

食餌脂肪源としてのオリーブ油のレベルが 運動時の脂肪酸代謝関連酵素活性に及ぼす影響

Effect of olive oil levels as dietary fat on enzymes activity
concerned with fatty acids metabolism at exercise

屋 代 正 範

Masanori YASHIRO

福岡教育大学保健体育講座
スポーツ栄養学研究室

轟 孝 史

Takashi TODOROKI

福岡教育大学大学院教育学研究科
修士課程修了生

(平成22年9月29日受理)

Abstract

In the present research the effect of exercise and fasting on serum energy substrates levels, tissues glycogen levels and tissues citrate synthase and β -hydroxyacyl CoA dehydrogenase activities were examined with mice fed different levels of dietary olive oil. Serum free fatty acids levels increased significantly with fasting in 40% olive. Furthermore, marked increase with exercise were observed in all groups. Although liver glycogen levels in 5% and 20% olive were decreased due to fasting, such a phenomenon was not found in 40% olive. Muscle glycogen levels of 5% and 20% olive showed a decrease or decreasing tendency due to fasting. However, a marked increase was observed in 40% olive. Muscle glycogen in 5% and 20% olive showed a significant decrease due to exercise, while such a phenomenon was not found in 40% olive. In gastrocnemius and soleus muscle citrate synthase activities of 20% and 40% olive were high significantly due to fasting. Furthermore, 40% olive showed high activity with exercise. In β -hydroxyacyl CoA dehydrogenase (HAD) activity of soleus muscle remarkable changes were not found by fasting in all groups. On the other hand, its activity of 40% olive showed significant high level due to exercise. HAD activity of soleus muscle in 40% olive showed a marked high level with fasting and exercise.

Considering the above facts, the present research suggested that ingestion of high level olive oil in extent of 40% as calori ratio may play an important role in effective utilization of free fatty acid as an energy source and in slowing the rate of glycogen depletion during exercise and fasting through high activity of enzymes concerned with fatty acids metabolism.

緒言

持久力を中心とした基礎体力を獲得する上で炭水化物及び脂肪のカロリーバランスがいかにあるべきかについては、運動栄養学領域における重要な課題の一つであり、効果的な持久力の発揮を実現することによっての脂肪摂取のあり方について

は必ずしも明確にされていない。これまで屋代ら⁽¹⁾は、食餌脂肪の中でも、特に、単価不飽和脂肪酸のオレイン酸で主体的に占められるオリーブ油の摂取が、絶食及び運動時における組織グリコーゲンの節約に顕著な効果を与えることを明らかにし、持久性を高める上でオリーブ油が顕著な

促進効果を持つことを示唆した。また、この現象はオレイン酸を中心とした脂肪酸が生体で積極的に酸化利用されることと^(2, 3) 密接な関わりを持つことが考えられよう。

そこで本研究では、まずオリーブ油の摂取がグリコーゲンを節約する生化学的機序について、脂肪酸の酸化利用を実証する立場から解明するために、絶食及び運動を負荷した場合の糖質及び脂質の代謝系、特に筋肉組織のTCAサイクル及び β -酸化系における諸酵素の活性を中心として調べ、検討を行った。更に、本研究では、オリーブ油を食餌中の脂肪源として高脂肪から低脂肪レベルまでの異なるカロリー比の条件で摂取した場合の影響について検討することにより、持続性向上のためのオリーブ油の至適摂取レベルについて基礎的知見を得ようとした。

実験方法

1. 実験動物及び飼育条件

動物は4週齢のICR系雄マウス（日本チャールスリバー社）を用いた。1週間の予備飼育後3群に分け、それぞれ個別ケージにて8週間飼育した。動物の飼育は、8:00–20:00を明期、20:00–8:00を暗期とする明暗サイクル条件下にて実施した。

食餌群については、食餌中の脂肪源としてオリーブ油を用い、5%オリーブ油摂取群（5%oliveと略）、20%オリーブ油摂取群（20%oliveと略）及び、40%オリーブ油摂取群（40%oliveと略）の3群を設け、一日当たりの摂取熱量をいずれの群も30Kcalとした。食餌組成についてはTable 1に示す通りである。総摂取熱量はオリーブ油の占める割合に応じてコーンスターチを増減して調整した。また、飼育期間中の食餌は一日2食制のmeal-feedingで行った。すなわち、8:00–10:00に15

Kcal、20:00–22:00に15Kcalの各実験食を与え、水は全て自由摂取とした。実験食に用いたオリーブ油の脂肪酸組成はTable 2に示す通りである。

Table 2 Fatty acids composition of olive oil.

