

2018年1月6日

## 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	矢田 光一		
学位の種類	博士（スポーツ科学）		
論文題目	抗酸化ビタミンおよびポリフェノールが骨格筋の適応および持久力に及ぼす影響 Effects of antioxidant vitamins and polyphenols on skeletal muscle adaptation and endurance capacity		
論文審査員	主査	早稲田大学教授	鈴木 克彦 博士（医学）（弘前大学）
	副査	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	赤間 高雄 医学博士（筑波大学）

運動トレーニングはアスリートの競技力の向上から一般人の健康の維持・増進まで幅広く行われている。しかし、激しい運動を行うと体内で活性酸素の生成量が増加することが知られている。活性酸素とは大気中の酸素より活性化された酸素と定義され、その反応性の高さにより、脂質、タンパク質、DNAを酸化することにより酸化的損傷を引き起こす。この状態は酸化ストレスと呼ばれ、パフォーマンスの低下とも関連があるとされているため抗酸化物質の摂取が推奨されている。一方、近年、抗酸化物質であるビタミンCの摂取により、運動トレーニングによる骨格筋のミトコンドリア新生が阻害されたとの報告がなされた。このことは活性酸素が運動による骨格筋の適応のシグナル伝達物質の一つであり、抗酸化物質の摂取により運動で生じる活性酸素を過度に消去すると本来得られるはずの骨格筋の適応が得られなくなることを示唆している。上記の報告以降、抗酸化物質の種類や摂取期間、運動の強度などを変えて様々な検討がされている。しかしながら、抗酸化物質の摂取はトレーニングによる骨格筋の適応を阻害しないとの報告もあり、一定の見解は得られていないというのが現状である。また、抗酸化物質の一種であるポリフェノールに関しては、抗酸化作用以外に抗炎症、抗肥満、抗がん作用など、様々な作用があることが報告されている。さらに、骨格筋の適応を促進するとの報告もある。

第2章では、抗酸化物質の一種であるビタミンCが低強度、長時間の水泳運動でのトレーニングによる骨格筋の酸化ストレス、抗酸化酵素および抗酸化酵素活性に及ぼす影響を検討した。SD系雄性ラットを用いて、ラットに25日間のビタミンCの投与と10日間の6時間の水泳運動を負荷した。その結果、10日間の水泳運動の負荷により、酸化ストレス、抗酸化酵素の一種であるスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)活性、クエン酸回路の酵素の一つであり、ミトコンドリア新生の指標であるクエン酸合成酵素(CS)活性および糖代謝に関連する酵素であるヘキソキナーゼ(HK)活性が増加した。ビタミンCの投与により酸化ストレスは軽減されたものの、SOD、CS、HK活性には影響を及ぼさなかった。以上の結果から、ビタミンCの投与は運動による酸化ストレスを軽減するものの、骨格筋の適応(特に酵素活性の増加)には影響を及ぼさないことが示された。本研究は第67回日本体力医学会大会にて発表を行い、日本運動生理学雑誌に論文が掲載された。

第3章では、抗酸化ビタミンの投与が一過性運動による骨格筋の適応のシグナル伝達に及ぼす影響を検討した。雄性C57BL/6マウスを用いて、マウスに2週間の抗酸化ビタミン(ビタミンC:750mg/kg, ビタミンE:150mg/kg)投与の後に25m/min, 8%で2時間のトレッドミル走を負荷した。その結果、一過性運動の直後に酸化ストレス指標、AMP-activated protein kinase (AMPK) および p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK) タンパク質のリン酸化が増加した。さらに運動の3時間後に転写補助因子である peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 $\alpha$ ) の遺伝子発現が増加し、nuclear receptor co-repressor 1 (NCoR1) の遺伝子発現が低下し、ミトコンドリア新生の指標であるCSおよび血管新生の指標である血管内皮増殖因子(VEGF)の遺伝子発現が増加していた。それに対して、抗酸化ビタミンの投与により酸化ストレス指標およびAMPKとp38 MAPKのリン酸化が抑制された。しかしながら、その下流に位置する転写補助因子であるPGC-1 $\alpha$ およびNCoR1、さらに骨格筋適応の指標であるCSおよびVEGFには影響を及ぼさなかった。以上の結果から、抗酸化ビタミンの投与により、一過性運動による酸化ストレスの上昇およびそれに伴うAMPKとp38 MAPKのリン酸化は抑制されたが、転写補助因子や骨格筋適応の指標の転写補助因子には影響を及ぼさないことが示された。また、運動による骨格筋適応のシグナル伝達には活性酸素に非依存的な経路が存在する可能性が示唆された。本研究の一部は第69回日本体力医学会大会ならびに2014 Australian Physiological Society Meetingにて発表し、Journal of Applied Life Sciences Internationalに掲載された。

