科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号: 33906 研究種目: 若手研究(B) 研究期間: 2011~2013

課題番号: 23700931

研究課題名(和文)牛乳中の体液保持因子の解明と中高年の熱中症予防のための飲料創生

研究課題名(英文) Factors affect net body fluid retention in milk and its application to prevent heat illness.

研究代表者

石原 健吾(Ishihara, Kengo)

椙山女学園大学・生活科学部・准教授

研究者番号:70329647

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文):運動後の再脱水予防を目的として、脱水状態で摂取した飲料が体内に長時間存在する(=体液保持)作用について研究を行いました。牛乳、豆乳が優れた体液保持作用を示すことを見出しました。これらのタンパク質が体液保持作用を有するか検討し、特定のタンパク質よりも牛乳や豆乳そのものに強い体液保持作用が含まれることを見出しました。作用メカニズムについての解析を行い、抗利尿ホルモン類の濃度が上昇して血漿ナトリウム濃度の低下や血漿浸透圧の低下が抑制されることが関係していることを示しました。さらに糖質タンパク質混合溶液の摂取は再脱水の予防という意味でも理にかなっていることを示しました。

研究成果の概要(英文): To prevent re-dehydration after exercise, we investigated the body fluid retention of various experimental drinks. We found strong activities in milk and soymilk on body fluid retention. These activities were caused by crude proteins in milk and soymilk not by a specific protein. Milk prote in solution, which were prepared by removing electrolytes by dialysis, elevated plasma aldosterone level a nd maintained plasma sodium level and osmolality. Furthermore, carbohydrate protein solution were superior for glycogen recovery and fluid retention because addition of carbohydrate to protein solution did not decrease body fluid retention.

研究分野: 総合領域

科研費の分科・細目: 生活科学・食生活学

キーワード: 水分 電解質 タンパク質 体液

1.研究開始当初の背景

国内外でマラソンなどの運動中、屋外作業中の熱中症による死亡事故が問題になっています。我が国では記録的猛暑だった 2007年には全国で904名の死亡災害が発生しています(厚生労働省の人口動態統計(確定数))。諸外国でも、2万8千人が参加するサイクリング大会では、5名の死者があったことが報告されています。

日本体育協会による熱中症予防8カ条によれば、 運動前後の体重変化が2%以内に収まるように水分を補給、 長時間の運動時にはミネラル(特に塩分)を補給することが予防対策のポイントです。そのためには、スポーツドリンクをこまめに摂取することが望ましいと考えられています。

水分の吸収速度は、溶液の浸透圧とエネルギー量と深い関係があります。スポーツドリンクは適度に塩類を含み、体液程度の浸透圧を有するために胃排出速度(水分吸収速度)が速いのです。そのため発汗によって失われた水分と電解質の補給に最適とされています。

ところがスポーツドリンクの摂取後に、尿が多く排泄されて、脱水状態を引き起こすケースが報告されています。スポーツドリンクは、胃排出速度(水分吸収速度)が速い反面、体液の保持(再脱水の予防)という観点からは改善の余地があると考えられます。

2.研究の目的

体液(細胞外液)の保持という観点からは、溶液のナトリウム濃度を高めることは簡単な手段です。ナトリウムは、細胞外液量を保持するために最も重要な栄養素です。しかし、発汗によるナトリウム損失量とバランスがとれてなければ、高ナトリウム血症や長期的には高血圧を誘発してしまいます。また、筋肉への刺激の弱い微重力環境下ではナトリウム摂取が細胞外液の保持につながらないことが報告されています。

興味深いことに、牛乳のナトリウム濃度は 余り高くないのですが、脱水症状を引き起こ しません。牛乳も体液程度の浸透圧を有する 飲料です。牛乳が高い水分保持作用を持つ原 因は、水分吸収速度や牛乳中のナトリウム含 量では説明できません。何らかの新規な要因が関与していると思われます。

私達は、ラットを用いて水分の出納を高精度で評価できる採尿ケージを独自に構築しました。本実験系を用いて、牛乳の成分分画から体水分保持に強い作用を持つ成分を見出すことを目的の一つとしました。さらに、そのメカニズムの一端を解析することを第二の目的としました。そのために、溶液切りで、電解質排泄に関与するホルモン濃度を削定します。第三の目的として、見出した成分がヒトにおいても効果を有するか確認します。。