Fatty acid	olive oil					
	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
(%)	9.5	1.3	3.0	75.9	8.6	0.7

2. 動物の屠殺及び解剖

実験食にて飼育終了後、屠殺前日の10:00から20:00まで動物を絶食させ、20:00から21:00の間に約10Kcalの実験食を各々の群に与え、さらに8時間後全ての群に4Kcalの市販粉末飼料（MF、オリエンタル酵母社製）を与えた。その後2時間経過後に直ちに屠殺する群（control）、その後、更に50分間リバープール方式による遊泳運動を負荷し屠殺する群（exercise）及び14時間の絶食を負荷する群（fasting）を各食餌群に設け解剖を行った（fig. 1）。

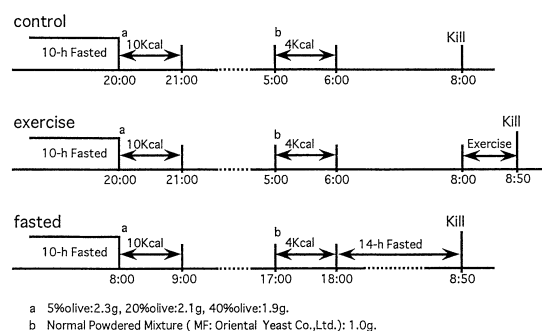


Fig. 1 Experimental schedule.

Table 1 Composition of experimental diets.

	5%Olive		20%Olive		40%Olive	
	g/100g	%Kcal	g/100g	%Kcal	g/100g	%Kcal
Cornstarch	81	80	72	65	57	45
Casein	11	15	12	15	14	15
Olive Oil	2	5	10	20	23	40
Mineral Mixture ^a	4.0		4.0		4.0	
Vitamine Mixture ^b	1.8		1.8		1.8	
Cholin Choride	0.2		0.2		0.2	

a. Mineral Mixture:Oriental mixture.

b. Vitamine Mixture:Harper mixture.

3. 採血及び組織の摘出

ジエチルエーテル麻酔条件下にて、動物の腋下動脈から採血を行い常法により血清を調整した。採血後、右後脚より酵素活性測定用にヒフク筋及びヒラメ筋を摘出した。秤量後直ちにドライアイスにより凍結し、12時間以内に分析に供した。更に左後脚同一部位のヒフク筋を採取し、直ちに筋グリコーゲン分析に供した。また、肝臓及び副睪丸脂肪組織をそれぞれ摘出し、肝グリコーゲン及び脂肪組織脂肪酸組成の分析に供した。

4. 分析方法

(1) 血清グルコース

血清グルコースは酵素法グルコース測定試薬ダイカラールGC（小野薬品工業株式会社製）を用いて測定した。

(2) 血清遊離脂肪酸

血清遊離脂肪酸は、ACS・ACD法NEFAC-テストワコー（和光純薬工業株式会社製）を用いて測定を行った。

(3) 筋肉及び肝臓グリコーゲン量

グリコーゲン量はLoら⁽⁵⁾の方法に基づいて定量分析を行った。すなわち、約50mgの肝臓組織または約100mgの筋肉組織を入れた試験管に30%のKOH水溶液（Na₂SO₄飽和溶液）1 mlを加え試験管口に硝子玉を乗せ、沸騰水中で30分間加熱した。その後、氷冷し95%エタノール溶液を1.2 ml添加して混和し、更に30分間氷冷した。その後、3000rpmで30分間遠心し上澄みをアスピレーターにて除去した。肝臓組織残渣には8 ml、筋肉組織残渣には4 mlの蒸留水をそれぞれ加えて混和後、適量をべつの試験管に移し、蒸留水を加えて全量を各々1 mlとした。その後、5%フェノール水溶液1 mlを添加し、更に、濃硫酸5 mlを溶液表面に素早く注入した。10分間放置後混和し27°Cの温浴中で20分間インキュベーションを行い、490nmの吸光度にて測定した。

(4) 副睪丸脂肪組織の脂肪酸組成

副睪丸脂肪組織約50mgはクロロホルム：メタノール混液（2：1）5 mlにて脂質を抽出濾過した後、約1 mlの蒸留水を加え、混和し3000rpmで15分間の遠心分離を行い、上層部分をアスピレーターにより吸引除去した。残りの下層部分は40°C温浴中で窒素ガス気流条件下にて蒸発乾固した。この抽出した脂質はMetcalf⁽⁶⁾の方法により

メチルエステル化した。抽出した試料に適量のアセトンを加え溶解し、直ちにガスクロマトグラフによる分析を実施した。

(5) Citrate synthase (CSと略) 活性

CS活性は、Srere⁽⁷⁾らの方法に基づいて測定を行った。すなわち、ヒフク筋及びヒラメ筋についてそれぞれ約70mgを摘出秤量し試料とした。175 mM KCl, 10mMグルタチオン（GSH）及び2 mMエチレンジアミン四酢酸（EDTA）を含む25 mMトリス塩酸緩衝液（pH7.4）を用いて10%ホモジネート溶液を調製した。ホモジネート溶液は25mMトリス塩酸緩衝液（pH7.4）で10倍に希釈し、ホモジネート溶液40 μ l, 1 mM DTNB（100 mMトリス塩酸緩衝液pH8.1）80 μ l, H₂O₆ 16 μ l及び3 mM Acetyl-CoA 24 μ lをセルに注入後、10分間30°Cの温浴中に静置し、温度平衡に達した後、5 mMオキザロ酢酸を40 μ l添加し、反応を開始した。反応開始後30秒間隔で10分間412nmにて吸光度の変化を測定した。

