、持久性運動パフォーマンスを向上させるので、広く持久系スポーツ選手に受け入れられている栄養エルゴジェニック手法である。また、タンパク質摂取を増やすと、体内でのアミノ酸の利用が増加し、骨格筋の合成が促されて、筋量、筋力、筋機能を高めることはよく知られており、多くのスポーツ選手に受け入れられている。一方、脂肪に関しても、動物実験やヒト試験によって、高脂肪食の摂取が骨格筋のミトコンドリア新生を高め、持久性運動パフォーマンスを改善することが知られているものの、その研究はまだ端緒に就いたばかりであるといえる。よく知られていることであるが、高脂肪食の長期摂取は内臓脂肪の蓄積を助長し、肥満を誘発するという健康に対する負の影響が懸念されている。

Chapter 1で示されたこのような背景を踏まえて、本学位論文では、はじめに、スポーツ栄養の基礎的研究として、高脂肪食の長期摂取が持久性能力と深く関連することが知られている骨格筋ミトコンドリア新生に及ぼす影響を、毎日でなく、一日おきという間欠的条件を

設定し、負の健康影響を除きつつ、検討しようとした斬新な研究が行われた (Chapter 2)。さらに、長期脂肪摂取の負の影響を除くために、高脂肪食摂取を中断し、普通食に切り替えた場合に、骨格筋ミトコンドリアを構成する様々な要素がどのように低減していくかが検討された (Chapter 3)。これら 2 つの動物モデルによる研究は、スポーツ栄養の現場への応用を見据えた基礎的な研究である。

Chapter 2では、若齢雄性ラットを用いて 4 週間の標準食 (動物用固形飼料: 脂肪12%、糖質59%) 摂取を対照群 (CON) とし、ラードとコーンオイルを含む高脂肪食 (ラード32%、コーンオイル18%、糖質27%) で、毎日高脂肪食を摂取する群 (HFD) と、標準食と高脂肪食を一日おきに摂取する群 (ALT) の 3 群を設定して比較検討した。その結果、3 群間で体重には差がみられなかったが、HFD群では内臓脂肪の顕著な蓄積が観察されたが、ALT群では、それが認められなかった。また、血漿遊離脂肪酸 (FFA) 濃度は、CON群と比べてHFD群、ALT群いずれも高くなっていた。

そして、骨格筋のミトコンドリアに局在することが知られているクエン酸合成酵素 (CS) や、脂肪代謝に関わる酵素 ( $\beta$ -HAD、LCAD) の活性は、CON群に比べて、HFD群、ALT群のいずれも顕著な上昇が観察された。また、ウエスタン・ブロットイング法により、ALT群でも、ミトコンドリア新生に関わるタンパク質で転写調節補助因子であるPGC-1 $\alpha$ がHFD群と同様に、CON群に比べて高くなっていることが確認された。さらに、組織化学的解析によっても、クエン酸回路と電子伝達系に関わる酵素であるコハク酸脱水素酵素 (SDH) も、CON群と比べて、HFD群と同様に、ALT群での増加が観察された。

これらの結果から、一日おきに高脂肪食を摂取しても、毎日の高脂肪摂取とほぼ同レベルでミトコンドリア新生が誘発されることが明らかになった。そして、そのメカニズムとしては、高脂肪摂取により誘引される血漿FFA濃度の上昇が、骨格筋内のPPAR $\delta$ の増加を引き起こすとともに、PGC-1 $\alpha$ の増加による可能性が考えられた。Chapter 2を構成する研究は、以下に示す原著論文の電子版にすでに掲載されている。

**Xi Li**, Kazuhiko Higashida, Takuji Kawamura and Mitsuru Higuchi: Alternate-Day High-Fat Diet Induces an Increase in Mitochondrial Enzyme Activities and Protein Content in Rat Skeletal Muscle. *Nutrients* 2016, 8, 203; doi:10.3390/nu8040203

Chapter 3では、雄性マウスを用いて、Chapter 2と同様の組成の食事による長期間にわたる高脂肪食摂取を中断した場合の、骨格筋ミトコンドリア構成要素の変化が検討された。その結果、血漿FFA濃度の上昇を伴う 4 週間の高脂肪摂取によって、上昇した脂肪代謝に関わる酵素であるLCAD活性は、標準食へと切り替えた3日間は高いレベルに維持されていたが、血漿FFA濃度が低下した中断 1 週間後には、高脂肪食摂取前のレベルに戻っていた。さらに、ミトコンドリア電子伝達系の構成要素である複合体 I、及び複合体 V は、高脂肪食摂取で増加していたが、1週間後には高脂肪食摂取前のレベルにまで低下していた。一方で、ミトコンドリアのDNAコピー数についてみると、高脂肪食摂取後の高いレベルを、中断1週間後でも高く維持していることが明らかになった。

これらの結果から、高脂肪食摂取の中断による様々なミトコンドリア構成要素の低下傾向は、異なるメカニズムにより制御されている可能性が示唆された。Chapter 3を構成する研究も、日本栄養・食糧学会の国際学術誌に原著論文として投稿され、速やかな採択が期待さ

れる。

本博士学位論文のいずれの研究においても、高脂肪食摂取が運動パフォーマンスそのものに及ぼす影響に関する検討がなされていないのは惜しまれるところである。本博士学位論文で用いられた高脂肪食の組成は、飽和脂肪酸を多く含むものであり、どちらかという肉類が多い欧米食の脂肪酸組成に近いと思われる。日本人が日常的にとっている食事によく提供される魚類に多く含まれている多価不飽和脂肪酸(EPAやDHAなど)を多く含む高脂肪食でも、本研究結果と同様な効果が期待できるかどうかは、日本人スポーツ選手の栄養サポートを考えると非常に興味深く、今後の更なる検討が期待される。

以上、本博士学位論文を構成するChapter 2, 3で行われた研究は、今後のスポーツ栄養サポートを展望すると、競技パフォーマンス向上を目指した栄養エルゴジェニックの一技法として、非常に有意義であり、興味深く、スポーツ科学分野の基礎研究として高く評価される。

李茜が申請した本博士学位論文は、博士(スポーツ科学)の学位を授与するに十分値するものと認める。

以 上