第4章では、タペブイア・アベラネダエというブラジルのアマゾン川流域に自生する樹木から抽出されたタヒボポリフェノールが抗酸化作用や持久力に及ぼす影響ならびにそのメカニズムについて検討した。雄性 C57BL/6 マウスを用いて、マウスにタヒボポリフェノールを 200mg/kg 単回投与した 1 時間後にトレッドミルを用いた疲労困憊運動を負荷した。その結果、タヒボポリフェノールの投与により走行時間が有意に延長した。さらに、タヒボポリフェノールの投与により、血糖値、骨格筋のグリコーゲン量の増加、骨格筋および肝臓のグリセロール量の低下および血中尿素窒素濃度の低下が生じていた。一方で、グリセロールは血中遊離脂肪酸濃度には影響を及ぼさなかった。したがって、タヒボポリフェノールは血糖および骨格筋のグリコーゲン量を維持することにより運動時間の延長をもたらしたと考えられた。さらに、グリセロールは糖新生の基質の一種であることからタヒボポリフェノールの投与により糖新生が促進されている可能性が示唆された。次に、実際に糖新生や骨格筋のグリコーゲン合成に関連する酵素の遺伝子発現に及ぼすタヒボポリフェノールの影響を検討した。その結果、糖新生に関連するグルコース-6-フォスファターゼの遺伝子発現が安静時にてタヒボポリフェノールの投与により増加した。さらに、骨格筋においては、タヒボポリフェノールの投与によりグリコーゲン合成酵素であるグリコーゲンシンターゼの遺伝子発現が増加し、グリコーゲン分解酵素であるグリコーゲンホスホリラーゼの遺伝子発現が低下した。また、タヒボポリフェノールは、運動による酸化ストレス指標の増加を抑制したが、一方で、骨格筋適応のシグナル伝達経路に関連するタンパク質の遺伝子発現を増加させた。以上の結果より、タヒボポリフェノールの摂取は糖新生や骨格筋のグリコーゲン合成の経路に関する酵素の発現を介する血糖値および骨格筋のグリコーゲンの維持によって持久力を向上させることが示された。本研究の一部は第 71 回日本体力医学会大会にて学会発表し、論文を投稿中である。

第5章では第2章から第4章までの総括を行った。総括として、抗酸化ビタミンの摂取は活性酸素の消去により一過性運動によるリン酸化タンパク質の AMPK および p38 MAPK のリン酸化を抑制するものの、転写補助因子や骨格筋適応の遺伝子発現に影響は及ぼさず、さらにはトレーニングによる骨格筋の適応の一種である抗酸化酵素、ミトコンドリア新生に関連する酵素、および糖代謝に関連する酵素の活性に影響を及ぼさなかった。一方で、多機能性が知られているポリフェノールの検討では、タヒボポリフェノール投与により、抗酸化作用に加え糖代謝の改善により持久力の向上が生じた。このことは、これまでは脂質代謝の向上を介した持久力の向上について報告されていたポリフェノールに関して、糖代謝の改善を介した新たな持久力向上のメカニズムの発見を示唆

している。

運動時に発生する活性酸素の生理的意義や生じる酸化ストレスの生体に及ぼす影響に関しては議論のあるところであり、それはアスリートの抗酸化サプリメントの摂取の是非にも関連している。本博士論文は、その問題の解明の一端を担ったと言える。したがって、矢田光一氏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。

本学位論文に関連した学術誌掲載学術論文は以下の通りである。

- ・矢田光一，鈴木克彦，的場秀樹，2015，ビタミンC投与が持久性トレーニングによる骨格筋の代謝関連酵素および抗酸化酵素活性の変化に及ぼす影響．日本運動生理学雑誌，第22巻第2号 77-79頁．
- ・Koichi Yada, Tsubasa Mizokami, Hiroyuki Niihara, Katsuhiko Suzuki, 2015, Vitamin C and E supplementation inhibits acute exercise-induced skeletal muscle signaling but does not alter marker of muscle adaptations. Journal of Applied Life Sciences International, 3(3): 122-130.

以 上