(6) β -hydroxyacyl CoA dehydrogenase (HADと略) 活性

HAD活性は、Bassら⁽⁸⁾の方法に基づいて測定を行った。HAD活性の分析にはCS活性用のホモジネート溶液と同一のものをを用いた。セルにはホモジネート溶液80 μ lに、167mMトリエタノールアミン塩酸塩、50mM EDTA及び4.5mM NADH（還元型）を含む25mMトリス塩酸緩衝液640 μ lを加えた。10分間30°Cの温浴中に静置し、1 mM Acetoacetyl-CoA 80 μ lを添加した。反応開始後、340nmにて吸光度の変化を測定した。

5. 統計処理

統計量は平均値±標準偏差値（SD）で算出した。グループ間のデータは分散分析で比較し、有意水準は5%未満とした。

結果

(1) 動物の体重

体重の変動はTable 3 及びFig. 2 に示した。飼育期間中を通して、オリーブ油の摂取レベルが高いほど体重増加は大きい様子にあった。すなわち、20%oliveでは5%oliveに比較し、4日目及び15日目では有意（ $p < 0.05$ ）に増加した。更に、40%oliveでは5%oliveに比べて実験期間を通して、いずれも顕著に高値（ $p < 0.01$ ）を示した。また、2日目から8日目及び35日目から実験終了日まで

については、40%oliveは20%oliveに比べて有意な高値 ($p<0.05$) が認められた。

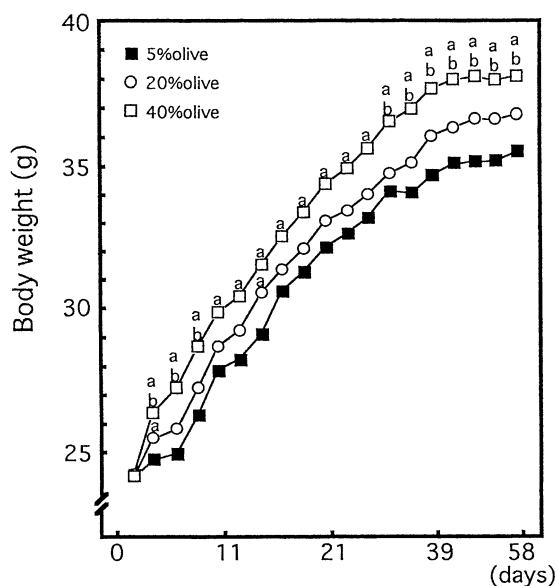


Fig. 2 Body weight of each group during experimental period

Values are mean for 21 mice. a, Significantly different from 5%olive, $p<0.05$. b, Significantly different from 20%olive, $p<0.05$.

Table 3 Body weight

	Group		
	5%olive	20%olive	40%olive
Initial body weight (g)	24.2±1.0	24.2±1.1	24.2±0.8
Final body weight (g)	35.8±2.5	36.8±2.9	38.1±2.2 ^{a b}

Values are mean ± SD. a. 40%olive vs. 5%olive, ($p<0.05$). b. 40%olive vs. 20%olive, ($p<0.05$).

(2) 副睪丸脂肪組織重量

副睪丸脂肪組織重量は、Table 4 に示す通り、3 群間で有意な差は認められなかった。

Table 4 Epididymal fat tissue weight

	Group		
	5%olive	20%olive	40%olive
Fat tissue (mg)	536.1±139.3	578.9±164.4	575.6±164.2

Values are mean ± SD.

(3) オリーブ油の脂肪酸組成

実験食に用いたオリーブ油の脂肪酸組成は、Table 2 に示す通りである。すなわち、主要な脂肪酸であるパルミチン酸 (C16)、オレイン酸 (C18:1) 及びリノール酸 (C18:2) の割合は、それぞれ9.5%、75.9%及び8.6%であった。

Table 5 Fatty acids composition of epididymal fat tissue of each group

Fatty acid	Group		
	5%olive	20%olive	40%olive
C14:0	1.2 ±0.2	0.7 ±0.2	0.4 ±0.1
C16:0	20.7 ±2.0	15.4 ±2.7	11.3 ±0.7
C16:1	8.4 ±0.9	5.2 ±0.7	3.2 ±0.5
C18:0	2.8 ±0.7	2.0 ±0.7	1.8 ±0.2
C18:1	59.4 ±2.2	67.7 ±2.9	73.6 ±1.4
C18:2	4.4 ±0.6	6.8 ±1.3	7.7 ±0.9
C18:3	1.4 ±0.4	1.1 ±0.3	0.6 ±0.2

Values are mean ± SD(%).

