

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：33111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11504

研究課題名(和文) 短期のチアミン不足とエネルギー源の偏りが安静・運動時のエネルギー代謝に及ぼす影響

研究課題名(英文) The influence of short-term thiamin restriction and imbalance of energy substrate on energy metabolism at rest and in response to exercise

研究代表者

佐藤 晶子 (Sato, Akiko)

新潟医療福祉大学・健康科学部・准教授

研究者番号：70593888

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、欠乏症を発症しない程度の短期的な体内のチアミン量の低下が、チアミンを補酵素とするピルビン酸脱水素酵素複合体(PDC)の活性および糖質・脂質代謝に与える影響を動物実験にて明らかにすることを目的とした。その結果、体内のチアミン量が低下しても、安静時、間欠的高強度運動時、低強度持久運動時のいずれにおいてもPDC活性は変化しないことが示唆された。さらに、同条件下でエネルギー源が糖質または脂質に偏った場合でも、糖質及び脂質代謝は維持され、短期的な体内チアミン量低下の影響がないことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

チアミン研究は歴史的に、長期の欠乏により生じる欠乏症の治療を目的として始まったが、現代ではそれほど長期のチアミン不足に陥ることは稀である。そのため体内チアミンの短期的な不足の影響は精査されてこなかったが、本研究により水溶性ビタミンであるチアミンも不足が短期であれば糖質および脂質代謝に影響を及ぼす可能性が低いことが示唆された。このことは盲目的なビタミン剤の摂取を抑制し、給食の現場における献立作成の自由度を増すことにもつながるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the influence of the short-term lowered level of cellular thiamin without symptoms associated with thiamin deficiency on the activity of pyruvate dehydrogenase complex (PDC) and on carbohydrate and fat metabolism by animal. The results indicated that lowered level of cellular thiamin did not change PDC activity at rest nor immediately after two types of exercise (high-intensity intermittent swimming and low-intensity swimming). In addition, this lowered cellular thiamin level did not affect the carbohydrate and fat metabolism even under the conditions of high-carbohydrate or high-fat diet.

研究分野：スポーツ栄養学

キーワード：チアミン ピルビン酸脱水素酵素複合体 間欠的高強度運動 低強度持久運動 高糖質食 高脂肪食

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

チアミン(ビタミン B₁)はエネルギー代謝において解糖系から TCA 回路に糖質を送り込むピルビン酸脱水素酵素複合体(PDC)の補酵素として機能している。水溶性ビタミンであることから体内の蓄積量が少なく、豊富に含む食品が限られていることから、それらの食品を摂取しなければ体内のチアミン量は容易に減少していく。チアミンの長期的な欠乏は脚気やウェルニッケ脳症といった深刻な欠乏症を引き起こすが、そうした欠乏症を起こさない程度の一時的な体内チアミン量の低下であってもエネルギー代謝を停滞させることが予想された。そこで研究代表者はラットを対象にチアミン欠乏食を摂取させ、安静時、間欠的高強度運動時、低強度持久運動時において糖質および脂質代謝に生じる変化を確認した。その結果、骨格筋内のチアミンピロリン酸(補酵素としての活性型)が有意に低下していたにも関わらず、予想に反していずれの運動時においても糖質代謝に変化は見られなかったが、安静時にのみ骨格筋に中性脂肪が蓄積し、血中の遊離脂肪酸が低下していた。このことは、組織内のチアミン低下が短期間であっても、安静時の脂質利用が抑制され、中性脂肪として蓄積しやすい状態となっていることを示唆するものである。PDCが糖質を解糖系から TCA 回路に送り込む役割を持つことから、チアミンは糖質との関連性を議論されることが多いが、上記の結果は糖質ではなく脂質代謝が影響を受けやすいことを示すものである。この条件でエネルギー源が脂質に偏った場合は、脂質代謝の鈍化から、中性脂肪の蓄積がさらに加速することが予想された。

2. 研究の目的

本研究では、下記3つの課題に取り組むことにより、欠乏症を発症しない程度の短期的なチアミン不足が糖質および脂質代謝を含むエネルギー代謝全体に及ぼす影響を、動物実験にて明らかにすることを目的とした。

- 【課題】 なぜ糖質ではなく脂質に代謝の停滞とみられる現象が生じたのか？
- 【課題】 の現象はなぜ安静時にのみ見られ、運動時には消失したのか？
- 【課題】 エネルギー源が糖質または脂質に偏ったときに、エネルギー代謝にどのような変化が生じるのか？

