

令和 2 年 9 月 14 日現在

機関番号：37111

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19764

研究課題名(和文)骨格筋の成長を促すアミノ酸や低分子ペプチドの探索と同定

研究課題名(英文) Egg white protein promotes developmental growth of rat skeletal muscle.
Identification of the growth promoting factor derived from egg white protein.

研究代表者

川中 健太郎 (Kawanaka, Kentaro)

福岡大学・スポーツ科学部・教授

研究者番号：80339960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：必須アミノ酸のなかでも特にロイシンがタンパク質合成反応を促進して、筋の発育成長を強力に促す。しかし、本研究では、ロイシン含有率の高いカゼインに比べて、ロイシン含有率が低い卵白タンパク質の摂取がラットの発育成長を促進した。これは、卵白タンパク質に多く含まれるロイシン以外の成分によるものと考えられる。その候補のひとつとしてアルギニンが挙げられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、アルギニン含有量が高いタンパク質の摂取が骨格筋の成長に有効である可能性が示された。この知見は、ロイシン中心に動いている筋肉づくり研究の分野に新しい視点を導入するとともに、血中アルギニンを指標とした食事処方の考案、また、アルギニンを強化した機能性食品の開発等に繋がる。これらは、子どもの身体づくり、スポーツ選手の競技力向上、さらには、高齢者のサルコペニア対策に応用できる。

研究成果の概要(英文)： Leucine is well known to stimulate skeletal muscle protein synthesis. Furthermore, casein, the major protein of milk, is rich in leucine, while proteins derived from egg, e.g. albumin or egg white protein, are relatively low in leucine. However, in our present study, the largest growth promoting effect was observed in young rats fed egg white protein diet for 2 weeks, followed in order by albumin and casein diet. After each egg white protein, albumin, and casein were acutely administered to young rats, we used CE-MS metabolomics to observe the changes in total 292 metabolites in rat EDL muscle. Among these metabolites, arginine concentration was highest when egg white protein was administered, followed in order by albumin and casein. Since muscle growth rate correlated positively with arginine concentration, growth promoting effect of egg white protein may be due to increased muscle arginine level.

研究分野：スポーツ栄養学

キーワード：卵白タンパク質 アルブミン カゼイン ラット 骨格筋 発育成長

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食事摂取は臓器の発育成長、特に臓器重量の約半分を占める骨格筋のタンパク質合成を促進する (Davis et al. 2009)。これは、食事摂取にともなう血中アミノ酸とインスリンの上昇に依存するものである (Davis et al. 2002)。したがって、十分なタンパク質摂取量が骨格筋の発育成長にとって重要である。また、必須アミノ酸含有率の高い動物性タンパク質は、植物性タンパク質に比べて発育成長促進作用が強く、さらに、必須アミノ酸のなかでも特にロイシンがタンパク質合成反応を促進して、筋の発育成長を強力に促すことが先行研究において報告されている (Escobar et al. 2005)。したがって、ロイシン含有率の高いタンパク質は筋の発育成長を促進すると予想できる。

また、摂取したタンパク質が消化されて生じるアミノ酸や低分子ペプチド(アミノ酸 2-4 残基)は吸収されて骨格筋に取り込まれる。これらのなかには、ロイシン以外にも筋タンパク質合成と発育成長を促進するアミノ酸や低分子ペプチドが存在する可能性もある。

2. 研究の目的

本研究では、1) 動物性タンパク質のなかでもロイシン含有率の高い乳タンパク質(カゼイン)、ならびにロイシン含有率が比較的低いアルブミンや卵白タンパク質の摂取が実験動物の発育成長に及ぼす影響について比較検討した。また、2) それぞれの動物性タンパク質(カゼイン、アルブミン、卵白タンパク質)を急性に摂取させた後、筋内におけるアミノ酸や低分子ペプチドをはじめとした代謝物の変化をメタボローム解析で網羅的に分析し、発育成長との関連性を検討した。