Table 6 Effect of fasting and exercise on serum glucose level.

Group	Control	Fasting	Exercise
5%olive	250.2±14.3	260.6±23.2	203.2±26.9 ^a
20%olive	231.0±12.1	239.3±16.4	196.1±20.6 ^a
40%olive	244.0±29.4	243.0±21.8	248.3±38.4

a. Significantly different from control. $p<0.01$. Values are mean ± SD. and are expressed as mg/dl.

(4) 副睪丸脂肪組織重量

副睪丸脂肪組織の脂肪酸組成は、Table 5 に示す通りである。脂肪酸の中でも特にC18：1のオレイン酸については、各々5%oliveでは59.4%、20%oliveでは67.7%及び40%oliveでは73.6%であった。

(5) 血清グルコース値

血清グルコース値はTable 6 に示した。絶食負荷による顕著な変動は、いずれの群においても認められなかった。一方、運動負荷条件下では、5%olive及び20%oliveで著しい ($p < 0.01$) 低下を示したのに対して、40%olive群においてはその様な現象を示さなかった。

(6) 血清遊離脂肪酸値

血清遊離脂肪酸値はTable 7 に示す通りである。すなわち、絶食負荷により5%olive及び20%oliveで顕著な増加は認められなかったのに対して、40%oliveでは有意に ($p < 0.01$) 増加した。また、運動負荷により、いずれの群でも著しい増加 (p

< 0.05) を示した。増加率は5%olive及び20%oliveで、それぞれ215%及び234%であったのに対して、40%oliveでは417%と極めて高い増加率であった。

(7) 組織グリコーゲン量

1) 筋グリコーゲン量

ヒク筋のグリコーゲン量の変動については、Table 8 に示す通りである。すなわち、絶食負荷条件下では、5%oliveで減少を示す傾向にあり、また、20%oliveでは有意な ($p < 0.05$) 減少が認められた。それに対して、40%oliveにおいては、絶食負荷後の値は、絶食負荷前に比べて有意に ($p < 0.05$) 高値を示した。また、5%olive及び20%oliveでは、運動負荷により運動負荷前に比べて運動負荷後の方が有意に ($p < 0.001$) 減少したのに対して、40%oliveでの顕著な減少は認められなかった。

2) 肝臓グリコーゲン量

肝臓グリコーゲン量は、Table 8 に示す通りで

Table 7 Effect of fasting and exercise on serum free fatty acid level.

Group	Control	Fasting	Exercise
5%olive	379.2±121.4	326.4±137.4	1197.6±270.1 ^b
20%olive	365.9±100.9	474.9±127.7	1222.1±565.8 ^b
40%olive	247.3±89.2	623.0±111.1 ^a	1278.3±277.0 ^b

a, b. Significantly different from control. a. $p < 0.01$, b. $p < 0.005$.

Values are mean \pm SD. and are expressed as $\mu\text{Eq/l}$.

Table 8 Effect of fasting and exercise on gastrocnemius and liver Glycogen level.

Gastrocnemius			
Group	Control	Fasting	Exercise
5%olive	1.8±0.3	1.5±0.9	0.4±0.2 ^b
20%olive	3.0±0.7	2.0±0.5 ^a	0.8±0.2 ^b
40%olive	1.3±0.7	3.1±0.6 ^a	1.0±0.2
Liver			
5%olive	29.6±2.7	14.3±7.7 ^a	22.9±5.0
20%olive	55.6±6.5	14.0±5.0 ^b	22.8±11.0 ^b
40%olive	28.4±7.6	21.9±6.3	31.6±6.3

a, b. Significantly different from control. a. $p < 0.05$, b. $p < 0.001$.

Values are mean \pm SD. and are expressed as mg/g tissue.

ある。すなわち、5%olive及び20%oliveでは絶食負荷前に比べ絶食負荷後の値が有意に ($p < 0.05$) 減少したのに対して、40%oliveでは顕著な減少は認められなかった。運動負荷実験においては、5%oliveでは、負荷前に比べて負荷後の方が低い傾向にあり、20%oliveで顕著に低い値 ($p < 0.001$) を示した。しかし、40%oliveではむしろ負荷前に比較して、負荷後の方が高い様子にあった。