本研究の応用面としては、運動後の再脱水を予防する飲料の開発の他にも、疲労回復(睡眠改善)にも有益な知見が得られると管得ています。夜間の尿意は睡眠の質を低下させる一大要因です。就寝前に体水分保持作用のある食品成分を摂取することで、睡眠の質を向上させることが出来れば、現代人に増加している鬱病や慢性的疲労感の軽減にも役立つと期待しています。

3.研究の方法

(1)脱水モデルラットを用いた体液保持作用の評価

脱水モデルラットの作成:実験動物 (Wistar ラット)を用いて、2 時間の絶飲および 1 時間のトレッドミル走行によって、体水分の約 2%が脱水したラットを作り、研究モデルとしました。なお 2%の脱水は、運動パフォーマンスなどの生理機能を約 10%低下させる点で、一般的な脱水の目安となっています。

溶液の体水分保持作用の評価:脱水モデルラットを採尿ケージ(申請者が独自に開発)にて移し、試験飲料6 mLの投与後、経時的に採尿しました。

(2) 牛乳・豆乳の分画

牛乳を遠心分離によって脱脂した後、透析処理によって低分子画分を除去した乳タンパク質溶液を調製しました。この乳たんぱく質溶液を凝乳酵素レンニンで処理して得られた乳ホエー画分を等電点電気泳動(京都府立大学 佐藤健司教授のご協力)に基づき、6つのフラクションを得ました。

- (3) 牛乳の体液保持作用のメカニズム解析 乳タンパク質溶液、牛乳、水を脱水モデル ラットに投与した後、30分、60分後に麻酔 下で採血を行い、血漿アルドステロン濃度を ELISA 法で測定しました。
- (4)ヒトにおける豆乳の体液保持作用の評 価

健常女子大生 4 名を被験者として、1 時間の絶飲食状態の後、牛乳、豆乳、豆乳ペプチド(紀文フードケミファ)、スポーツドリンク、アミノ酸飲料を各 300 mL 摂取した。摂取後 2 時間の総尿量を測定しました。

(5)運動後の脱水からの回復を目的とした 糖質タンパク質混合溶液の体液保持作用の 比較

脱水状態の動物に牛乳または豆乳にデキストリンを溶解させた試験飲料を摂取させ、その後の血漿アルドステロン濃度やグリコーゲン濃度から体液保持作用、疲労回復作用を評価しました。

4. 研究成果

(1) 牛乳・豆乳中の体液保持作用を示す成分の検討

体液保持作用を示す代表的な成分として ナトリウムがありますが、ナトリウムの過剰 な摂取は高血圧の原因となる可能性がある ために、ナトリウム以外に体液保持作用を有 する成分が存在することが望ましいと考え て研究を行いました。

脱水モデルラットを用いて、各種飲料の体液保持作用を評価したところ、牛乳、豆乳中に強い体液保持作用が存在することを見出しました。牛乳・豆乳中のナトリウム濃度は、スポーツドリンクと同等以下であるにも関わらず、スポーツドリンク以上の体液保持作用を示したことから、牛乳・豆乳中にはナトリウム以外の体液保持作用を有する成分が含まれていることが推察されました(図1)

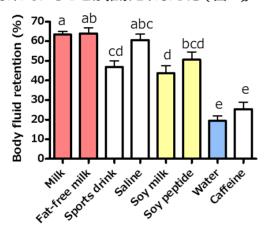


図 1. 各種飲料の体液保持作用の比較

(2) ヒトにおける体液保持作用の評価

健常女子大生を用いてヒトにおける飲料の体液保持作用を評価したところ、牛乳の体液保持作用は、Shireffらの先行研究と同様に私達の実験系でも観察することが出来ました。また豆乳・豆乳ペプチド飲料はいずれも、スポーツドリンクと比較して、優れた体液保持作用を有しているという新たな知見を見出すことが出来ました。

(3) 牛乳・豆乳の体液保持作用を有する成分の単離

強い体液保持活性が認められた牛乳タンパク質を等電点電気泳動にて分画し、6 つのフラクションを得ました。これらのフラクションを個別にラットに投与して体液保持活性を比較したところ、酸性からフラクション1,2,6 にわずかながら強い体液保持活性が認められました。

