

クエン酸もしくはレモン果汁摂取による 運動後の血中乳酸消去の促進

名古屋工業大学共通講座健康運動科学 教授 下村 吉治



下村 吉治氏

1. はじめに

クエン酸は、レモンの酸味のもとであり、レモン果汁に約6%含まれる¹⁾。また、クエン酸は生体内エネルギー代謝の中心的な中間代謝物であり、その投与による生体内代謝への影響には興味を持たれている。運動トレーニングは、筋肉のクエン酸合成酵素活性を上昇し、それに伴ってクエン酸濃度も上昇することが報告されている²⁾。この事実より、運動前後もしくは運動中にクエン酸を投与すると、運動時のエネルギー代謝に影響する可能性が考えられる。

これまでの報告において、短期間（数分間）の運動の前にクエン酸を投与すると、運動中の血液pHの低下を抑制するなどの作用により、パフォーマンスを改善することがヒトにおいて明らかにされている³⁻⁵⁾。また、ラットに持久的運動を負荷して肝臓と筋肉のグリコーゲンを減少した後、クエン酸とグルコースを併用投与すると、グルコース単独投与よりも、両組織のグリコーゲン回復が促進されることが報告されている⁶⁾。しかし、ヒトの持久運動後の代謝に対するクエン酸摂取の影響に関しては報告されていなかった。そこで、ヒト血中の成分に対するクエン酸およびレモン果汁投与の影響が検討された⁷⁾。

2. ヒトにおけるクエン酸もしくはレモン果汁投与の効果の実験⁷⁾

運動経験のある健康な成人男性6名（25 - 30歳）を被検者として用いた。各被検者は、実験日の運動後、(1)クエン酸+グルコース被験液、(2)レモン果汁+グルコース被験液、もしくは(3)グルコース（コントロール）被験液を摂取する合計3回の実験に参加した。実験当日の午前9時に、運動中の血糖低下を防止

するため、バナナ（体重65kgあたり200kcal（230g））を与え、1時間後（午前10時）より自転車エルゴメーターを用いて運動を負荷した。運動負荷強度とその時間は、各被験者の最大運動強度の50%で15分間、続いて70%で45分間負荷し、運動終了直後に(1)クエン酸（0.4g/kg体重）+グルコース（1.5g/kg体重）被験液、(2)レモン果汁（クエン酸として0.4g/kg体重）+グルコース（1.5g/kg体重）被験液、もしくは(3)等カロリーのグルコース（他の被験液と同量のグルコースを含み、フルクトースを用いてクエン酸分のカロリーを調整した⁶⁾）被験液500mlのいずれかを数分内に摂取させた。運動終了後より、60分間の休息を取らせた。

3. 実験結果と考察

乳酸は筋肉の解糖系で生成される化合物であり、筋肉疲労と関連した物質であることが知られている。この研究における血中乳酸濃度の運動前後と1時間の休息期間中の変化を図1に示した。各被験液摂取群において、血中乳酸濃度は安静時では約1mMであったが、1時間の運動負荷により4.0mM以上に上昇した。運動後の休息期間に、血中乳酸濃度はいずれの被験液を摂取しても徐々に低下したが、コントロール（グルコース）被験液を摂取した場合に比べて、グルコースとクエン酸もしくはレモン果汁の混合被験液を摂取した場合は、その低下が速く、休息60分の時点のその濃度は、コントロール被験液の場合よりもレモン果汁被験液とクエン酸被験液で有意な低値を示した。一方、運動後60分の時点における血清クエン酸濃度は、コントロール被験液（22.3 μg/ml）よりも、クエン酸被験液（50.5 μg/ml）とレモン果汁被験液（46 μ