(8) 筋肉組織における酵素活性

1) Citrate synthase (以下CSと略) 活性

ヒク筋及びヒラメ筋のCS活性は、Table 9 に示す通りである。すなわち、ヒク筋においては

絶食負荷による活性の変動は5%oliveでは認められなかったのに対して、20%olive及び40%oliveでは顕著に高い活性 ($p < 0.05$) を示した。運動負荷実験において、5%olive及び20%oliveでは負荷前に比べ負荷後の活性の変動は余り認められなかったのに対して、40%oliveでの活性は、有意に高かった ($p < 0.05$)。

ヒラメ筋におけるCS活性についても同様の結果が得られた。すなわち、5%oliveでは絶食負荷により、負荷前に比べ負荷後の顕著な変動は認められなかったのに対して、20%olive及び40%oliveでは著しく高い活性値 ($p < 0.05$) を示した。一方、運動負荷実験では5%olive及び20%oliveいずれも運動負荷後の活性値の変動は示さなかった

Table 9 Effect of fasting and exercise on citrate synthase of gastrocnemius and soleus muscle.

Group	Gastrocnemius		
	Control	Fasting	Exercise
5%olive	4.7±0.9	5.1±0.8	4.7±0.6
20%olive	4.0±1.0	5.3±0.8 ^a	4.6±0.6
40%olive	3.8±0.8	4.9±0.4 ^a	4.8±0.8 ^a
Group	Soleus		
	Control	Fasting	Exercise
5%olive	12.8±1.5	14.2±2.4	13.7±1.6
20%olive	13.1±1.8	15.7±2.0 ^a	13.3±1.2
40%olive	10.7±2.9	16.0±1.5 ^b	15.8±1.1 ^b

a, b. Significantly different from control. a $p < 0.05$, b $p < 0.005$.

Values are mean ± SD. and are expressed as $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g wet wt}$.

Table 10 Effect of fasting and exercise on β -hydroxyacyl CoA dehydrogenase of gastrocnemius and soleus muscle.

Group	Gastrocnemius		
	Control	Fasting	Exercise
5%olive	10.5±5.4	11.0±4.5	7.4±3.4
20%olive	11.5±2.3	12.4±5.3	5.6±3.3
40%olive	8.7±3.6	14.5±3.3	16.0±2.7 ^a
Group	Soleus		
	Control	Fasting	Exercise
5%olive	19.5±5.8	20.9±2.9	17.0±6.7
20%olive	23.8±8.6	29.3±5.7	20.7±6.1
40%olive	17.3±7.2	30.3±3.6 ^a	29.4±2.5 ^a

a. Significantly different from control. $p < 0.05$.

Values are mean ± SD. and are expressed as $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g wet wt}$.

のに対して、40%oliveでは運動負荷前に比べ負荷後、顕著に高い活性 ($p < 0.05$) が認められた。

2) β -hydroxylacyl CoA dehydrogenase (以下HADと略) 活性

ヒク筋及びヒラメ筋のHAD活性は、Table10に示す通りである。ヒク筋におけるHAD活性については、絶食負荷により、いずれの群でも有意な変動は示さなかったが、40%oliveでは高い活性を示す傾向にあった。また、5%olive及び20%oliveでは運動負荷により、その活性が低い様子にあったのに対して、40%oliveでは有意に上昇した ($p < 0.05$)。

ヒラメ筋におけるHAD活性についても同様の結果が認められた。すなわち5%olive及び20%oliveでは絶食負荷により、著明な変動は認められなかったのに対して、40%oliveでは顕著に高い活性値が得られた。また、5%olive及び20%oliveでは運動負荷により負荷後の方が、負荷前に比べて余り変動を示さなかったのに対して、40%oliveでは有意に高い活性 ($p < 0.05$) が認められた。

考察

本研究の体重については、高脂肪食摂取群である40%oliveで顕著な増加が認められた。この結果は、高脂肪食での飼育が高炭水化物食のものよりも体重が大きいという従来⁽⁹⁾の知見と一致するものであった。

従来、摂取脂肪のカロリー比に占める割合が増加するにつれて摂取脂肪の脂肪酸組成は、脂肪組織の脂肪酸組成に反映されているといわれている^(10, 11, 12)。本実験結果の副睾丸脂肪組織脂肪酸組成において特に40%oliveでは摂取脂肪であるオリーブ油の脂肪酸組成の特徴を反映していた。すなわち、オリーブ油の脂肪酸組成はC16が約10%，C18：1が約76%，及びC18：2が約9%であるのに対して、40%oliveにおいて認められた脂肪酸組成の割合は、それぞれ11%，74%，及び8%とほぼオリーブ油のそれに一致し、従来⁽¹⁾の知見と共通するものであった。

絶食時及び運動時に用いられるエネルギー基質として、血中グルコース及び血中遊離脂肪酸が利用されていることが一般的に知られている。本研究において、血中グルコースレベルについて検討した結果、絶食負荷による顕著な変動はいずれの群においても認められなかった。これまで絶食により血中グルコースレベルは絶食により減少することが認められているが、本研究では必ずしもそ