また凝乳酵素レンニンでカゼインを沈殿させて得られた乳清タンパク質画分や、粗カゼイン画分にも体液保持作用を観察することが出来ましたが、乳タンパク質の精製品の体液保持活性は透析によって得られた乳たんぱく質溶液の活性と比べると低いことから、牛乳そのものを摂取することが体液保持のためには望ましいことがわかりました(図2)

同様に豆乳についても 7S グロブリン、11S グロブリンの分画溶液を調製して、その体液保持作用を評価しましたが、いずれの体液保持作用も豆乳の活性と比べると低いことから、豆乳そのものを摂取することが体液保持のためには望ましいことがわかりました。

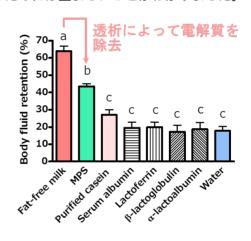


図 2. 各種乳タンパク質の体液保持作用の 比較

(4) 体液保持作用のメカニズム

ラットに試料溶液を摂取させた後、30分、60分後に採取した血漿からは、乳たんぱく質溶液摂取後に血漿アルドステロン濃度がわかりました(図3)。アルドステロンはナトリウムの再吸収を引き起これであり、アルドステロン濃度が高いことがあら牛乳からのナトリウム摂取量が少なった場がに排泄されて尿排泄が抑制されるよりに乳タンパク質摂取後の血漿ナトリウム濃度は水やスポーツドリンク摂取群よりも有意に高い値を示しました。

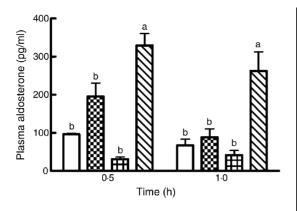


図 3. 飲料摂取後の血漿アルドステロンの変化(各時間帯で左から、水、牛乳、スポーツドリンク、乳タンパク質溶液)

(5) 運動後の脱水からの回復を目的とした 糖質タンパク質混合溶液の体液保持作用の 比較

スポーツの現場では運動後に糖質とタンパク質を同時に摂取することが推奨されパク質を同時に摂取することを派れタンでは体液保持作用があることを、糖気したが、現場での応用を考えると、糖討での応用を考えると、糖対にもであります。牛乳あるいは豆乳質をするがあります。牛乳あるいは豆乳質をするがあります。牛乳あるいは豆乳質をするとがありました。このみを摂取した時よりも高い体でに扱いないののみを摂取した。このでいることを示す結果です。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Kengo Ishihara, Yoshiho Kato, Ayako Usami, Mari Yamada, Asuka Yamamura, Tohru Fushiki, and Yosuke Seyama, Electrolyte-free milk protein solution influences sodium and fluid retention in rats. Journal of Nutritional Science, vol. 2, e8, 2013.

[学会発表](計 4 件)

- 1. <u>Kengo Ishihara</u>, Yoshiho Kato, Body fluid retention and electrolyte balance by a formulated drink based on the electrolyte composition of milk、平成25年12月、Int. Sport. Exerc. Nutr. Conference 2013, NewCastle, UK
- 2. 橋本里穂、伊藤こみち、伊藤千賀、恒川 春香、石原健吾、脱水モデルラットにお ける糖質・タンパク質溶液の体水分保持 作用の比較検討、平成25年5月、第67 回日本栄養・食糧学会、名古屋

- 3. 橋本里穂、鈴木めい、 武田歩実、 深澤 遥、恒川春香、<u>石原健吾</u>、脱水モデルマ ウスにおける糖質タンパク質溶液によ る体水分保持及びグリコーゲン回復作 用への影響、平成 24 年 5 月、第 66 回日 本栄養・食糧学会、仙台
- 石原健吾、加藤美穂、稲垣圭、橋本里穂、 脊山洋右、ラット脱水モデルにおける牛 乳ホエーの体液維持作用に関する研究、 平成23年5月、第65回日本栄養・食糧 学会、東京

[図書](計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕 ホームページ等

- 6. 研究組織
- (1)研究代表者

石原 健吾(ISHIHARA, Kengo) 椙山女学園大学 生活科学部 管理栄養 学科 ・ 准教授

研究者番号:70329647

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: