

Mini Review

分岐鎖アミノ酸が高強度運動負荷後の骨格筋再生に及ぼす影響

¹大塚製薬(株)佐賀栄養製品研究所, ²電気通信大学大学院先進理工学専攻
³山口大学大学院医学系研究科, ⁴山口大学教育学部, ⁵北海道医療大学歯学部
 鈴木 淑水¹, 狩野 豊², 宮田 浩文³, 杉浦 崇夫⁴,
 山口 明彦⁵, 野田 恒行¹, 濱田 広一郎¹

The effect of continuous BCAA administration on skeletal muscle regeneration after strenuous exercise

Toshimi Suzuki¹, Yutaka Kano², Hirofumi Miyata³, Takao Sugiura⁴,
 Akihiko Yamaguchi⁵, Tsuneyuki Noda¹ and Koichiro Hamada¹

¹Saga Nutraceuticals Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd.,

²Dept. of Engineering Science, Univ. of Electro-Communications,

³Biological Science, Graduate School of Medicine, Yamaguchi Univ.,

⁴Dep. of Education, Yamaguchi Univ.,

⁵Dept. of Integrated Human Sciences, School of Dentistry, Health Sciences Univ. of Hokkaido

1. はじめに

運動による骨格筋損傷は、高強度運動時のみならず低強度運動時においても引き起こされるため、比較的頻繁に損傷と修復が繰り返されているが、骨格筋の優れた自己修復能力によって、損傷前の状態に回復、または、構造や機能がリモデリングされる。しかしながら、オーバートレーニング時など、まれに、骨格筋が適確に修復されない場合もある。骨格筋の修復制御機構を分子レベルで明らかにすることは、筋修復や筋再生に伴う問題を解決するため重要である。また、筋修復や筋再生に及ぼす適切な健康管理、栄養成分の摂取効果について検討することは、コンディショニング維持を考える上で必要である。本稿では、筋伸張性運動誘発性筋損傷に起因する炎症反応および筋増殖因子(MRFs)による骨格筋再生機構の制御に対してBCAAがどのような影響を及ぼすかについて、ラット筋伸張性運動誘発性筋損傷モデルを用いた検討結果を紹介する。

2. 背景

様々な運動形式の中でも筋伸張性運動は、負荷に対し筋の長さが伸びながら筋収縮が起こることで損傷を誘発しやすく、歩行などの低強度運動時においても損傷が起こることが知られている。さらに、筋伸張性運動では、Z膜、筋小胞体などの機械的破壊に加え、細胞内カルシウム濃度上昇による細胞内プロテアーゼ(カルパイン)の活性化、マクロファージの細胞内浸潤による筋タンパクの分解¹⁾などの副次的な筋損傷を引き起こすことも

知られている。

骨格筋損傷後の炎症応答は、損傷細胞の破壊と除去を目的としたシグナリングの他、運動による機械的損傷をより亢進させ、細胞新生のトリガーとなるシグナリングを発する重要な役割を果たす²⁾ことが知られている。また、筋再生に関わる筋サテライト細胞は、筋増殖因子(MRFs)に制御され、細胞分裂をおこし、筋芽細胞へ分化・増殖を経て成熟し、損傷部位を修復する^{3,4)}。その制御機構にBCAA、特にロイシンが影響を及ぼす可能性があるが、詳細な検討はされていない。

筋損傷に関しては、様々な手法で研究が行われており、小動物を用いた運動誘発性筋損傷モデルには電機刺激で強制的に筋収縮をおこさせる方法やトレッドミルを用いたダウンヒル運動などがある。後者では自然に近い運動誘発性筋損傷を起すことはできるが、負荷強度にバラツキが出てしまい筋損傷を一定に誘発するのは難しい。しかしながら、電気刺激による筋伸張性運動誘発性筋損傷モデルは筋損傷を一定に誘発できるため、栄養実験などの小さな効果を検出する場合に有効なモデルである。このモデルの特徴は、個体ごとに最高張力を誘発する電圧や初期関節角度、筋伸張スピードが設定できるため負荷強度のバラツキを少なくできるところにある。このモデルを用いた狩野ら⁵⁾の実験において、組織学的手法により、損傷後24時間で筋細胞で浮腫が起き3日後で好中球やマクロファージによる浸潤と完全な細胞死、7日目で細胞新生が確認されている。

一方、前脛骨筋(TA)は、特にMRFsが発現しやす

いType II筋線維が表面に多く分布し⁶⁾、筋線維の向きが一定で、物理的に筋が皮膚下に位置し、表面電極による刺激で拮抗筋の影響を受けにくい。またTAは、このモデルでの損傷割合も比較的高いことが明らかになっている。このためTAは、運動誘発性筋損傷を評価するために最適な骨格筋であると考えられる。我々は、このラットTA筋伸張性運動誘発性筋損傷モデルを用いて、筋損傷後の骨格筋再生機構の制御についてBCAA摂取の影響を検討することとした。

3. 方法

12週齢のWistar系雄ラットを、①CONT群および②BCAA群に分け、運動負荷の前後1時間に対照溶液またはBCAA溶液 (1.35g/kg, バリン:ロイシン:イソロイシン=1:2:1) を経口投与した。また、各溶液は、運動負荷翌日から筋摘出日まで毎日投与した。ラットの右側前脛骨筋に対し、表面電極による電気刺激(100Hz, 500msec, 10V) 筋収縮を起こし、足関節に連結したモーターにより筋伸張を同時に行い、筋伸張性収縮を強制的に40回負荷した(EC脚)。対照脚には擬似手術を行いコントロールとした(INT脚)。運動負荷前、1、3、7、14日後に両側の前脛骨筋を摘出し、筋重量およびHE染色による再生筋横断面積、real time RT-PCR法による筋形成制御因子mRNA発現量を測定した。

