

原著

運動時間の異なる一過性の水泳運動が糖質の消化・吸収に関わる酵素ならびに輸送体へ及ぼす影響

近藤 早希、深澤 歩、寺田 新

東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻生命環境科学系

【目的】

長期間の持久的トレーニングにより膵臓のアミラーゼ活性が増加し、糖質の消化能力が向上することが報告されている。本研究では、一過性の持久的運動でも、同様に膵臓アミラーゼ活性が増加するのか、さらには糖質の吸収に関わる糖輸送体の発現量にも適応が生じるのか検討することを目的とした。

【方法】

6週齢のSD系雄ラットに対して1時間の水泳運動（Ex-1h群）もしくは6時間の水泳運動（1時間の休憩をはさみ3時間の水泳を2セット）を行わせた。また、運動を行わないコントロール群（Con群）を設けた。水泳運動終了直後もしくは24時間の回復後に、膵臓および小腸（空腸）を摘出し、アミラーゼ活性と糖輸送体（GLUT 2 およびSGLT 1）の発現量を測定した。

【結果】

膵臓全体の総アミラーゼ活性は、運動直後および24時間回復後いずれの時点においても、Con群とEx-1h群の間に有意な差は認められなかったが、Con群に比べてEx-6h群で有意に低い値を示した。また、小腸におけるGLUT 2 とSGLT 1 の発現量には、3群間で有意な差は認められなかった。

【結論】

一過性水泳運動は、小腸における糖輸送体の発現量には大きな影響を及ぼさないものの、運動時間がより長時間（6時間）におよんだ場合には、膵臓のアミラーゼ活性が減少し、糖質の消化能力が低下する可能性が示唆された。

キーワード：アミラーゼ GLUT 2 SGLT 1 膵臓 小腸

I 緒言

長期間の持久的トレーニングは、骨格筋において糖輸送体glucose transporter 4 (GLUT 4)を増加させ、血糖（グルコース）取り込み能力を向上させることが知られている^{1), 2)}。このことは、筋グリコーゲン合成能力の増大、さらには、持久的パフォーマンスの向上に寄与していると考えられている^{3), 4)}。さらに、長期間の持久的トレーニングに対する糖代謝系機能の適応は、骨格筋のように運動時に直接働く部位だけでなく、栄養素の消化・吸収を担う消化器系においても生じることが明らかとされている。6週間の持久的トレーニングが膵臓の消化能力に及ぼす影響について検討を行った先行研究では、糖質の消化酵素であるアミラーゼの活性が増加することが報告されており^{5)~7)}、糖質を速やかに体内へ補給できることにつな

がっていると考えられている。したがって、長期間の持久的トレーニングは、様々な臓器や組織において糖代謝に関わる機能を向上させ、パフォーマンスに対して好ましい影響を及ぼしていると考えられる。

上述したような骨格筋における糖代謝機能の適応は、持久的トレーニングを長期間行わずとも一過性の運動によっても生じることが知られている⁸⁾。一方、膵臓の適応に関しては、長期間のトレーニングを行った場合での報告しかなく、一過性の運動によっても同様の効果が得られるかどうかはこれまでに検討されていない。また、長期間のトレーニングによって膵アミラーゼ活性が増加することを報告している先行研究では、1日に1時間の持久的トレーニングを行わせている^{5), 6)}。実際のスポーツ現場では、さらに長時間のトレーニングを行うことが一般的であるため、運動時間を延長させた場合にどのような効果が得られるのか検

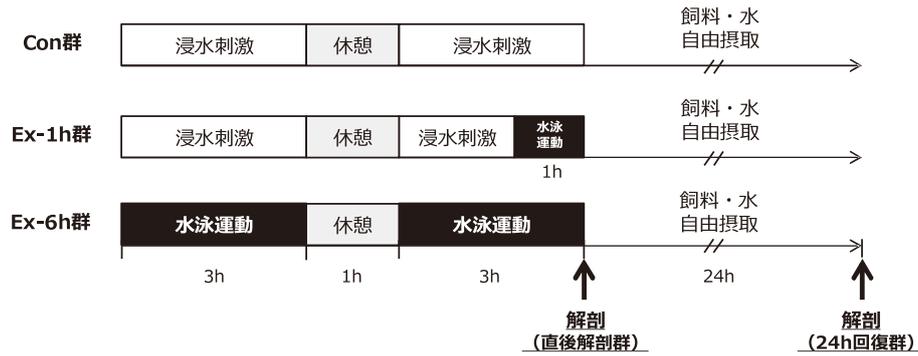


図1 実験プロトコル

Con 群：コントロール群、Ex-1h 群：1 時間運動群、Ex-6h 群：6 時間運動群

討する必要があると考えられる。そこで、本研究では、運動時間の異なる一過性的水泳運動が、糖質の消化能力、主に膵臓のアミラーゼ活性に及ぼす影響について検討することを第一の目的とした。