3. 研究の方法

(1) 研究 1: 種類の異なる動物性タンパク質(カゼイン、アルブミン、卵白タンパク質)の摂取がラットの発育成長に及ぼす影響

発育期にある 5 週齢の Wistar 系雄性ラット(体重 130~145g)24 匹を、カゼイン群(n=8)、アルブミン群(n=8)、もしくは卵白タンパク質群(n=8)に分けた。それぞれの群のラットには、餌中のタンパク質源がカゼイン、アルブミン、もしくは卵白タンパク質である食餌を摂取させながら、14 日間飼育した。それぞれの食餌の PFC 比(10: 15: 75)は同一であり、タンパク質源であるカゼイン、アルブミンあるいは卵白タンパク質以外は全て同一とした。飼育期間中はラットの体重を毎日測定し、飼育終了後は下肢の骨格筋を摘出して重量を測定した。

(2) 研究 2: 種類の異なる動物性タンパク質(カゼイン、アルブミン、卵白タンパク質)摂取後における筋内代謝物蓄積状態

発育期にある 5 週齢の Wistar 系雄性ラット(体重 130~145g)21 匹をカゼイン群(n=7)、アルブミン群(n=7)、もしくは卵白タンパク質群(n=7)に分けた。それぞれの群のラットには、18 時間の絶食後、0.4g のカゼイン、アルブミン、もしくは卵白タンパク質を急性経口投与した。さらに、急性投与 1 時間後(各群それぞれ n=4)ならびに 3 時間後(各群それぞれ n=3)に長趾伸筋を摘出し、キャピラリー電気泳動 - 飛行時間型質量分析計(SE-TOFMS)を用いた代謝物解析に供した。解析は(株)ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ(HMT)に委託し、HMT 代謝物質ライブラリーならびに HMT ペプチドリスト(2~4 残基)に登録された 292 種類の物質を対象に行った。このなかには、19 種類のアミノ酸、3 種類のジペプチド、92 種類のペプチド(アミノ酸 3-4 残基)が含まれている。

4. 研究成果

(1) 研究 1

1) 種類の異なるタンパク質の摂取が体重とタンパク質効率(PER)に及ぼす影響

発育期のラットにカゼイン，アルブミンもしくは卵白タンパク質をタンパク質源として含む食餌を摂取させながら 14 日間飼育した。図 1 に示すように、アルブミン群や卵白タンパク質群の体重変化量は、カゼイン群と比較して有意に高い値を示した($p < 0.01$)。また、アルブミン群に対して卵白タンパク質群の体重変化量は有意に高い値を示した($p < 0.01$)。さらに、タンパク質摂取量 1g あたりの体重増加量を示すタンパク質効率 (PER) を算出したところ、PER は卵白タンパク質，アルブミン，カゼインの順に高い値を示した(図 2)。

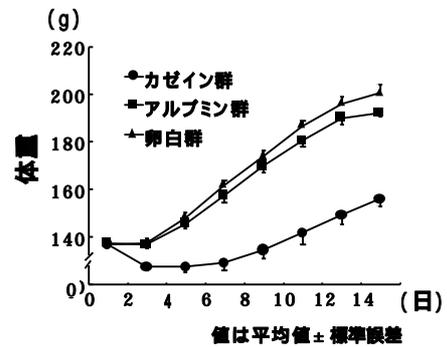


図1. 飼育期間中の体重推移

2) 種類の異なるタンパク質の摂取が骨格筋重量に及ぼす影響

遅筋であるヒラメ筋，速筋である長趾伸筋，ならびに混合筋である足底筋と腓腹筋について、14 日間の飼育期間終了後における筋重量を図 3 に示した。4 種類全ての筋において、カゼイン群と比較してアルブミン群や卵白タンパク質群では有意に高い値を示した($p < 0.01$)。ヒラメ筋においては、アルブミン群と卵白タンパク質群の間に差は認められなかった。一方、長趾伸筋、足底筋ならびに腓腹筋では、アルブミン群に対して卵白タンパク質群では有意に高い値を示した($p < 0.05$)。