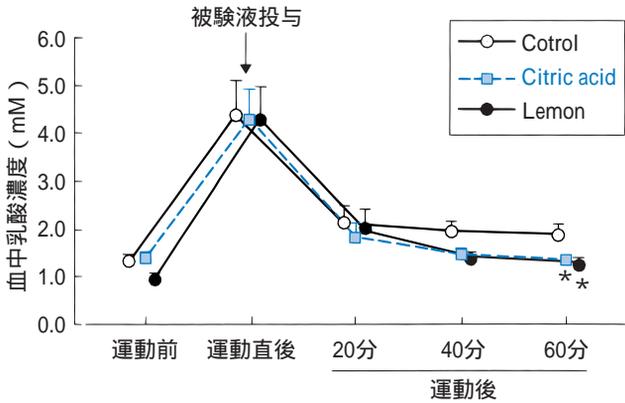


図1 運動負荷による血中乳酸濃度の上昇と運動後のその濃度に対するクエン酸被験液もしくはレモン果汁被験液摂取の影響
* 同時点のコントロールに対する有意差 (P < 0.05)

g/ml) の摂取で有意に増加した。これらの結果は、運動後のクエン酸もしくはレモン果汁の摂取により、血中乳酸の消去が促進されることを示している。

従来より、筋肉疲労に対するクエン酸の効果について興味は持たれていたが、血中乳酸に対するクエン酸の効果は検討されていなかった。この研究において認められたクエン酸摂取による血中乳酸の消去の促進は、筋肉からの乳酸放出の抑制によるものか、肝臓による乳酸処理の促進によるものか、もしくはその両者による可能性が考えられるが、生体内におけるクエン酸

の作用を推論すると次のように考えられる。

クエン酸は、アセチル-CoAをマロニル-CoAに変換する酵素アセチル-CoA カルボキシラーゼの活性を高める作用があり⁸⁾、その投与によりマロニル-CoAの生成が促進される可能性が考えられる(図2)。このマロニル-CoAは、ミトコンドリアのカルニチン-パルミトイルトランスフェラーゼを強力に阻害するため、脂肪酸のミトコンドリアへの輸送を阻害する(図2)⁹⁾。

一方、ミトコンドリア内に存在するピルビン酸脱水素酵素複合体(PDC)は、脂肪酸酸化が促進される条件では不活性化され、逆に阻害される条件では活性化されることが知られている⁹⁾。従って、マロニル-CoAの生成が促進されると、PDC活性は上昇することが考えられる。この条件では、ピルビン酸及び乳酸の酸化が促進される結果となる。さらに、クエン酸は解糖系の調節酵素ホスホフルクトキナーゼの阻害剤であり(図2)グルコースの分解を抑制する作用をもつ。これらの2つのクエン酸の作用により、クエン酸を投与した場合には、乳酸の分解が促進されるメカニズムが考えられる。しかし、この仮説の証明のためにはさらに研究が必要である。