消化器系では、膵臓の消化機能だけでなく、小腸での吸収機能も重要な役割を果たしている。小腸上皮細胞の管腔側には、グルコースとNa⁺を共輸送するsodium-dependent glucose transporter 1 (SGLT 1) が、小腸上皮細胞の基底膜側には、促進拡散によりグルコースを輸送するglucose transporter 2 (GLUT 2) という糖輸送体が発現している^{9),10)}。小腸において吸収される糖質のうち、約90%はこれらの輸送体を介して行われることから^{11),12)}、その発現量は小腸での糖吸収能力を決める重要な因子であると考えられる。しかしながら、これまでに一過性的の運動が、小腸の糖輸送体の発現量に及ぼす影響について検討した報告はない。そこで、本研究では、一過性的の水泳運動が、小腸の糖輸送体の発現量に及ぼす影響について検討することを第二の目的とした。

II 方法

1. 実験動物および飼育条件

実験動物として、6 週齢のSprague-Dawley (SD) 系雄ラット (140~180 g) 45匹を日本クレア株式会社より購入した。ラットは室温22℃、暗期を午後9時~午前9時に設定した飼育室において、ステンレス製ワイヤーケージで1匹ずつ飼育した。新たな飼育環境に慣れさせるため、実験までに8日間の馴化飼育期間を設けた。馴化飼育期間には、先行研究¹³⁾に基づき作成したげっ歯類用飼料と、飲料として水道水を自由摂取させた。粉末飼料は、1 kgあたりコーンスターチ (オリエンタル酵母工業株式会社) 529.486 g、ミルクカゼイン (オリエンタル酵母工業株式会社) 200 g、スクロース (株式会社パールエース) 100 g、キャノーラ油 (昭和産業株式会社) 70 g、セルロース (オリエ

ンタル酵母工業株式会社) 50 g、AIN-93Gミネラル混合 (オリエンタル酵母工業株式会社) 35 g、AIN-93ビタミン混合 (オリエンタル酵母工業株式会社) 10 g、L-シスチン (富士フィルム和光純薬工業株式会社) 3 g、コリン酒石酸水素塩 (富士フィルム和光純薬工業株式会社) 2.5 gおよびt-ブチルヒドロキノン (富士フィルム和光純薬工業株式会社) 0.014 gを混合して作成した。なお、本研究における動物実験は、東京大学大学院総合文化研究科・教養学部実験動物委員会の承認を得て行われた (承認番号30-4)。

2. 実験プロトコル

本実験にて1時間もしくは6時間の水泳運動を実施できるように、実験日の4日前より3日間、すべてのラットに対して無負荷での水泳運動を1日10分間行わせた。水泳運動は、水温35 ± 1℃の温水を深さ45 cmまで入れたポリバケツを用いて7~8匹ずつ同時に行わせた¹⁴⁾。ラット1匹あたりの水表面積は200~230 cm²であった。なお、この3日間の予備水泳運動の影響が実験当日まで残らないように、実験前日は水泳運動を行わせなかった。

本実験のプロトコルを図1に示した。実験当日にラットを1) 運動を行わない群 (Con群:n = 15)、2) 1時間の水泳運動を行わせる群 (Ex-1h群:n = 15)、および3) 6時間の水泳運動を行わせる群 (Ex-6h群:n = 15) の3群に、体重が同等になるように分けた。Ex-1h群では1時間、Ex-6h群では3時間の水泳運動を1時間の休憩をはさみ2セット、計6時間行わせた。水泳運動に伴う浸水ストレスの影響を考慮し、Ex-6h群の運動実施時間に合わせて、Con群では6時間、Ex-1h群では5時間、水温35 ± 1℃の水を深さ5 cmまで入れたポリバケツにて、7~8匹ずつ剣状突起部分まで浸水させた状態を保った。これら3群のラットに対しては、実験開始時から粉末飼料を取り除き、Ex-6h群の水泳運動が終了するまでの7時間は絶食とした。

運動終了後、各群をさらに1) 運動終了直後に解剖する群(直後解剖群:n = 8)、2) 24時間の回復後に解剖する群(24h回復群:n = 7)の2群に分けた。24時間回復群では、運動終了後もしくは浸水刺激終了後に速やかにケージに戻し、飼料と水を自由摂取させた。本研究では、一過性運動が消化・吸収系能力に及ぼす影響について検討を行うだけでなく、運動終了から24時間の回復を行わせ、消化・吸収能力がどの程度回復するかについても併せて検討することとした。

3. サンプルの採取および保存

運動もしくは浸水刺激終了直後および24時間の回復期間後に解剖を行った。解剖はイソフルランによる完全麻酔下で行った。尾部圧迫による反射が見られないことを確認した後に開腹し、心臓から採血を行った。採取した血液を室温で静置した後、8,000 rpmで10分間遠心分離することで血清を得た。続けて膵臓を摘出し、電子天秤で重量を測定した後、液体窒素で凍結した。その後、速やかに小腸を摘出し、空腸部分(胃の噴門部から盲腸までの腸管を切除し、その腸管を3等分した中間部分)の粘膜をスパチュラでかき取り、あらかじめ1.5 mLのマイクロチューブに分注しておいたRadio-Immuno Precipitation Assay (RIPA) lysis buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.4, 150 mM NaCl, 0.25% deoxycholic acid, 1% NP-40, 1 mM Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), Merck Millipore社)中へ保存した。なお、RIPA bufferには、Protease inhibitor (SIGMA-Aldrich社)を100 μ L/mLの割合で添加した。血液および膵臓、小腸のサンプルは分析まで-80°Cの超低温フリーザーにて保存した。