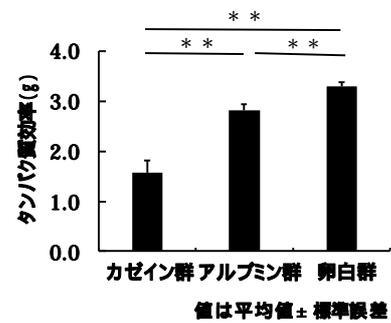


図2. タンパク質効率

3) 考察

当初の予想に反して、ロイシン含有率の高いカゼインに比べて、ロイシン含有率の比較的低いアルブミンや卵白タンパク質のほう

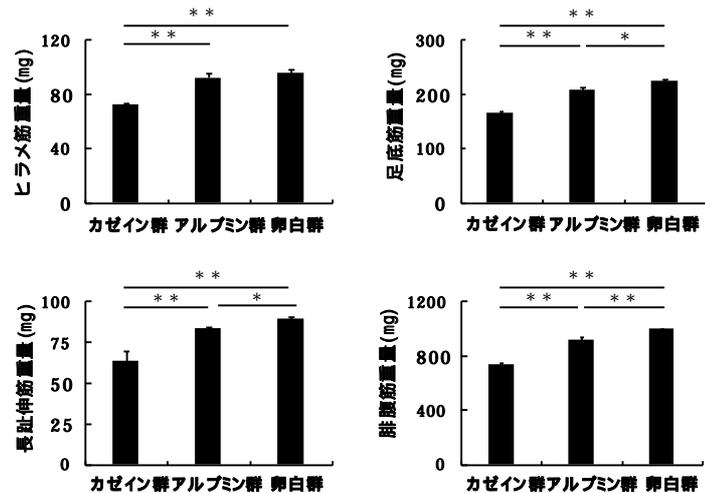


図3. 飼育期間終了後の筋重量 (値は平均値 ± 標準誤差)

が骨格筋の発育成長が促進された。我々は、アルブミンや卵白タンパク質の加水分解 (消化) 産物のなかには、ロイシン以外にも発育成長促進を強力に促す代謝物 (代謝物 X) が含まれていると予想している。

また、卵白タンパク質は様々な種類のタンパク質を含むが、その主成分はアルブミンである。しかし、卵白タンパク質の発育成長促進効果はアルブミンを上回った。つまり、卵白タンパク質における代謝物 X の含有率は、アルブミンよりも高いと予想できる。

(2) 研究 2

1) 種類の異なるタンパク質の摂取が筋内代謝物蓄積状態に及ぼす影響

カゼイン投与に比べて、アルブミンの経口投与 1 時間後には 12 種類の代謝物の筋内蓄積が有意に高かった (表 1)。また、卵白タンパク質の経口投与 1 時間後には 7 種類の代謝物の筋内蓄積が有意に高かった (表 1)。

また、カゼイン投与に比べて、アルブミンの経口投与 1 時間後にはロイシンをはじめとした 19 種類のアミノ酸ならびに 2 種類のペプチドの蓄積が有意に低かったが、アルギニン (アミノ酸)、ヒスチジン-プロリン-プロリン (ペプチド)、フェニルアラニン-アスパラギン酸-アスパラギン酸 (ペプチド) については有意に高かった (表 1, 2)。一方、卵白タンパク質の経口投与 1 時間後には 3 種類のアミノ酸ならびに 1 種類のペプチドの蓄積が有意に低かったが、アルギニン (アミノ酸)、アラニン-トリプトファン-チロシン-アスパラギン酸 (ペプチド)