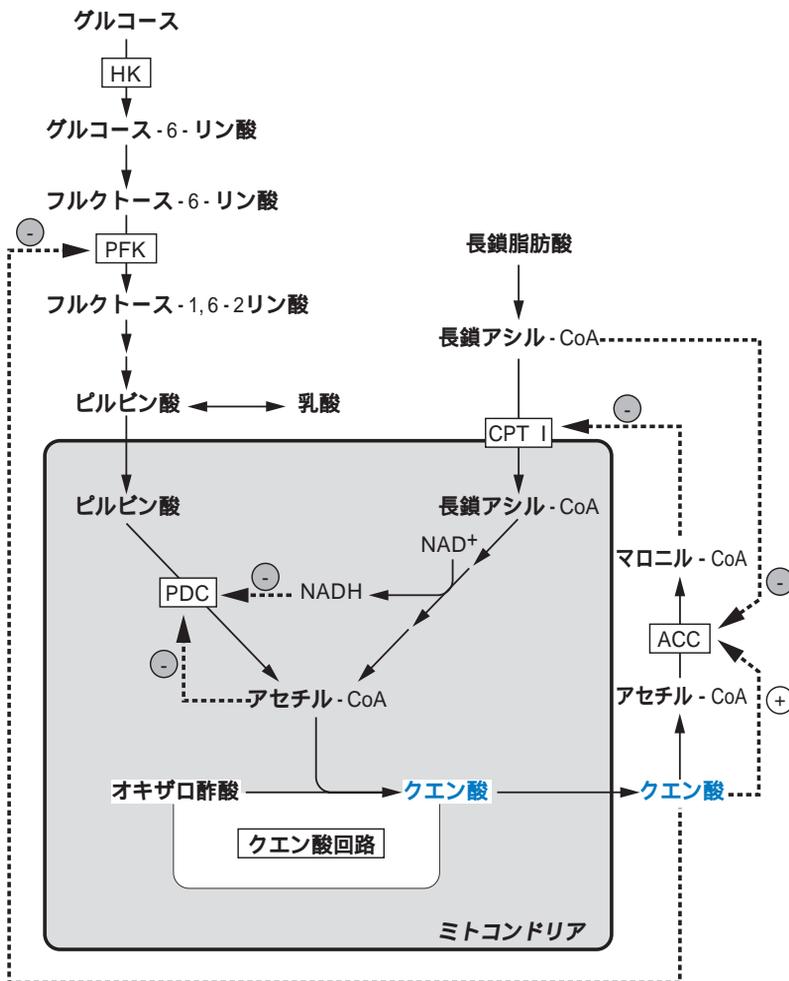


図2 グルコース脂肪酸の酸化系におけるクエン酸の作用
HK: ヘキソキナーゼ、PFK: ホスホフルクトキナーゼ、PDC: ピルビン酸脱水素酵素複合体、
CPT: カルニチン-パルミトイルトランスフェラーゼ、
ACC: アセチル-CoAカルボキシラーゼ

References

1. 三宅義明 (1998) 特集 果実由来フィトケミカルズの機能性 レモン成分の機能性研究・食品と開発, 33: 15-18.
2. Coggan AR, Spina RJ, Kohrt WM, Holloszy JO (1993) Effect of prolonged exercise on muscle citrate concentration before and after endurance training in men. Am J Physiol 264: E215-E220.
3. McNaughton LR (1990) Sodium citrate and anaerobic performance: implications of dosage. Eur J Appl Physiol 61: 392-397.
4. McNaughton LR, Cedaro R (1992) Sodium citrate ingestion and its effects on maximal anaerobic exercise of different durations. Eur J Appl Physiol 64: 36-41.
5. Hsusswirth C, Bigard AX, Lepers R, Berthelot M, Guezennec CY (1995) Sodium citrate ingestion and muscle performance in acute hypobaric hypoxia. Eur J Appl Physiol 71: 362-368.
6. Saitoh S, Yoshitake Y, Suzuki M (1983) Enhanced glycogen repletion in liver and skeletal muscle with citrate orally fed after exhaustive treadmill running and swimming. J Nutr Sci Vitaminol 29: 45-52.
7. 三宅義明, 他 (2001) ヒトにおけるレモン果汁およびクエン酸摂取が運動後の血中乳酸に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌 54: 29-33.
8. Ruderman NB, Saha AK, Vavvas D, Witters LA (1999) Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. Am J Physiol 276: E1-E18.
9. Buxton DB, Robertson JG, Olson MS (1993) Regulation of the pyruvate dehydrogenase multienzyme complex. Annu Rev Nutr 13: 497-520.

クエン酸と血流改善について

東海学園大学短期大学部生活環境学科 教授 西堀 すき江



西堀 すき江氏

1. はじめに

血栓性疾患においては、動脈硬化による血管の柔軟性の欠如を基礎疾患とし、これに血小板凝集能の亢進、赤血球変形能の低下、白血球接着現象の増加などによる血液流動性の低下が考えられる。血流の改善にはイワシなどの青魚脂質中のイコサペン

タエン酸（EPA）が効果を示すことが広く知られている。一方、たまねぎ、ピーマン、カカオマスなどの植物性食品にも血流改善効果を示すことをすでに報告しているが、今回はレモン果汁の飲用が血流に及ぼす影響を検討した。

2. 実験方法

2.1 経口飲用実験 (in vivo)

・被験者および試料

インホームド・コンセントを行った年齢30～43歳の健康な男女13名を被験者とした。

試料は(株)ポッカコーポレーション製ポッカ100レモン(レモン果汁100%) 30mLの2倍希釈したものを用いた。

・血液流動性(全血通過時間)の測定

試料飲用前に被験者の上腕静脈よりヘパリン採血(血液9.5ml量に対し、ヘパリンナトリウム溶液0.5ml量)をした。試料飲用1、3時間後に再度採血した。

得られた新鮮な全血を、幅7μm、長さ30μm、深さ4.5μm、8736本並列の血液フィルターチップ(Bloody 6-7)を用い、細胞マイクロロジー測定装置(MC-FAN:日立原町電子工業)にて、20cm水柱差で流し、100μlの通過時間を測定し、次式を用いて生理食塩水通過時間が12秒の場合に換算し、全血通過時間を求めた。

