

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 徐 旻 珺

論 文 題 目

運動における分岐鎖アミノ酸の生理機能

論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	下 村 吉 治
委 員	名古屋大学教授	牧 正 敏
委 員	名古屋大学教授	松 田 幹
委 員	名古屋大学教授	吉 村 徹
委 員	名古屋大学講師	北 浦 靖 之

分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acids: BCAA) として総称されるロイシン、イソロイシン、バリンの3つのアミノ酸は、栄養学的な必須アミノ酸である。これらのアミノ酸の代謝は、他の必須アミノ酸が肝臓で代謝されるのと異なり、筋細胞で主に代謝されると考えられている。骨格筋は運動器であるため、骨格筋における BCAA 代謝は他の代謝に影響して、BCAA がさまざまな生理作用を発揮すると考えられる。例えば、BCAA 投与は運動中のエネルギー基質を節約することや、運動後の筋肉痛を緩和することなどが報告されており、そのため BCAA は運動のための有効なサプリメントとして注目されている。

BCAA の分解系では、最初の2つのステップが3つの BCAA に共通の反応である。その第一ステップは、分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素 (branched-chain aminotransferase: BCAT) により触媒され、可逆的な反応により分岐鎖 α -ケト酸が生成される。生成された分岐鎖 α -ケト酸は、第二ステップで分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素複合体 (branched-chain α -keto acid dehydrogenase (BCKDH) complex: BCKDC) により酸化して脱炭酸され、CoA 化合物に変換される。第3ステップ以降はそれぞれのアミノ酸に特有の経路が存在しており、最終的に acetyl-CoA や succinyl-CoA が生成され、それらはクエン酸回路で代謝される。この BCAA 分解系は、第2ステップが不可逆反応であることより、BCKDC による反応が律速段階であることが知られている。さらに、BCKDC は特異的キナーゼ (BCKDH kinase: BDK) による酵素タンパク質のリン酸化により活性調節されることが明らかにされており、種々の生理状態における BCKDC と BDK の活性測定により、BCKDC は BDK により強力にコントロールされていることが明らかにされている。よって、BCAA 代謝は実質 BDK により調節されていると考えられる。

BCAA の生理機能を解明するためには、BCAA を不足した実験動物の作製が有用な実験方法である。しかし、食餌中の BCAA を欠乏させても体タンパク質には豊富に BCAA が含まれるため、組織中の BCAA 濃度を著しく低下することは困難である。そこで、本研究では、BCAA の欠乏と運動の直接的な影響を解析するために、筋特異的 BDK ノックアウト (BDK-mKO) マウスを用いた。8週齢の雄性 BDK-mKO マウスとコントロールマウスに、トレッドミルを用いて2週間の走トレーニング (上り勾配 10%、速度: 15 m/分、60分/日、5日/週を1週間、それに次ぐ1週間では速度: 18 m/分に上昇し他の条件は同じトレーニング法) を負荷した。またトレーニング開始前と終了後にトレッドミルを用いて走運動能力 (上り勾配 10%、15 m/分の速度でスタートし、4分ごとに 1 m/分速度を上げ、マウスが走れなくなるまでの距離) を測定した。

運動能力測定の結果では、トレーニング前の持久力は BDK-mKO マウスとコントロールマウスで変わらなかった。2週間のトレーニングにより、両マウスの運動持久力はトレーニング前より約2倍に上昇したが、BDK-mKO マウスの持久力がコントロー

ルマウスより有意に低かった。この結果から、BDK-mKO マウスでは、運動トレーニングによる運動持久力の適応力が低い可能性が示唆された。

この現象のメカニズムを解明するために、BDK-mKO マウスとコントロールマウスに、上述と同じ方法でトレーニングを負荷した後に、安静群と急性運動群に分け、後者のマウスに 32 分間の走運動（上り勾配 10%、15m/分の速度からスタートし、4 分ごとに 1m/分ずつ速度を上昇する運動）を負荷した。その直後に、頸部脱臼法で屠殺し、筋肉を採取した。安静群のマウスは急性運動を負荷しない安静状態で解剖した。これらの組織を用いて、運動中のエネルギー代謝変動を調べるために、メタボロミクス解析を実施した。結果として、筋グリコーゲン量は、コントロールマウスと BDK-mKO マウスのいずれも急性運動により有意に低下したが、安静群と急性運動群のそれぞれの群内での比較ではいずれも BDK-mKO マウスで低値を示した。解糖系中間体では、安静群のマウスにおける fructose 1,6-diphosphate、2-phosphoglycerate、dihydroxyacetone phosphate および phosphoenolpyruvate が BDK-mKO マウスで低下傾向にあった。また、以上の代謝物がコントロールマウスで運動によって減少する傾向があったが、BDK-mKO マウスでは運動の影響が見られなかった。生成された acetyl-CoA は、安静群のコントロールマウスより BDK-mKO マウスで低く、急性運動によってコントロールマウスでのみ減少した。TCA サイクルでは、acetyl-CoA を基質とするクエン酸合成酵素の活性は BDK-mKO で低値であり、生成物であるクエン酸のレベルも安静群 BDK-mKO マウスで低下していた。一方、BCAA 代謝系では、筋肉の BCAA と分岐鎖 α -ケト酸が安静群および急性運動群の何でも BDK-mKO マウスで低値を示したが、その下流の代謝物である分岐鎖脂肪酸カルニチンが BDK-mKO マウスで高値を示した。

さらに、上記の実験条件に加えて 3%の BCAA 水を与えて同様にトレーニングを負荷する実験も実施した。結果として、2 週間のトレーニング後の持久運動能力は、BDK-mKO マウスでコントロールマウス以上に回復し、血漿 BCAA 濃度、筋グリコーゲン量と acetyl-CoA 濃度も回復した。これらの結果より、十分な BCAA 供給が運動トレーニングに対する適応に重要であることが示唆された。

運動により、骨格筋の BCAA 代謝は明らかに促進することが報告されている。この BCAA 代謝の促進は、筋肉におけるタンパク質合成の抑制に繋がることが示唆されているので、運動中または運動後の BCAA 補給は筋タンパク質を維持するために重要と考えられる。本研究における運動と関係した BCAA の機能解明は、筋肉における BCAA 代謝の調節機構の重要性を明らかにできたのみならず、運動による筋肥大、老化による筋萎縮などにおける BCAA の生理作用にも繋がる可能性があり、これらの BCAA の機能を解明するためには更なる研究が必要である。

以上のように徐旻珺は、BDK-mKO マウスにおける BCAA 不足の状態では運動トレーニングに対する適応能力が低下すること証明し、さらにこのマウスに 3%BCAA

水を摂取させることで運動パフォーマンスは回復することを示した。本研究は、運動と関連する BCAA の生理機能を解明するために重要な知見をもたらしたと判断されるので、当審査委員会はこの論文が博士（農学）の学位を授与するに十分な価値のあるものと認め、合格と判断した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 第	号	氏名	徐 旻君
試験担当者	主査 下村吉治、牧正敏、松田幹、吉村徹、北浦靖之			
<p>(試験の結果の要旨)</p> <p>平成30年2月13日学位審査委員会において、主論文の内容を中心として これに関連する科目の学識および研究能力について試問し審査した 結果、合格と判定した。</p>				