表1. カゼインに比べてアルブミンまたはカゼイン投与によって有意に増加した代謝物

代謝物名称	アルブミン vs カゼイン		卵白タンパク質 vs カゼイン		卵白タンパク質 vs アルブミン	
	比	p値	比	p値	比	p値
3-Hydroxybutyric acid	2.1	0.016 *	1.5	0.135	0.7	0.149
Arg	1.2	0.012 *	1.3	4.2E-04 ***	1.1	0.069
Choline	1.3	0.003 **	1.3	0.072	1.0	0.715
cis-Aconitic acid	1.2	0.103	1.2	0.021 *	1.0	0.614
Cytidine	2.7	0.002 **	2.2	2.7E-05 ***	0.8	0.087
Ethanolamine	1.3	0.031 *	1.2	0.003 **	1.0	0.841
Fumaric acid	1.5	0.002 **	1.1	0.238	0.8	0.031 *
GDP-mannose						
GDP-galactose	1.1	0.029 *	1.1	0.095	0.9	0.172
GDP-glucose						
Gly-Gly	1.2	0.007 **	1.3	0.009 **	1.1	0.365
Malic acid	1.6	4.8E-04 ***	1.2	0.142	0.8	0.028 *
NAD ⁺	1.0	0.988	1.1	0.045 *	1.1	3.7E-04 ***
UDP-glucose						
UDP-galactose	1.2	0.012 *	1.2	0.057	1.0	0.877
His-Pro-Pro	1.1	0.013 *	1.1	0.118	1.0	0.724
Phe-Asp-Asp; His-His-Cys	1.1	0.029 *	1.0	0.757	0.9	0.063
Ala-Trp-Tyr-Asp; Phe-Trp-Ser-Asp; Met-Phe-Gln-Glu; Trp-Gly-Tyr-Glu	1.1	0.250	1.1	0.047 *	1.0	0.481

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 Welchのt-検定

表2. アミノ酸の変化

アミノ酸名称	アルブミン vs カゼイン		卵白タンパク質 vs カゼイン		卵白タンパク質 vs アルブミン	
	比	p値	比	p値	比	p値
Ala	0.9	0.337	0.9	0.266	1.0	0.884
Arg	1.2	0.012 *	1.3	4.2E-04 ***	1.1	0.069
Asn	0.9	0.013 *	0.9	0.168	1.0	0.637
Asp	1.1	0.480	1.0	0.815	0.9	0.480
Gln	0.9	0.229	0.9	0.278	1.0	0.690
Glu	0.9	0.155	0.8	0.093	0.9	0.397
Gly	1.1	0.538	1.1	0.468	1.0	0.914
His	0.8	0.047 *	0.9	0.206	1.1	0.149
Ile	0.6	3.7E-04 ***	0.8	0.115	1.3	0.155
Leu	0.6	0.001 **	0.8	0.104	1.3	0.059
Lys	0.9	0.173	0.9	0.110	1.0	0.514
Met	0.6	0.004 **	0.8	0.234	1.4	0.088
Phe	1.0	0.518	1.2	0.120	1.2	0.074
Pro	0.5	3.5E-04 ***	0.5	2.0E-04 ***	1.0	0.723
Ser	1.0	0.823	1.0	0.885	1.0	0.928
Thr	1.0	0.503	0.9	0.209	0.9	0.363
Trp	0.6	9.2E-04 ***	0.9	0.323	1.4	0.142
Tyr	0.4	7.9E-05 ***	0.5	2.6E-04 ***	1.3	0.082
Val	0.6	4.5E-05 ***	0.8	0.024 *	1.2	0.108

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 Welchのt-検定

については有意に高かった。なお、アルブミン投与に比べて卵白タンパク質の投与 1 時間後に筋内蓄積が高い傾向がみられたのはアルギニンのみであった。

2) 考察

アルギニンは新生子豚の筋タンパク質合成を促進する働きが報告されている (Yao et al. 2008)。また、アルギニンの筋内蓄積は卵白タンパク質、アルブミン、カゼイン投与の順に高く、発育成長促進効果とパラレルな関係がみられた。カゼインに比べて卵白タンパク質にはアルギニンが高い割合で含まれており (日本食品標準成分表 2015 年版)、筋の発育成長を促進する代謝物 X がアルギニンである可能性が推測される。

(3) まとめ

必須アミノ酸のなかでも特にロイシンがタンパク質合成反応を促進して、筋の発育成長を強力に促す。しかし、本研究では、ロイシン含有率の高いカゼインに比べて、ロイシン含有率が比較的低い卵白タンパク質の摂取がラットの発育成長を促進した。これは、卵白タンパク質に多く含まれるロイシン以外の成分によるものと考えられる。