(血液通過時間) × 12秒 / (生理食塩水通過時間)

・血小板凝集抑制作用の測定

血小板凝集の測定はヘマトレーサー(二光バイオサイエン

ス社製)を用いた。試料飲用前の全血を室温で1,000回転/分で10分間遠心分離を行い、上清の血小板浮遊液(多血小板血漿Platelet Rich Plasma、PRP)をキュベットに入れ、透過率0%とし、下層はさらに室温で3,000回転/分で15分間遠心分離を行い、その上清として得られた乏血小板血漿(Platelet Poor Plasma、PPP)を透過率100%の基準値とした。

測定は、PRP 200μlを37℃で攪拌しているところに血小板凝集惹起物質として種々の濃度のコラーゲン20μlを加えて血小板凝集を80～100%起こす匹敵濃度の検討を行い、各被験者のコラーゲン濃度を決定した。

試料飲用1、3時間後採血した全血は、先と同様の操作でPRPとPPPを調整し、試料飲用前に検討した各被験者の濃度のコラーゲンを加え、試料飲用前後の血小板凝集曲線から次式により抑制率を求めた。

$$\text{抑制率} = (Ac - As) / Ac \times 100$$

Ac: 試料飲用前の凝集率 As: 試料飲用後の凝集率

2.2 試験管内添加試験 (in vitro)

・試料

添加試料は先のレモン果汁のほか、レモン果汁の生理機能を示す成分であるクエン酸、ビタミンC、エリオシトリンについてレモン果汁中の含有比(レモン果汁 1万倍希釈液中の濃度比)で添加し検討した。血中の終濃度はクエン酸6ppm、ビタミンC 0.04ppm、エリオシトリン 0.02ppmであった。

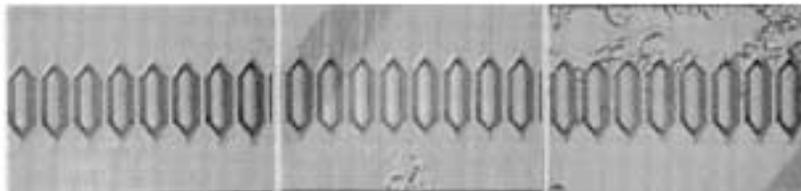
・血液流動性(1/3血)の測定

経口摂取実験と同様に、被験者の上腕静脈より採血をし、自家血漿を用いて1/3血に調整し、濃度調整した試料を10μl/ml(1/3血)添加し測定した。

・血小板凝集阻害作用の測定

血小板凝集の測定も経口実験と同様に被験者から得られた全血からPRP、PPPを調整し、PRPを用いて匹敵コラーゲン濃度を決定した。

測定はPRP 200μlを37℃で攪拌しているところに各試料20μlを加え、これに血小板凝集惹起物質コラーゲン20μlを加えて血小板凝集を起こさせ、添加した試料による血小板凝集抑制効果を調べた。



さらさらと流れている状態 比較的良好な流れの状態 血小板が凝集し流路を塞いでいる状態

図1 血液流動性の状態

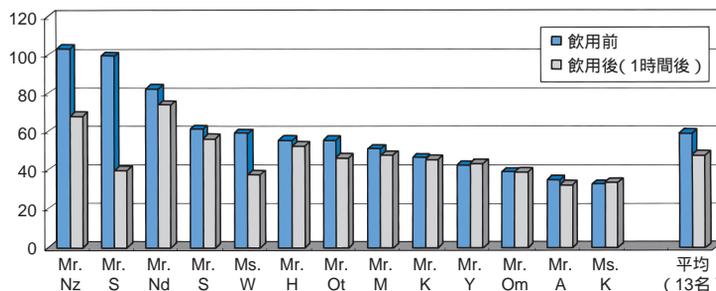


図2 レモン果汁60ml(2倍希釈液)飲用による血液流動性改善効果 (in vivo)