4. 分析方法

1) 血清intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) 濃度の測定

血清I-FABP濃度は、Rat intestinal fatty acid binding protein (iFABP) ELISA Kit (MBS265971, MyBioSource社)を用いて測定した。

2) 膵臓タンパク質濃度の測定

一部の膵臓サンプルを、氷上で十分に冷却したRIPA lysis bufferを用いて、ガラス製のホモジナイザーにてホモジナイズした。得られた膵臓ホモジネートを用い、BCA protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific社)にてタンパク質濃度(μ g/mg)を測定した。

3) 膵臓アミラーゼ活性の測定

膵臓のアミラーゼ活性は、Amylase Assay Kit (abcam社)を用いて測定した。一部の膵臓サンプルを、氷上で十分に冷却したAssay bufferとともに、ガラス

製のホモジナイザーにてホモジナイズした。得られた膵臓ホモジネートを12,000 rpmで5分間遠心し、上清を得た。回収した上清サンプルを用い、キット付属のマニュアルに従ってアミラーゼ活性の測定を行った。

4) 小腸のGLUT 2およびSGLT 1発現量の測定

ウェスタンブロットリング法を用いて、小腸のGLUT 2およびSGLT 1発現量を測定した。まず、解剖時にRIPA lysis bufferに保存した小腸粘膜をハンディーホモジナイザー(ペレットペッスル電動モーター、アズワン株式会社)にてホモジナイズした。小腸ホモジネートは、マイクロチューブローテーターで回転させながら4°Cで1時間インキュベートすることでタンパク質を可溶化した。その後、700 \times gで5分間遠心し、上清を得た。回収した上清サンプルは、BCA protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific社)を用いてタンパク質濃度(μ g/ μ L)を測定した。タンパク質濃度が2.5 μ g/ μ LとなるようにRIPA lysis bufferとSample buffer (0.25 M Tris-HCl, 0.02% (w/v) Bromophenol Blue (BPB)、8% (w/v) Sodium dodecyl sulfate (SDS)、40% (w/v) Glycerol, 20% (v/v) 2-Mercaptoethanol, pH 6.8, 富士フイルム和光純薬工業株式会社)を混合し、95°Cで5分間加熱処理を行い、電気泳動サンプルとした。

タンパク質の分離は、Laemmli¹⁵⁾の方法に基づき、ポリアクリルアミド濃度が7.5%もしくは10%のResolving gelおよび4%のStacking gelを用いたSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により分離した。1レーン当たり50 μ gのタンパク質サンプルをアプライし、サンプルがゲルの下端に達するまで100 Vで通電した。

電気泳動終了後、速やかにゲルを取り外し、ウェット式ブロットリング装置(Mini Trans-Blot Cell, BioRad社)を用いて、200 mA/Tankで90分間通電し、Polyvinylidene difluoride (PVDF) メンブレン(EMD Millipore社)にタンパク質を転写した。転写したメンブレンは5% (w/v) スキムミルク/Tris buffer saline, 0.1% Tween20 (TBS-T)を用い、室温で1時間ブロッッキング処理を行った。その後、5% Bovine serum albumin (BSA) /TBS-T溶液で各抗体を以下の倍率で希釈し[1,000倍希釈:anti-GLUT 2 (#07-1402, Merck Millipore社)、anti-SGLT 1 (#07-1417, Merck Millipore社)、3,000倍希釈:anti- β -actin (#8457, Cell Signaling Technology社)]、4°Cで一晩シェーカー上にて振盪しながら一次抗体反応を行った。翌日、メンブレンをTBS-Tで洗浄し、1% (w/v) スキムミルク/TBS-Tを用いて二次抗体反応(Horseradish Peroxidase Conjugated Anti-rabbit IgG, Jackson ImmunoResearch社, 5,000倍希釈)を室温で1時間行った。TBS-TおよびTBSで十分に洗浄した後、化学発光検

表1 直後解剖群および24h回復群における膵臓重量、膵臓タンパク質濃度および膵臓総タンパク質量

	直後解剖群			24h回復群		
	Con	Ex-1h	Ex-6h	Con	Ex-1h	Ex-6h
膵臓重量 (g)	0.86 ± 0.06	0.88 ± 0.03	0.81 ± 0.03	0.94 ± 0.04*	0.98 ± 0.02**	0.84 ± 0.03
膵臓タンパク質濃度 (μg/mg)	113.7 ± 3.9*	114.4 ± 2.6*	103.9 ± 2.3	110.0 ± 3.3	110.2 ± 1.1	113.5 ± 1.6
膵臓全体の総タンパク質量 (mg)	97.6 ± 7.6	100.8 ± 5.3	84.0 ± 4.5	102.9 ± 5.3	108.0 ± 2.8*	95.1 ± 3.0