<参考文献>

- (1) Davis TA et al. Stimulation of protein synthesis by both insulin and amino acids is unique to skeletal muscle in neonatal pigs. *Am J Physiol* 282: E880-E890, 2002
- (2) Davis TA et al. Regulation of muscle growth in neonates. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 12: 78-85, 2009
- (3) Escobar J et al. Physiological rise in plasma leucine stimulates muscle protein synthesis in neonatal pigs by enhancing translation initiation factor activation. *Am J Physiol* 288: E914-E921, 2005
- (4) Yao K et al. Dietary arginine supplementation increases mTOR signaling activity in skeletal muscle of neonatal pigs. *J Nutr* 138: 867-872, 2008

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kawamoto Emi, Tamakoshi Keigo, Ra Song-Gyu, Masuda Hiroyuki, Kawanaka Kentaro	4. 巻 125
2. 論文標題 Immobilization rapidly induces thioredoxin-interacting protein gene expression together with insulin resistance in rat skeletal muscle	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 596 ~ 604
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00951.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ra Song Gyu, Kawamoto Emi, Koshinaka Keiichi, Iwabe Maiko, Tomiga Yuki, Iizawa Hiroki, Honda Hiroki, Higaki Yasuki, Kawanaka Kentaro	4. 巻 8
2. 論文標題 Acute bout of exercise downregulates thioredoxin interacting protein expression in rat contracting skeletal muscles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14388	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 川中健太郎	4. 巻 134
2. 論文標題 スポーツ選手のための糖質摂取の考え方	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床栄養	6. 最初と最後の頁 166 ~ 173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 越中敬一、川中健太郎、飯澤拓樹、佐藤晶子。
2. 発表標題 卵タンパク質の摂取がデキサメタゾン誘発の骨格筋委縮に与える影響。
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会 (福井)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 飯澤拓樹、羅成圭、安方惇、本田紘基、中川洋成、西村恒星、富賀祐基、中島志穂子、宗まりこ、檜垣靖樹、越中敬一、川中健太郎。
2. 発表標題 摂取するタンパク質の種類の違いがラットの耐糖能力に及ぼす影響。
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会 (福井)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川中健太郎。
2. 発表標題 運動栄養学と糖質 - 身体活動・不活動と骨格筋インスリン感受性
3. 学会等名 日本応用糖質科学会東日本支部シンポジウム(東京)、2018年7月27日 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川中健太郎。
2. 発表標題 「運動・食事・糖代謝 先人達の研究を辿る」
3. 学会等名 第1回日本体力医学会北九州地方会 (福岡・九州大) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川中健太郎。
2. 発表標題 先人たちのグリコーゲン研究を辿る
3. 学会等名 第6回日本スポーツ栄養学会 (東京・東京大) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川中健太郎.
2. 発表標題 「スポーツトレーニングの基盤となる超回復現象」
3. 学会等名 福岡大学大学院学際シンポジウム (福岡・福岡大) (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 麻見 直美、川中 健太郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 200
3. 書名 運動生理学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	越中 敬一 (KOSHINAKA KEIICHI) (30468037)	新潟医療福祉大学・健康科学部・准教授 (33111)	
研究分担者	檜垣 靖樹 (HIGAKI YASUKI) (10228702)	福岡大学・スポーツ科学部・教授 (37111)	
研究分担者	上原 吉就 (UEHARA YOSHINARI) (70373149)	福岡大学・スポーツ科学部・教授 (37111)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	重森 裕 (SHIGEMORI YUTAKA) (30465273)	福岡大学・スポーツ科学部・准教授 (37111)	
連携 研究者	羅 成圭 (RA SONG-GYU) (60741999)	徳島大学・教養教育院・准教授 (16101)	
連携 研究者	畑本 陽一 (HATAMOTO YOICHI) (90738832)	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・代謝研究 部・研究員 (84420)	