3. 研究の方法

【課題】チアミンが不足したことにより PDC 活性が低下し、これが TCA サイクルの鈍化を招くことで、脂質が代謝過程に入りにくくなるが、安静時に必要なエネルギー量を賄うだけの糖質は TCA サイクルに移行できると仮定した。そのためまず、短期的な体内チアミン量の低下により安静時において PDC の活性が低下するかどうかを確認した。

《方法》雄性 Wistar 系ラットを2群に分け、普通食とチアミン欠乏食(普通食のチアミンを制限した飼料)を水分とともに1週間自由摂取させた。飼育期間を1週間としたのは、先行研究および予備実験により、組織内のチアミンピロリン酸量が確実に減少し、かつチアミンの長期的欠乏症のひとつである食欲不振や体重減少による代謝への影響が生じないことが確認されている唯一の期間だからである。飼育後、運動時に主に動員される骨格筋(滑車上筋)を採取してサンプルとした。また PDC 活性の測定については、活性の指標として PDC の構成酵素であるピルビン酸脱水素酵素(PDH)のリン酸化状態を指標とし、ウェスタンブロットング法で測定した。

【課題】運動という刺激そのものが PDC 活性を高め、短期的なチアミン不足による活性の低下を相殺すると仮定し、チアミン欠乏食群において間欠的高強度運動、低強度持久運動のいずれにおいてもコントロール群と同様に PDC 活性が高まるかどうか確認した。

《方法》課題と同様に飼育したラットに運動を行わせた。運動は水中運動とし、運動様式の違いによる影響も検討するため、低強度持久運動(体重の3%以下のおもりを装着し、水泳運動を1時間)および間欠的高強度運動(体重の18%のおもりを装着し、20秒の水泳運動を40秒の休憩を挟んで8回)を行った。運動直後【課題1】と同様に骨格筋を採取し、PDHのリン酸化状態をウェスタンブロットング法で測定した。

【課題】高糖質食では、安静時にも TCA 回路に移行できない糖質が乳酸として蓄積し、アシドーシスを起こす。高脂肪食では、安静時の中性脂肪の蓄積が助長され、インスリン抵抗性を示すようになる。

《方法》飼料を高糖質食(エネルギー産生栄養素比率:P26%、F12%、C62%)と高脂肪食(P26%、F62%、C12%)に分け、さらにそれぞれを普通食とチアミン欠乏食に分けて、4群に分けた雄性 Wistar 系ラットに【課題】と同様に摂取させた。飼育後解剖し、血液、骨格筋、肝臓、腎周囲および精巣上体周囲脂肪を採取し、下記の糖質および脂質関連代謝産物と関

連因子をそれぞれ分析した。

分析項目：血糖値、血中乳酸値、血漿インスリン濃度、骨格筋および肝臓の中性脂肪、血漿遊離脂肪酸、血漿中性脂肪、血漿レプチン濃度、骨格筋におけるグルコーストランスポーター4型（GLUT4）と脂肪酸結合たんぱく質3型（FABP3、MDGIとも呼ばれる）の発現量

4. 研究成果

(1) 1週間のチアミン欠乏食の摂取は、骨格筋のPDC活性に影響を与えない

【課題】【課題】において、安静時、低強度持久運動直後、および間欠の高強度運動直後のいずれにおいても、PDHのリン酸化状態は普通食群とチアミン欠乏食群の間で有意差が生じず、1週間のチアミン制限食によるPDC活性低下については確認できなかった。

【課題】の安静時においてはチアミン欠乏食群のPDC活性が低下すると予想していたが、これは否定された。【課題】の運動時についてPDC活性にチアミン制限の影響がないことは、運動刺激がカルシウムイオンの放出、ADPやピルビン酸の産生増加を促し、チアミン非依存的に強力にPDCの活性を高めることが報告されている（Howlett 1999, Spriet 2002）ことから、チアミン欠乏食の影響が相殺されることは予想していた。本研究ではさらに、間欠の高強度運動、低強度持久運動の2種類の運動様式においてPDC活性への影響を確認したが、いずれにおいてもPDCの構成酵素であるPDHのリン酸化レベルに差が見られなかった。以上のことから、短期間の体内チアミン量の低下はPDC活性には安静時および運動時のいずれにおいても影響がないことが示唆された。