Con: コントロール群、Ex-1h: 1時間運動群、Ex-6h: 6時間運動群

数値は全て平均±標準誤差で表した。n = 7~8

* p < 0.05, ** p < 0.01 vs. Ex-6h

出試薬 (ECL (Enhanced chemiluminescence) Prime Western Blotting Detection Reagent, GE Healthcare Life Sciences社) で1分間反応させた。反応終了後、抗原検出装置 (C-DiGit Blot Scanner, LI-COR Biosciences社) を用いて、抗原の検出を行った。検出されたバンドは定量解析ソフトウェア (Image Studio Digits Ver. 5.2, LI-COR Biosciences社) を用いて定量し、その値を直後解剖群および24h回復群それぞれのCon群の平均値に対する相対値で示した。

5. 統計処理

本研究のデータはすべて平均値±標準誤差で示した。直後解剖群および24h回復群それぞれにおける3群間の比較には、一元配置分散分析を用いた。一元配置分散分析の結果、主効果が認められた場合は多重比較検定にFischerの最小有意差法を用いた。本検定はExcel統計2015 (株式会社社会情報サービス社) を用いて行い、危険率5%未満をもって有意とした。

Ⅲ 結果

1. 膵臓重量、膵臓タンパク質濃度および膵臓総タンパク質量

表1に、直後解剖群と24h回復群それぞれにおける、膵臓重量 (g)、膵臓タンパク質濃度 (μg/mg) および膵臓タンパク質量 (mg) と膵臓重量から求めた膵臓全体の総タンパク質量 (mg) を示した。直後解剖群における膵臓重量は、3群間に有意な差は認められなかった。一方、24h回復群では、Ex-6h群において、他の2群に比べて有意に低い値を示した (vs. Con群: p = 0.046, vs. Ex-1h群: p = 0.006)。

直後解剖群における膵臓タンパク質濃度 (μg/mg) は、Ex-6h群において、他の2群に比べて有意に低い値を示した (vs. Con群: p = 0.041, vs. Ex-1h群: p = 0.030)。一方、24h回復群では3群間に有意な差は認められなかった。

また、膵臓全体における総タンパク質量 (mg) は、直後解剖群では、3群間に有意な差は認められなかったものの、Ex-1h群に比べてEx-6h群において低値を示す傾向が認められた (p = 0.076)。また、24h回

復群では、Ex-1h群に比べてEx-6h群で有意に低い値を示した (p = 0.041)。Con群とEx-1h群およびCon群とEx-6h群の間に有意な差は認められなかった。

2. 膵臓アミラーゼ活性

図2に、直後解剖群 (A) と24h回復群 (B) それぞれにおける、単位重量当たりの膵臓アミラーゼ活性 (mU/mg) の値を示した。直後解剖群では、Con群とEx-1h群の間に有意な差は認められなかった (p = 0.315)。一方、Ex-6h群は、他の2群に比べて有意に低い値を示した (vs. Con群: p = 0.008, vs. Ex-1h群: p < 0.001)。24h回復群では、3群間に有意な差は認められなかったものの、Con群に比べてEx-6h群において低値を示す傾向が認められた (p = 0.070)。

また、図2-C、2-Dに、単位重量当たりの膵臓アミラーゼ活性 (mU/mg) と膵臓重量から求めた、膵臓全体における総アミラーゼ活性の値 (U) を示した。図2-Aに示した単位重量当たりの膵臓アミラーゼ活性 (mU/mg) の結果と同様に、直後解剖群では、Con群とEx-1h群の間に有意な差は認められなかったものの (p = 0.272, 図2-C)、Ex-6h群では、他の2群に比べて有意に低い値を示した (vs. Con群: p = 0.017, vs. Ex-1h群: p = 0.001)。24h回復群では、Ex-6h群でCon群に比べて有意に低い値を示し (p = 0.024)、さらに、Ex-1h群に比べても低値を示す傾向が認められた (p = 0.065) (図2-D)。

3. 小腸のGLUT 2 およびSGLT 1 発現量

図3および図4に、GLUT 2 とSGLT 1 の発現量を示した。直後解剖群 (図3-A、4-A) と24h回復群 (図3-B、4-B) いずれにおいても、3群間に有意な差は認められなかった。

4. 血清I-FABP濃度

I-FABPは小腸粘膜上皮細胞が虚血などにより損傷を受けると、速やかに血中へ移行し、その濃度が上昇することが知られていることから、運動に伴う内臓の虚血状態さらには小腸のダメージを反映する指標として多くの先行研究で用いられている^{16)~18)}。そこで、