3. 実験結果

被験者13名の全血通過時間は39.3～100.0秒/100μlと個人差があった。飲用前は血小板凝集塊による流路障害がみられた人も、飲用1時間後には改善が認められた。被験者13名中11名で血流時間が短縮し血流改善効果がみられ、平均で13.9%の向上率であった。(図2) 一般的に、摂食実験においては全血通過時間のやや遅い被験者の場合に血液流動性がより向上する傾向にあるが、今回も59.7%と高い向上率を示した被験者がいた。血小板凝集に関しては、飲用により平均で45.2%の向上率を示した。

レモン果汁のどの成分が血流改善に効果があるかを調べるため、採血した血液にクエン酸、ビタミンC、エリオシトリンを添加し、その血流時間を測定した。その結果はどの成分においても血流時間の改善が見られたが(図3)、活性の強さはクエン酸、エリオシトリン、ビタミンCの順となった(図4)。クエン酸は酸

味の主成分で、レモンは食品の中でトップクラスの含有量である。エリオシトリン、ビタミンCなども高い抑制率を示した。

血小板の凝集が起きるメカニズムとして、EPAカスケードで生成するプロスタグランジン_{I₃}やトロンボキサンチン_{A₃}は血小板凝集抑制作用を示すことが知られている。一方、アラキドン酸の代謝過程ではシクロオキシゲナーゼにより血小板凝集作用の強いプロスタグランジン_{I₂}(PGI₂)やトロンボキサンチン_{A₂}(TXA₂)が生成される。今回の実験結果から、レモン果汁、特にクエン酸はアラキドン酸カスケードにおけるシクロオキシゲナーゼの働きを抑え、PGI₂やTXA₂の産生を低下させることにより血小板凝集を抑制し、その結果として血流が改善されたと推測される。

*この実験は(株)ポッカコーポレーションとの共同研究によるものである。

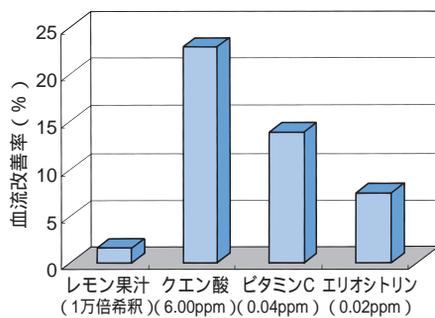


図3 レモン果汁及びその成分の血液流動性改善効果 (in vitro)

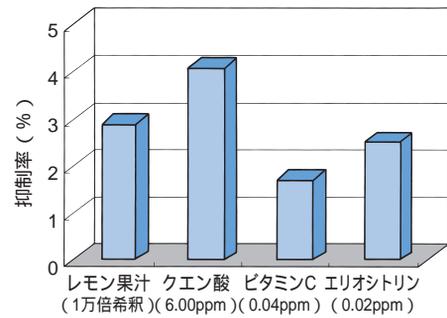


図4 血小板凝集抑制率

葉酸強化食品がNTD発症に及ぼす影響 (アメリカ)

(Honein MAら, JAMA 2001; 285: 2981-2986)

神経管欠損症 (NTD) 児出生における葉酸強化食品の影響を評価するため、アメリカFDAが穀類製品への葉酸強化を義務化する前後でNTD発症調査を行った。

アメリカFDAは1996年3月、穀類製品の栄養価を高めるため、葉酸の強化を正式に認可、1998年1月より義務化した。

調査期間と対象：1990年1月～1999年12月までの間に、アメリカの45の州とワシントンDCで出生(生存者)した際の出生証明書により調査を行った。

結果：出生証明書によるNTD疾患の罹患は、葉酸が食品強化される前は出生数10万人あたり37.8人だったが、葉酸の強化が義務化された後に妊娠した女性の子供では30.5人に減少した。これは19%減少したことになる。

また、同期間において、出生前の診断または中絶による影響について把握するため、妊娠7ヶ月以降に診断を受けた者または出生前の妊婦ケアを受けなかった者が出産した子供のNTD罹患率も調査したところ、出生数10万人あたり53.4人から46.5人に減少した。妊娠後7ヶ月以降は、NTDと診断されても中絶することはまれであり、出生前診断や中絶によるNTD罹患率への影響は少ないと考えられる。

表 穀類製品への葉酸強化がNTD罹患に及ぼす影響 (アメリカ)