4. 結果

炎症期である3日後の筋重量は、CONT群ではINT脚に比べEC脚で有意に高かったが($p<0.05$)、BCAA群では、両脚に差はなかった(図1)。再生期である14日後の筋重量は、CONT群ではINT脚に比べEC脚で有意に低かったが($p<0.05$)、BCAA群では、両脚に差はなく(図1)、再生筋横断面積は、CONT群に比べBCAA群で有意に大きかった($p<0.05$)。筋形成制御因子のひとつであるMyogenin mRNA発現量は両群で損傷3日後にピー

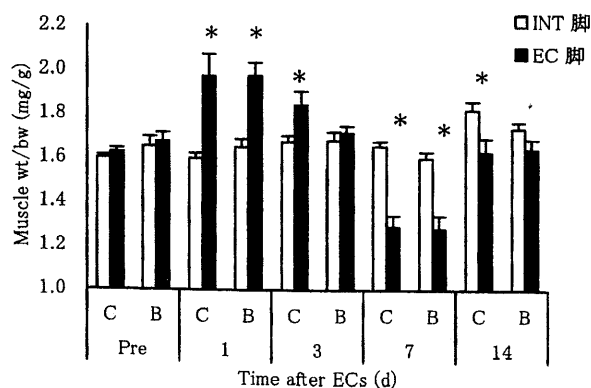


図1. 損傷脚 (EC脚) と非損傷脚 (INT脚) の筋重量
EC, 伸張性運動; C, CONT群; B, BCAA群.
*vs. INT脚, $p<0.05$.

クに達し、7日後にCONT群に比べBCAA群で低下した($p=0.05$)。

5. 考察とまとめ

筋伸張性運動誘発性筋損傷後の筋重量の評価により、BCAA群の炎症期の短縮や、新生筋成長の加速が示唆された。再生機構を促進させた推測として、まず、BCAAが炎症期におこる浮腫後のマクロファージ等に何らかの影響を及ぼし、その浸潤から細胞死までを亢進させた可能性が考えられる。メカニズムとしては、BCAAの代謝物であるグルタミンの免疫細胞への供給⁷⁾や免疫細胞の活性化⁸⁾が推測されるが、炎症反応に対するBCAA摂取の影響についての報告は少なく、今後更なる研究が必要である。一方、今回の実験において、BCAAのMRFs Myogeninに対する作用を初めてin vivoで確認した。この結果は最近報告されたAverousら⁹⁾のin vitroの研究成果と一致した結果であった。彼らは、C2C12筋芽細胞や筋サテライト細胞を用いた実験で、培地中のロイシン添加量が、MRFsの発現に影響を及ぼすことを確認している。推測できるメカニズムとしては、Hanら¹⁰⁾が検証しているin vitroの結果から、ロイシンが肝臓や骨格筋から分泌されるIGF-1と共にmTORを介して筋サテライト細胞を活性化した結果、MRFs mRNA発現に影響を及ぼしたことが考えられる。しかしながら、mTOR活性からMRFs活性に至るまでのカスケードについて未知の部分が多く今後更なる研究が必要である。

本試験において、BCAA摂取は、筋損傷後の骨格筋再生機構の制御に影響を及ぼし、骨格筋再生が加速することが示唆された。今後、BCAAを含めた様々な栄養成分の骨格筋再生機構への影響、メカニズムを検討し、筋損傷後の適切な健康管理、栄養成分の摂取方法を明らかにし、よりよいコンディショニング方法の確立のために貢献したいと思う。

【文献】

- 1) Lieber RL, Friden J (2002) Mechanisms of muscle injury gleaned from animal models. *Am J Phys Med Rehabil.* **81**: S70-9.
- 2) MacIntyre DL, Reid WD, McKenzie DC (1995) Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Med.* **20**: 24-40.
- 3) Le Grand F, Rudnicki MA (2007) Skeletal muscle satellite cells and adult myogenesis. *Curr Opin Cell Biol.* **19**: 628-33.
- 4) Karalaki M, Fili S, Philippou A, Koutsilieris M (2009) Muscle regeneration: cellular and molecular events. *In Vivo.* **23**: 779-96.
- 5) Kano Y, Sampei K, Matsudo H (2004) Time course

- of capillary structure changes in rat skeletal muscle following strenuous eccentric exercise. *Acta Physiol Scand.*, **180** : 291-9.
- 6) Atsuko Hara TY, Saeko Wakai, Shinya Morinaga, Rui Yuge, Eriko Tsutsumi, Hiroki Kajihara (2002) Expression of myogenin, MyoD and MHC isoforms in regenerating skeletal muscle. *Journal of health sciences, Hiroshima University*, **2** : 12-18.
- 7) Nicastro H, da Luz CR, Chaves DF, Bechara LR, Voltarelli VA, Rogero MM, Lancha AH, Jr. (2012) Does Branched-Chain Amino Acids Supplementation Modulate Skeletal Muscle Remodeling through Inflammation Modulation? Possible Mechanisms of Action. *J Nutr. Metab.*, 1-10.
- 8) Calder PC (2006) Branched-chain amino acids and immunity. *J Nutr.*, 136 : 288S-93S.
- 9) Averous J, Gabillard JC, Seilliez I, Dardevet D (2011) Leucine limitation regulates myf5 and myoD expression and inhibits myoblast differentiation. *Exp.*, **318** : 217-27.
- 10) Han B, Tong J, Zhu MJ, Ma C, Du M (2008) Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and leucine activate pig myogenic satellite cells through mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. *Mol Reprod Dev.*, **75** : 810-7.