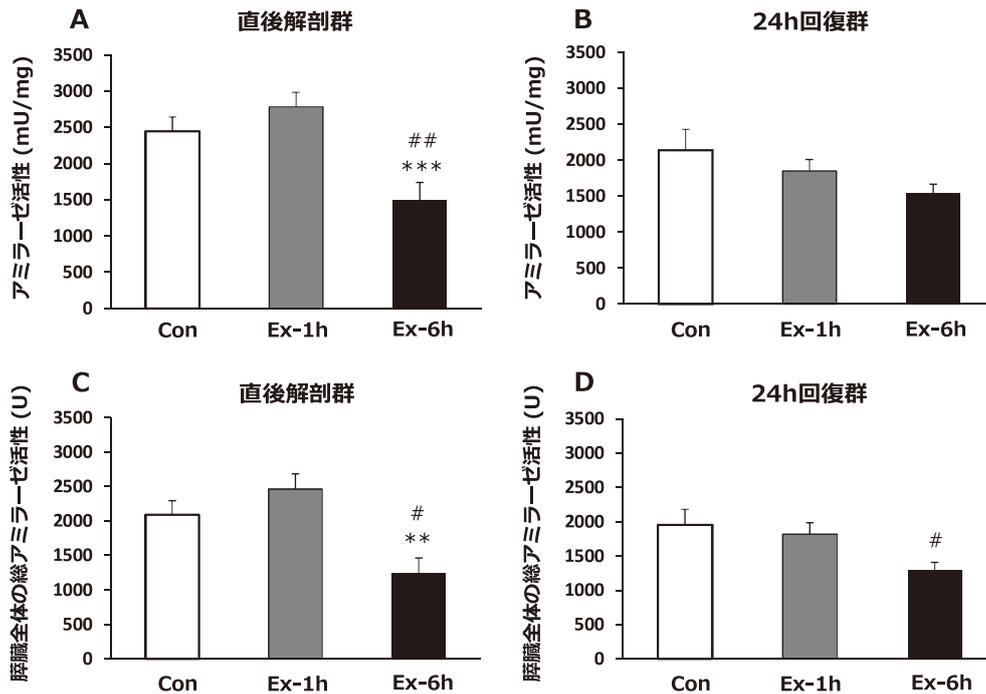


図2 直後解剖群および24h回復群におけるアミラーゼ活性および膵臓全体の総アミラーゼ活性

Con: コントロール群、Ex-1h: 1時間運動群、Ex-6h: 6時間運動群

数値は全て平均±標準誤差で表した。n = 7~8

p < 0.05, ## p < 0.01 vs. Con

** p < 0.01, *** p < 0.001 vs. Ex-1h

本研究においても血清I-FABP濃度の測定を行った。その結果、直後解剖群、24h回復群いずれにおいても、大部分のサンプルが検出限界以下 (20 pg/ml) であった。

5. 回復時の摂餌量および体重減少量

表2に、24h回復群における、運動終了後1時間および回復24時間の摂餌量、運動開始直前の体重、回復24時間後の体重および運動開始直前から回復24時間の間に生じた体重減少量を示した。運動終了後1時間の摂餌量は、Ex-6h群で、Con群に比べて有意に高い値を示し (p = 0.044)、Ex-1h群に比べても高値を示す傾向が認められた (p = 0.060)。一方で、回復24時間の摂餌量は、Ex-6h群において、他の2群に比べて有意に低い値を示した (vs. Con群: p = 0.017, vs. Ex-1h群: p = 0.012)。Con群とEx-1h群の間に摂餌量の有意な差は認められなかった。

また、運動開始直前の体重は、3群間に有意な差は認められなかったが、回復24時間後の体重は、Ex-6h群において、他の2群に比べて有意に低い値を示した (vs. Con群: p = 0.012, vs. Ex-1h群: p = 0.006)。運動開始直前から回復24時間後の解剖直前の間に生じ

た体重減少量についても同様に、他の2群に比べてEx-6h群で有意に大きい値を示した (p < 0.001)。Con群とEx-1h群の間に、体重および体重減少量の有意な差は認められなかった。

IV 考察

本研究では、1時間および6時間の一過性水泳運動をラットに行わせた場合、運動時間の違いが糖質の消化・吸収関連酵素ならびに糖輸送体にどのような影響を及ぼすか、運動直後と24時間の回復後において検討を行った。その結果、1) 一過性の水泳運動を1時間実施しただけでは膵臓のアミラーゼ活性に影響を及ぼさないものの、6時間行うことにより、運動直後および回復24時間後において膵臓全体の総アミラーゼ活性が低下すること、2) 一過性の水泳運動は、小腸の糖輸送体の発現量に大きな影響を及ぼさない、という2点が明らかとなった。

持続的トレーニングが膵臓における糖質の消化能力に及ぼす影響について検討を行った先行研究では、1日1時間の走行運動⁵⁾もしくは水泳運動⁶⁾を6週間行わせた場合、膵臓アミラーゼ活性が有意に増加するこ