	総NTD 罹患率 (95%信頼区間)	二分脊椎症 罹患率 (95%信頼区間)	無脳症 罹患率 (95%信頼区間)
総出生			
葉酸強化後 ¹⁾	0.81 (0.75-0.87)	0.77 (0.70-0.84)	0.89 (0.78-1.01)
葉酸強化前 ²⁾	1.00	1.00	1.00

妊娠後7ヶ月以降のみの診断、または出生前診断を受けなかった者			
葉酸強化後 ¹⁾	0.87 (0.64-1.18)	0.71 (0.47-1.07)	1.14 (0.71-1.83)
葉酸強化前 ²⁾	1.00	1.00	1.00

*1:1998年10月～1999年12月

*2:1995年10月～1996年12月

新ビタミンC所要量の提案（アメリカ）

（Mark Levineら、Proc. N. Acad. Sci. USA Vol.98 No.17 : 9842-9846）

最近アメリカでは、成人男性の所要量を基に、成人女性のビタミンC所要量が75mg/日と設定された。

本研究では、健康な女性を対象に欠乏・飽和研究を行い、ビタミンC30～2,500mg/日を投与した。投与量と血漿定常状態濃度との関連をみると、図1のような曲線となった。図2には各細胞内濃度を示した。

内因性の酸化ストレスバイオマーカーである、血漿・尿中F2-イソプラスタン、F2-イソプラスタンの主な代謝産物の尿中レベルはビタミンC量による変化はなく、健康な若年女性においては、ビタミン投与量は内因性脂質過酸化物質に影響しなかったと示唆できる。

FNB（Food and Nutrition Board; 食品栄養審議会）のガイドラインによれば、本研究結果は若年女性の所要量を90mg/日まで増加するべきであることを示唆している。

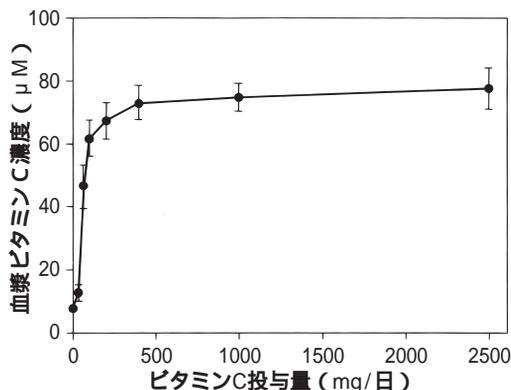


図1 各投与量における血漿ビタミンC濃度（女性）

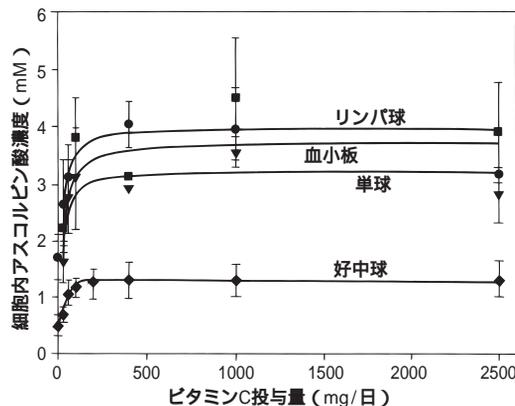


図2 各投与量における循環細胞内のビタミンC濃度

ヒト赤血球細胞膜でのアスコルビン酸フリーラジカルの再生

（Free Radical Biology & Medicine, Vol.31, No.1 pp.117-124, 2001）

要旨

細胞質膜ではアスコルビン酸が α -トコフェロールを再生することにより脂質の過酸化を防止しており、細胞質膜におけるアスコルビン酸フリーラジカル（AFR）の還元はアスコルビン酸を保存する効率的なメカニズムである。赤血球ゴースト膜はAFR存在下でNADHを酸化することが明らかになっている。本稿では、AFR還元酵素がアスコルビン酸酸化酵素によるアスコルビン酸の酸化を防止すること、およびゴースト膜がAFRの定常状態濃度を蛋白・NADH依存性に低下させることから、ゴースト膜のNADH酸化作用がAFR還元酵素によるものであることを報告する。AFR還元酵素はNADHおよびAFR（ $2\mu\text{M}$ ）の両者に対して見かけ上高い親和性を有する。透過性の高いゴースト膜で測定すると、還元酵素には内膜型活性（両基質部が細胞質膜面にある）と、細胞内NADHを用いて細胞外AFR還元を媒介する膜貫通型活性がある。しかし、膜貫通型活性はゴースト膜で測定される総活性の約12%にすぎない。また、ゴースト膜のAFR還元酵素活性は、界面活性剤Triton X-100に対し感受性かつカテプシンDによる酵素消化に対し不感受性であり、これによりNADH依存性フェリシアン化還元酵素と区別することができる。このNADH依存性AFR還元酵素は細胞質膜内面の重要部位におけるアスコルビン酸の再生機能を果たしている可能性がある。