ここで、PDC活性の指標を、PDHのリン酸化状態としたことについて考察する。PDC活性を測定するための測定キットは市販されているが、どれもチアミンがすでに添加されており、組織内のチアミン量を低下させる本研究では使用できない。しかしPDC活性が構成酵素であるPDHのリン酸化によって抑制され、リン酸化を調整する酵素の存在も1990年代末～2000年代初めに多くの研究で明らかとなっていたため、PDC活性の指標として本研究でもPDHのリン酸化状態をウェスタンブロッティング法で測定することとした。しかし、PDC活性はPDHのリン酸化以外にチアミンそのものやマンガンなど他の要因の影響を受けることも報告されていることから（Strumilo 2005）、PDHのリン酸化のみでPDC活性を評価することは適切であったかもしれない。

(2) 組織内のチアミンが低下している状況でエネルギー源が糖質または脂質に偏っても、糖質及び脂質代謝に影響を与えない

【課題】【課題】の結果より、短期的なチアミン欠乏食の摂取による体内チアミン量の低下はPDC活性への影響をあたえない可能性が示唆された。そのため、【課題】ではエネルギー源が糖質または脂質に偏ったときに脂質代謝に生じる影響を包括的に確認した。その結果、高糖質食の摂取条件下において、チアミン欠乏は血中乳酸値を有意に増加させたが、その他の項目においてコントロール群との差異は見られなかった。高糖質食のコントロール群に比べ、高脂肪食のコントロール群は摂取カロリーが増大にともない腎周囲および精巣上体周囲脂肪量が増加を示し、血漿レプチン濃度は上昇させた一方、血漿中性脂肪および遊離脂肪酸は低値を示した。この高脂肪食の摂取条件下において、チアミン欠乏は血中乳酸値を有意に増加させたが、高糖質食を摂取した場合と同様に、骨格筋の中性脂肪を含むその他の項目においてもコントロール群との間に有意な影響を与えなかった。

本研究は、代表者がそれまでの研究において安静時の骨格筋にのみ中性脂肪の蓄積が見られたことが着想の発端であったが、これが【課題】における再検討によって否定された。短期的な組織中のチアミン低下が糖質および脂質代謝全体におよぼす影響を確認するためチアミンを補酵素とするPDC以外の酵素活性等も確認することも検討していたが、影響を及ぼす可能性は極めて小さいと判断し、測定は中止した。

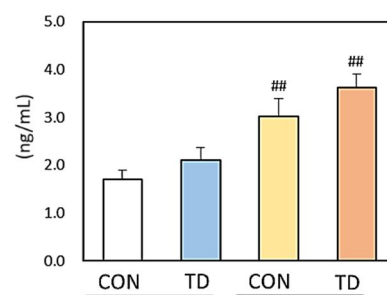


Figure 1. Plasma leptin level

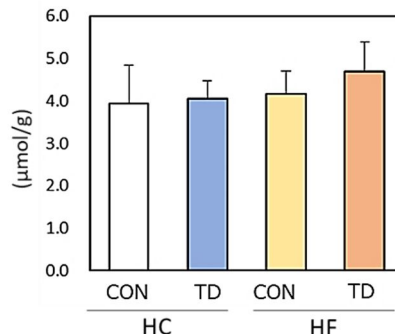


Figure 2. Triglyceride in skeletal muscle

Compared by two-way ANOVA. Average \pm SE, *different from CON within HC or HF group; #different from either CON or TD in HC group, 1 symbol, $p < 0.05$; 2 symbols, $p < 0.01$

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sato Akiko, Sato Shinji, Omori Go, Koshinaka Keiichi	4. 巻 14
2. 論文標題 Effects of Thiamin Restriction on Exercise-Associated Glycogen Metabolism and AMPK Activation Level in Skeletal Muscle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 710～710
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu14030710	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤晶子、佐藤眞治、越中敬一
2. 発表標題 短期的なチアミン欠乏食の摂取が 骨格筋のミトコンドリア量に及ぼす影響
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤晶子、佐藤眞治、越中敬一
2. 発表標題 短期的なチアミン（ビタミンB1）欠乏食の摂取が 骨格筋の糖取り込みに及ぼす影響
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤晶子、越中敬一
2. 発表標題 短期的なチアミン欠乏が骨格筋および肝臓の脂質代謝に与える影響
3. 学会等名 第68回日本栄養改善学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
研究協力者	越中 敬一 (Koshinaka Keiichi)		
研究協力者	佐藤 眞治 (Sato Shinji)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------