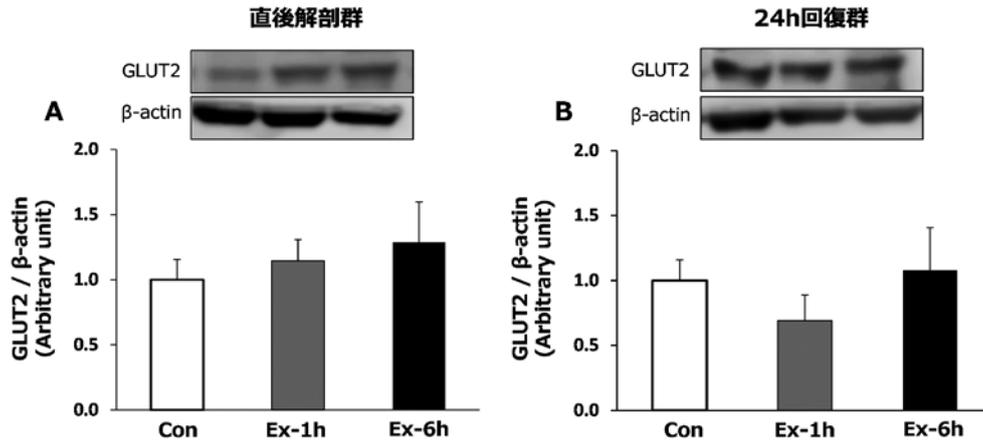


図3 直後解剖群および24h回復群におけるGLUT 2 発現量

Con : コントロール群、Ex-1h : 1 時間運動群、Ex-6h : 6 時間運動群
 数値は全て平均 ± 標準誤差で表した。n = 7 ~ 8

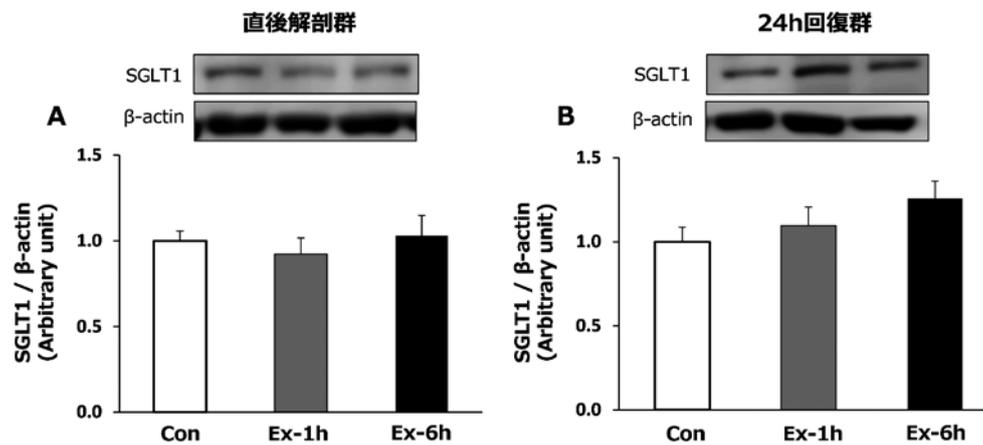


図4 直後解剖群および24h回復群におけるSGLT 1 発現量

Con : コントロール群、Ex-1h : 1 時間運動群、Ex-6h : 6 時間運動群
 数値は全て平均 ± 標準誤差で表した。n = 7 ~ 8

とが報告されている。一方、本研究では、1 時間の一過性水泳運動を行わせたEx-1 h群と運動を実施しなかったCon群の間に膵臓アミラーゼ活性の有意な差は認められなかった (図2)。この結果は、長期間の持続的トレーニングによって認められた膵臓の糖質消化能力の亢進といった適応は、1 時間程度の一過性運動では引き起こされないことを示唆している。先述したように、骨格筋においては、長期間のトレーニングを行わずとも1 時間の一過性運動によって、GLUT 4 の増加や血糖取り込み能力の向上といった適応が生じることで、糖代謝機能が亢進し、パフォーマンスに対して好ましい影響を及ぼすことが知られている⁸⁾。一方、膵臓においては、一過性運動による適応は認められなかったことから、膵臓が骨格筋ほど可塑性に富む組織ではないことが示唆される。したがって、運動に

よって膵臓における糖質の消化能力を高めるような適応を生じさせるためには、トレーニングを長期間に渡って行う必要があると考えられる。

一方で、6 時間の一過性運動を行わせたEx-6 h群では、Con群やEx-1 h群に比べて、運動直後および24 時間の回復後において、膵臓全体の総アミラーゼ活性が有意に低い値を示していた (図2-C, D)。この結果は、6 時間という長時間の運動を行うことにより、膵臓における糖質の消化能力がむしろ低下してしまう可能性を示唆している。また、膵臓のタンパク質濃度や総タンパク質量、さらには膵臓重量も、Con群やEx-1 h群に比べてEx-6 h群では有意に低い値、もしくは低値を示す傾向にあった (表1)。膵臓タンパク質量は膵臓内の消化酵素の貯蔵量を反映することが知られている¹⁹⁾。したがって、本研究では膵臓の総アミ

表2 24h回復群における回復時の摂餌量および体重、体重減少量

	24h 回復群		
	Con	Ex-1h	Ex-6h
運動終了後1時間の摂餌量 (g)	1.1 ± 0.3*	1.2 ± 0.3	2.3 ± 0.5
回復24時間の摂餌量 (g)	19.9 ± 0.4*	20.1 ± 0.6*	17.2 ± 0.9
運動開始直前の体重 (g)	287.2 ± 2.8	287.8 ± 2.1	287.5 ± 4.5
回復24時間後の体重 (g)	279.1 ± 2.7*	280.1 ± 2.0**	267.7 ± 3.2
体重減少量 (g)	8.2 ± 0.5***	7.7 ± 1.3***	19.8 ± 2.6

Con: コントロール群、Ex-1h: 1時間運動群、Ex-6h: 6時間運動群

数値は全て平均±標準誤差で表した。n = 7~8

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 vs. Ex-6h

ラーゼ活性、すなわち膵臓におけるアミラーゼの貯蔵量の測定しか行っていないものの、6時間という長時間の一過性運動を行うことで、その他の消化酵素の貯蔵量も同様に減少し、膵臓の消化能力全般が低下していた可能性が考えられる。