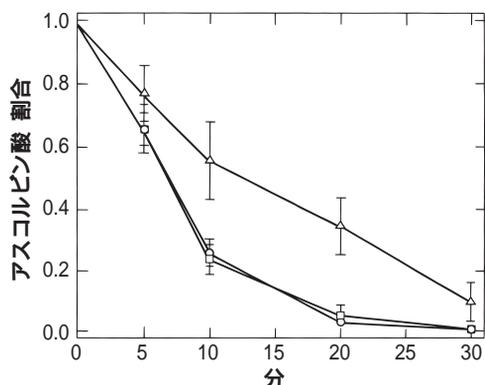


図1 NADH存在下における赤血球ゴースト膜のアスコルビン酸酸化に対する影響

* アスコルビン酸とアスコルビン酸酸化酵素を以下の条件下で培養

- NADH 0.4mM
- ゴースト膜 1.5mg/ml
- △— NADH + ゴースト膜

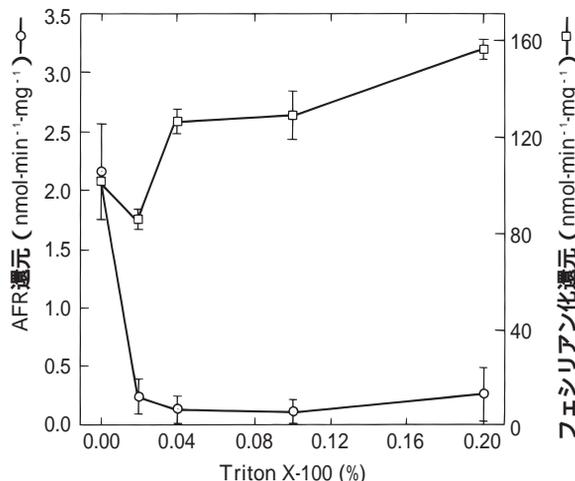


図2 表面を剥離したゴースト膜のNADH-AFRとNADH-フェリシアン化還元酵素活性におけるTritonx-100の影響

ルテインとアテローム性動脈硬化症の進行

(Dwyer Jhら, Circulation 2001; 103: 2922-2927)

以下の3つの研究 疫学的研究 培養実験 動物実験からルテイン多量摂取は、アテローム性動脈硬化の進行を抑制することが示唆された。

疫学的研究

40～60歳の男女480名を対象に、血漿中ルテイン濃度と頸動脈の内膜-中膜肥厚(IMT)の増加との関連を調査した結果、逆相関関係であることが判明した(図1)。研究期間は18ヶ月。