の様な結果が得られなかったことは、従来行われた研究^(1, 13)の実験条件として絶食時間が20時間を超えていたのに対して、本研究では14時間と比較的短く絶食の影響が出にくい様子にあった可能性が考えられること、さらに、本実験では給餌条件としてmeal-feedingを採用しているが、この間欠給餌によって肝臓のグリコーゲン貯蔵が適応的に増大すること^(14, 15)はよく知られており、このことが血中グルコースレベルを比較的容易に維持できた要因として考えることもできよう。一方、運動を負荷した場合では、5%olive及び20%oliveで著しい減少が認められたのに対して、40%oliveでの顕著な現象は認められなかった。これらの現象は、高脂肪食群に比べて高炭水化物食群の方が運動負荷による血中グルコースレベルの減少が大きいという従来^(9, 16)の報告と一致している。40%oliveにおいてグルコースの低下が認められなかったことは、末梢組織でのグルコースの取り込み及び利用が少なかったこと、肝臓組織における糖新生が活発に行われたこと、あるいは、肝臓グリコーゲンの分解などにより血中へのグルコースの放出が促進された結果生じたものと考えられることもできよう。

生体において主要なエネルギー基質の一つとして血中遊離脂肪酸は極めて有用性が高いものである。本実験において、40%oliveの絶食時における血中遊離脂肪酸レベルが著明に高いことや、運動時のそのレベルの増加程度が特に40%oliveで大きい結果が認められた。従来、食餌の糖質と脂質のバランスが、生体のエネルギー代謝を強く支配し、高脂肪食はエネルギー代謝を脂肪酸酸化に傾けること^(3, 17, 18)や、脂肪組織の脂肪分解能を著明に増大させること⁽¹⁶⁾が示唆されている。カロリー比で40%のオリーブ油を摂取した高脂肪食群における本研究結果は、その事を物語る現象といえる。

組織グリコーゲン量については、肝臓についてみると絶食負荷及び運動負荷により、5%olive及び20%oliveで顕著な減少が認められたのに対して、40%oliveにおいては、その様な現象は得られず顕著な変動を示さなかった。このことは、筋組織においても同じ様子にあったことは結果で述べたとおりである。これまで屋代ら⁽¹⁾は脂肪源として重量%で20%のオリーブ油を含む食餌で動物を飼育した場合、組織グリコーゲンは、絶食や運動条件を与えても顕著な減少は認められないことを報告しており、本実験における40%oliveで得られた結果と共通するものであった。組織グリコーゲンが絶食時及び運動時に減少しなかったことについ

ては、エネルギー基質として脂肪酸の酸化が活発化し、TCAサイクルの中間体であるクエン酸が解糖系の律速酵素であるphosphofluctokinaseを抑制したこと⁽¹⁹⁾及びpyruvate dehydrogenaseがAcetyl CoA/CoA比の増加によって抑えられたこと⁽²⁰⁾などによって組織グリコーゲンの分解が著しく抑制されたものと考えられる。先に述べたように、この様なメカニズムを促すためには、脂肪酸の酸化利用が活発に行われていることが大きな要件⁽²¹⁾となる。

好気的条件下においてはエネルギー基質としてのグルコース及び遊離脂肪酸は、解糖系や β -酸化系を経て、さらには、TCAサイクルを経由する過程でATPが産生される。特に、脂肪酸酸化が活発化する場合、 β -酸化系において、 β -ヒドロキシ脂肪酸アシルCoAから β -ケト酸アシルCoAへの代謝を触媒する β -ヒドロキシアシルCoAデヒドロゲナーゼ、及びTCAサイクルにおいてオキサロ酢酸とアセチルCoAからクエン酸を合成する代謝を触媒するクエン酸合成酵素は著明に活発化することが認められており⁽¹⁷⁾、本研究では筋肉組織中におけるこれらの酵素活性を検討することにより各条件下での脂肪酸酸化の動態を明らかにしようとした。結果で示した様に、赤筋線維がその大部分を占めるヒラメ筋のCS活性に関して、絶食負荷では40%oliveで有意に高い活性値を示した。一方、HADについても、絶食及び運動負荷条件下において40%oliveで著しく高い活性値が認められた。更に、白筋線維の占める割合が高いヒフク筋においても同様に40%oliveで顕著に高い活性が認められたのである。これらの結果から本研究は40%oliveにおいて細胞内ミトコンドリアでの脂肪酸酸化が著明に亢進していることを示唆したものといえよう。更にこのことは、本研究結果で認められた血中遊離脂肪酸レベルの増加の程度や組織グリコーゲンの結果を裏付けるものである。遊泳運動中の疲労度は、5%olive及び20%oliveに比べて40%oliveで明らかに低い様子にあり、持久的パフォーマンスが顕著に維持されていることが観察された。本研究結果におけるCS及びHADの高い活性がそのことを支持しているように思われる。