以上のような結果が得られた原因の一つとして、膵消化酵素の合成、貯蔵、分泌の一連の機能を調節している迷走神経活動の減弱が挙げられる。運動時には交感神経活動が増大し、迷走神経活動が抑制されることが知られている。さらに、先行研究において、長期間の持続的トレーニングによる消化酵素活性の増加が、迷走神経を切除したラットでは認められなかったことが報告されている⁶⁾。この結果は、運動に伴う迷走神経活動の抑制は、消化酵素活性の低下を引き起こす可能性があることを示唆している。本研究では、迷走神経活動の測定は行っていないものの、Ex-6h群では、6時間という長時間に渡って迷走神経活動が抑制され続けたことで、膵臓のアミラーゼ活性が低下したという可能性が高いと考えられる。

小腸において吸収される糖質のうち、約90%は糖輸送体であるGLUT2およびSGLT1を介して行われる^{11),12)}ことから、本研究では小腸における吸収能力の指標として、これらの糖輸送体の発現量を測定した。その結果、図3、4に示したように、運動直後、24h回復後いずれの時点においても、3群間に有意な差は認められなかった。このことは、一過性運動は小腸の糖輸送体の発現量、さらには糖の吸収能力に大きな影響を及ぼさないことを示唆している。一方、先行研究では、イヌを対象として一過性の運動を行わせた場合、安静状態を保持した場合と比べて、運動後には小腸における糖の吸収が促進されることが示されている²⁰⁾。小腸上皮細胞の糖質濃度が低い場合には、主に管腔側に発現するSGLT1が糖質の輸送を行うが、糖質濃度が上昇した場合には、通常、基底膜側に存在しているGLUT2が管腔側へ移動（トランスロケーション）し、糖質の吸収を増強することが先行研究により報告されている^{21),22)}。本研究では、管腔側もしくは基底膜側とで区別することなく、小腸（空腸）全体に含

まれるGLUT2の総発現量を測定した。そのため、糖輸送体の発現量には差が認められなかったものの、本研究でもGLUT2が基底膜側から管腔側へとトランスロケーションし、糖質の吸収を促進していた可能性も考えられる。今後の研究では、糖輸送体の発現量だけでなく、輸送体の細胞内の局在や小腸における吸収機能を直接測定する必要があると考えられる。

激しい運動を行った場合には、心臓や肺、骨格筋に血液が優先的に分配され、消化管への血流量は少なくとも20%程度低下することが報告されている²³⁾。その結果、消化管が虚血状態になることで、栄養素の消化・吸収機能にも影響を及ぼす可能性が示唆されている²⁴⁾。本研究においても、1時間および6時間の一過性水泳運動後の小腸における虚血性のダメージを評価するために、その指標として多くの先行研究^{16)~18)}で用いられているI-FABP濃度を測定した。その結果、直後解剖群、24h回復群いずれにおいても、大部分のサンプルが検出限界以下（20 pg/ml）であった。この結果は、本研究で用いた1時間および6時間の一過性水泳運動は、小腸において損傷を引き起こす可能性が低いことを示唆している。先行研究においても、一過性運動を行うことでI-FABP濃度が増加すること¹⁶⁾が報告されている一方で、本研究のように検出限界以下となる²⁵⁾ものも存在している。また、先述したように、小腸における糖輸送体の発現量にも一過性運動による影響が認められなかったことから（図3、4）、本研究で用いた一過性の水泳運動では、小腸に及ぼす影響は大きくなかったものと考えられる。

Ex-6h群では、Con群やEx-1h群に比べて、回復24時間の摂餌量が有意に低い値を示し、それに伴い、運動開始直前から解剖直前の間に生じた体重減少量も有意に大きな値であった（表2）。先述したように、Ex-6h群では、他の2群に比べて膵臓全体のアミラーゼ活性が有意に低く、さらに膵臓のタンパク質濃度や総タンパク質量、さらには膵臓重量も、有意に低い値、もしくは低値を示す傾向にあったことから、6時間という長時間の一過性運動を行うことで、膵臓の消化能力全般が低下していたと考えられる。したがって、6

時間の運動を行ったEx-6h群では、回復の初期段階（1時間）では、長時間運動中に多量に消費したエネルギーを補うべく他の2群に比べて摂餌量が増加したものの、膵臓の消化能力が低下していたため、それら进行处理しきれず、24時間の回復中の摂餌量さらには体重が大きく減少したのかもしれない。また、これらの結果は、長時間の運動を行った場合には、24時間の回復を行ったとしても、消化能力は低下したままで、回復しにくいことも示唆している。今後の研究においては、長時間運動後における膵臓の消化酵素活性の動態をより長期的に観察し、消化機能を回復させるためにはどれくらいの回復時間が必要か検討する必要があるだろう。また、本研究ではトレーニングを行っていないラットを対象として、一過性の長時間水泳運動の影響を検討した。したがって、トレーニングを行った状態でも6時間という長時間の一過性運動を行うことで消化機能、さらには摂餌量の低下が生じるかどうか不明である。今後の研究では、アスリートのように十分なトレーニングを行わせた状態において、一過性の長時間運動が消化機能および摂餌量に及ぼす影響についても検討する必要があると思われる。