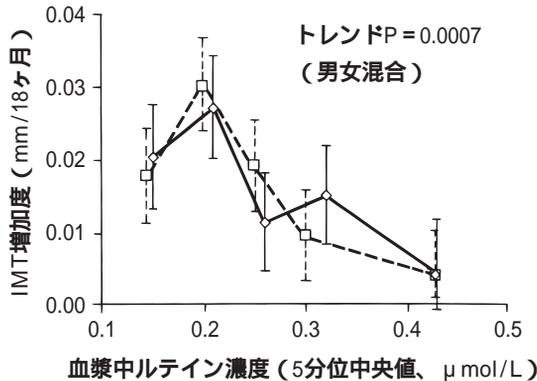


図1 血漿ルテイン濃度とIMT増加度との逆相関関係
男性248名、女性214名

培養実験

ヒト大動脈壁の内皮・平滑筋細胞を用い、培養実験にてLDL酸化におけるルテインの影響について研究を行った。

以下の2つの方法にて化学走性を分析：遊走単球は顕微鏡にて測定

A. 細胞に各濃度のルテインを加え一晩培養後、各細胞に同濃度のLDLをそれぞれ加え8時間培養した。

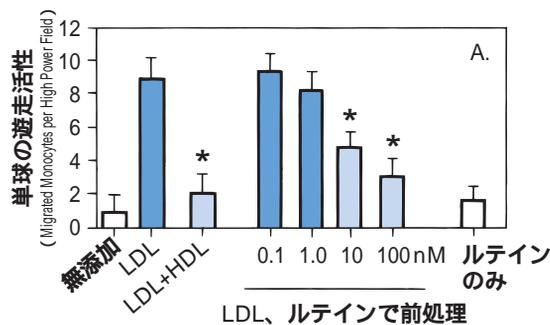


図2 A LDL酸化と単球化学走性におけるルテインの影響
* p < 0.05

B. LDLに各濃度のルテインを加え4時間培養後、細胞を加えさらに8時間培養した。

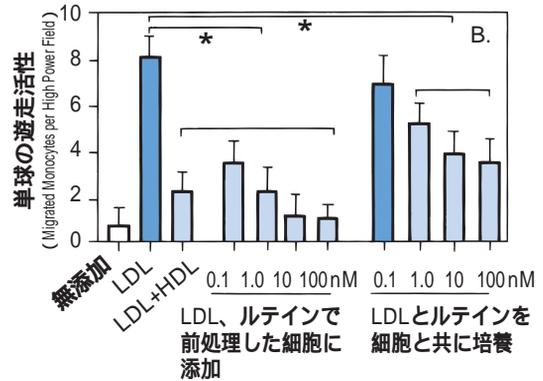


図2 B LDL酸化と単球化学走性におけるルテインの影響
* p < 0.05

結果

ルテイン濃度の増加に伴い、用量依存的に単球の化学走性が減少。特にルテインで前処理をした細胞において、化学走性が劇的に抑制された。単球の遊走を抑制するルテイン濃度100 nmol/Lは、ヒトHDL中のルテイン濃度とほぼ同程度である。

動物実験

アポE欠損マウスとLDL受容体欠損マウスにルテインを補給すると、動脈病変が減少した。

アポE欠損マウス

コントロール食摂取群 (chow diet) 7匹

コントロール食(chow diet) + ルテイン(0.2%)摂取群9匹

8週後に大動脈弓の病変サイズを測定：コントロール群

($9.9 \pm 1.1 \times 10^6 \mu m^2$) と比較するとルテイン摂取群 ($5.5 \pm$

$1.5 \times 10^6 \mu m^2$) は44%減少していた。(図3)

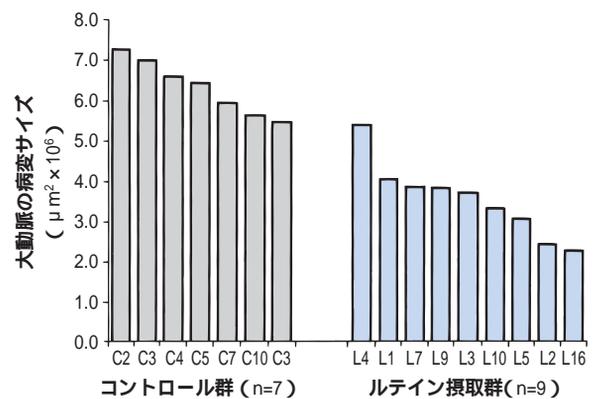


図3 各アポE欠損マウスの大動脈弓における病変のサイズ

LDL受容体欠損マウス

アポE欠損マウスとほぼ同様の実験(コントロール食に

Western dietを使用)を行った結果、コントロール群

($38 \pm 10 \times 10^6 \mu m^2$) と比較して、ルテイン摂取群 ($22 \pm$

$5 \times 10^6 \mu m^2$) で43%の減少がみられた。

ビタミン広報センター(略称 VIC)は、国内外に於ける最新のビタミン研究の成果を科学的に正確に保健、栄養関係者および消費者の皆様様に提供しております。当センターは1981年に設立されました。



12月13日はビタミンの日