これまで高脂肪食及び高炭水化物食のグリコーゲン代謝や脂肪酸代謝に及ぼす影響に関する研究^(9, 14, 18)がなされてきたが、脂肪源としてオリーブ油を用いて遂行された研究はほとんど認められず、大豆油やコーン油などがその主な食餌脂肪源である。そこで得られた結果の主な内容について

は、高脂肪食摂取によって脂肪酸酸化の亢進及び持久的パフォーマンスの向上は認められるが、組織グリコーゲンレベルは運動負荷により減少しており、従来指摘されてきた持久性発現と顕著なグリコーゲン節約との強い相関性が必ずしも強調されるものではなかった。このことに関して、本研究では、カロリー比で40%のオリーブ油を摂取した群において脂肪酸酸化を触媒する酵素活性が著明に高かったこと、持久的パフォーマンスがより優れていたこと、さらに、グリコーゲンの減少がほとんど認められなかったこと、などの結果が得られたのである。このことはオリーブ油を多食した生体でのグリコーゲン節約効果に対して脂肪酸の酸化利用が顕著に影響を及ぼしていることを物語るものとして興味深い。これは、オリーブ油に豊富に含まれる単価不飽和脂肪酸のオレイン酸代謝の特異性に由来するものかもしれない。すなわち、大腿筋の収縮運動においては長鎖脂肪酸がより速やかに酸化され、oleate-1-¹⁴C及びpalmitate-9, 10-³Hを同時にシロネズミに投与した場合には、血中からの脂肪酸消失速度はオレイン酸のほうがパルミチン酸よりも速く酸化速度もオレイン酸のほうが速かったこと、また、オレイン酸は各組織の中性脂肪部分により多く取り込まれていること⁽²⁴⁾、血中脂肪酸レベルが上昇する場合、血中の全脂肪酸の中でオレイン酸の占める割合が高まること⁽²⁵⁾なども認められている。更に、心筋においてオレイン酸が優先的に取り込まれていることをRothlinとBing⁽²⁶⁾は観察している。Leytonら⁽²⁷⁾の研究では、炭素数が16個から18個を有する主要な脂肪酸の中で特にオレイン酸の酸化利用が顕著であることを報告しており、Jonesら⁽²⁸⁾のヒトを対象とした実験でも同様の結果が得られている。この様に、脂肪酸の酸化が活発に行われている生理的条件下においてはエネルギー基質としてのオレイン酸の利用度が極めて高いことが認められているのである。これらのことから、オレイン酸を中心とした脂肪酸の利用が、オリーブ油の多食によって活発化した可能性を本研究は示しているものと考えられる。

これまで、高脂肪食の方が高糖質食に比べてヒフク筋ホモジネートの酵素消費量が大きく、その増大が甲状腺機能の亢進に一部起因している可能性が高いこと⁽²⁹⁾、高脂肪食が高糖質食に比べて脂肪組織のノルエピネフィリン刺激性の脂肪酸放出能を増大させることが観察されていること⁽³⁰⁾脂肪酸酸化が高まっている生理的条件下ではカテコールアミンなどの脂肪動員ホルモンの分泌が活

発であること⁽³¹⁾など、有酸素的条件下での脂肪酸酸化の亢進に幾つかのホルモンが関与していることが示唆されている。これら内分泌系を介して脂肪酸の代謝に関わるHAD及びCSの酵素活性が著明に高まった可能性も考えられるが、今後検討すべき課題であろう。

要約

本研究では、食餌脂肪としてオリーブ油を5%、20%及び40%のレベルで、それぞれ8週間飼育した動物に絶食及び運動を負荷し、血中グルコースレベル、血中遊離脂肪酸レベル、肝臓並びに筋肉のグリコーゲンレベル、及び脂肪酸代謝に関わる酵素Citrate synthase及び β -hydroxyacyl CoA dehydrogenase活性を検討した。

- 1) 副睾丸脂肪組織の脂肪酸組成は、40%oliveで摂取脂肪であるオリーブ油の脂肪酸組成を反映していた。
- 2) 血中グルコースレベルは、5%olive及び20%oliveで減少を示したのに対し、40%oliveでは顕著な変動はみられなかった。
- 3) 血中遊離脂肪酸レベルは、絶食負荷により5%olive及び20%oliveでほとんど変動が認められなかったのに対して、40%oliveでは顕著

な増加を示した。また、運動負荷条件下ではいずれの群も著明に増加した。

- 4) 肝臓グリコーゲン量は、絶食負荷により5%olive及び20%oliveで減少を示したのに対して、40%oliveでの明らかな変動は認められなかった。このことは運動負荷条件下でも同様の現象にあった。
- 5) 筋肉グリコーゲン量は、絶食負荷により5%olive及び20%oliveで減少傾向もしくは減少を示したのに対して、40%oliveでは顕著な増加を示した。また、運動負荷により5%olive及び20%oliveで著しい減少を示したのに対して、40%oliveでの変動は余り認められなかった。
- 6) ヒフク筋及びヒラメ筋のCS活性については、20%olive及び40%oliveで絶食負荷により著しく高い活性が認められた。また、運動負荷により40%oliveで顕著に高い活性値を示した。
- 7) HAD活性は、ヒフク筋において絶食負荷によりいずれの群でも有意な変動は示さなかったが、40%oliveでの活性は高値を示す傾向にあった。さらに、40%oliveでは、運動負荷により有意にその活性が上昇した。ヒラメ筋においては、40%oliveは絶食負荷及び運動負荷によりその活性は顕著に高かった。

参考文献

- 1) 屋代正範, 湊 美勝: 日本栄養・食糧学会誌, 44 (4), 267 (1991)
- 2) 屋代正範, 木村公喜: 体力科学, 41 (6), 661 (1992)
- 3) Carter, S.L., Renie, C.D., Hamilton, S.J. & Tarnopolsky: Can. J. Physiol. Pharmacol., 79(5), 386 (2001)
- 4) 鈴木淳一, 平塚勇介, 東浦拓郎: 北海道教育大学冬季スポーツ教育研究センター紀要, 7 (1), 9 (2004)
- 5) Lo, S., Russell, J. C. and Taylor, A. W.: J. Appl. Physiol., 28, 234 (1970)
- 6) Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A., Pelka, J. R.: Analytical Chemistry, 38 (3), 514 (1966)
- 7) Srere, P. A.: Methods in Enzymol., 13, 3 (1969)
- 8) Bass, A. D., Brdiczka, P., Eyer, S. H. and Pett, D.: Eur. J. Biochem., 10, 198 (1969)
- 9) 屋代正範, 鈴木正成: 東京教育大学体育学部紀要, 16, 45 (1977)
- 10) Ney, D. M., Lasekan, J. B., Spennetta, T., Grahn, M. and Shrago, E.: LIPIDS., 24 (3), 233 (1989)
- 11) 鈴木正成, 木村修一: 脂質生化学研究, 12, 209 (1970)
- 12) Innis, S. M. and Clandinin, M. T.: Biochem. J., 193, 155 (1981)
- 13) Dohm, G. L., Tapscott, E. B., Barakat, H. A. and Kasperek, G. J.: J. Appl. Physiol., 55 (3), (1983)
- 14) Tepperman, J. and Tepperman, H. M.: Am. J. Physiol., 193, 55 (1958)
- 15) Hollifield, G. and Parson, W.: J. Clin. Invest., 41, 245 (1972)

- 16) Costill, D. L. Coyle, E. Dalsky, G. Evans, W. Fink, W. and Hoopes, D. : J. Appl. Physiol., 43 (4), 695 (1977)
- 17) Miller, W. C. Bryce, G. R. and Conlee, R. K. : J. Appl. Physiol., 56 (1), 78 (1984)
- 18) 中谷 昭：平成10年度～平成12年度科学研究費補助金（基礎研究C）研究成果報告書 2 （2001）
- 19) Garland, P. B. Rabbie, P. J. and Newsholme, E. A. : Nature, 200 (12), 169 (1963)
- 20) Randle, P. J. Newsholme, E. A. and Garland, P. B. : Biochem. J., 93, 652 (1964)
- 21) Rennie, M. J. Winder, W. W. and Holloszy, J. O. : Biochem. J., 156, 647 (1976)
- 22) 上代淑人（訳）：ハーパー生化学，原書22版，P.164（1991）丸善（東京）
- 23) 上代淑人（訳）：ハーパー生化学，原書22版，P.218（1991）丸善（東京）
- 24) Goransson, G. and Olivecrona, T. : Acta. Physiol. Scand., 63, 121 (1965)
- 25) Rothlin, M. E. Rothlin, C. B. and Wendt, V. E. : Am. J. Physiol., 203, 306 (1962)
- 26) Rothlin, M. E. and Bing, R. : J. Clin. Invest., 40, 1380 (1961)
- 27) Leyton, J. Drury, P. J. and Crawford, M. A. : Brit. J. Nutr., 57, 383 (1987)
- 28) Jones, P. J. H. Pencharz, P. B. and Clandinin, M. T. : Am. J. Clin. Nutr., 42, 769 (1985)
- 29) 鈴木正成，岡野五郎，下村吉治：栄養と食糧，34, 335 (1981)
- 30) Herman, N. Z. and Felber, J. P. : Eur. J. Biochem., 25, 89 (1972)
- 31) Suzuki, H. Goshi, H. and Sugisawa, H. : J. Nutr., 105, 90 (1975)