V 結論

一過性水泳運動は、小腸における糖輸送体の発現量には大きな影響を及ぼさないものの、運動時間がより長時間（6時間）におよんだ場合には、膵臓のアミラーゼ活性が減少し、糖質の消化能力が低下する可能性が示唆された。

利益相反

本研究内容に関して利益相反は存在しない。

文献

- 1) Rodnick, K.J., Henriksen, E.J., James, D.E., et al.: Exercise training, glucose transporters, and glucose transport in rat skeletal muscles, *Am. J. Physiol.*, 262, C9-14 (1992)
- 2) Slentz, C.A., Gulve, E.A., Rodnick, K.J., et al.: Glucose transporters and maximal transport are increased in endurance-trained rat soleus, *J. Appl. Physiol.*, 73(2), 486-492 (1992)
- 3) Nakatani, A., Han, D.H., Hansen, P.A., et al.: Effect of endurance exercise training on muscle glycogen supercompensation in rats, *J. Appl. Physiol.*, 82(2), 711-715 (1997)
- 4) Greiwe, J.S., Hickner, R.C., Hansen, P.A., et al.: Effects of endurance exercise training on muscle glycogen accumulation in humans, *J. Appl. Physiol.*, 87(1), 222-226 (1999)
- 5) Minato, K.: Effect of endurance training on pancreatic enzyme activity in rats, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, 76(6), 491-494 (1997)
- 6) Zsinka, A.J., Frenkl, R.: Exocrine function of the pancreas in regularly swimming rats, *Acta Physiologica Hungarica*, 62(2), 123-129 (1983)
- 7) Minato, K., Shiroya, Y., Nakae, Y., et al.: The effect of chronic exercise on the rat pancreas, *Int. J. Pancreatol.*, 27(2), 151-156 (2000)
- 8) Greiwe, J.S., Holloszy, J.O., Semenkovich, C.F.: Exercise induces lipoprotein lipase and GLUT-4 protein in muscle independent of adrenergic-receptor signaling, *J. Appl. Physiol.*, 89(1), 176-181 (2000)
- 9) Shirazi-Beechey, S.P.: Molecular biology of intestinal glucose transport, *Nutr. Res. Rev.*, 8(1), 27-41 (1995)
- 10) George, L.K.: The facilitated component of intestinal glucose absorption, *J. Physiol.*, 531 (Pt 3), 585-595 (2001)
- 11) Pencek, R.R., Koyama, Y., Lacy, D.B., et al.: Transporter-mediated absorption is the primary route of entry and is required for passive absorption of intestinal glucose into the blood of conscious dogs, *J. Nutr.*, 132(7), 1929-1934 (2002)
- 12) Uhing, M.R., Kimura, R.E.: Active transport of 3-O-methyl-glucose by the small intestine in chronically catheterized rats, *J. Clin. Invest.*, 95(6), 2799-2805 (1995)
- 13) Tousen, Y., Matsumoto, Y., Matsumoto, C., et al.: The combined effects of soya isoflavones and resistant starch on equol production and trabecular bone loss in ovariectomised mice, *Br. J. Nutr.*, 116(2), 247-257 (2016)
- 14) Terada, S., Goto, M., Kato, M., et al.: Effects of low-intensity prolonged exercise on PGC-1 mRNA expression in rat epitrochlearis muscle, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 296(2), 350-354 (2002)
- 15) Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227 (5259), 680-685 (1970)
- 16) Van, Wijck, K., Lenaerts, K., van, Loon, L.J., et al.: Exercise-induced splanchnic hypoperfusion results in gut dysfunction in healthy men, *PLoS One*, 6(7), e22366 (2011)
- 17) Van, Wijck, K., Pennings, B., van, Bijnen, A.A., et al.: Dietary protein digestion and absorption are impaired during acute postexercise recovery in young men, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 304(5), R356-361 (2013)
- 18) Costa, R.J.S., Miall, A., Khoo, A., et al.: Gut-training: the impact of two weeks repetitive gut-challenge during exercise on gastrointestinal status, glucose

- availability, fuel kinetics, and running performance, *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 42(5), 547-557 (2017)
- 19) 湊久美子, 代谷陽子: 持久的トレーニングがラット膵腺房細胞に及ぼす影響, 和洋女子大学紀要家政系編, 38, 99-106 (1998)
- 20) Hamilton, K.S., Gibbons, F.K., Bracy, D.P., et al.: Effect of prior exercise on the partitioning of an intestinal glucose load between splanchnic bed and skeletal muscle, *J. Clin. Invest.*, 98(1), 125-135 (1996)
- 21) Gouyon, F., Caillaud, L., Carriere, V., et al.: Simple-sugar meals target GLUT2 at enterocyte apical membranes to improve sugar absorption: a study in GLUT2-null mice, *J. Physiol.*, 552 (Pt 3), 823-832 (2003)
- 22) Leturque, A., Brot-Laroche, E., Le, Gall, M.: GLUT2 mutations, translocation, and receptor function in diet sugar managing, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 296(5), E985-992 (2009)
- 23) Qamar, M.I., Read, A.E.: Effects of exercise on mesenteric blood flow in man, *Gut*, 28(5), 583-587 (1987)
- 24) Van, Wijck, K., Lenaerts, K., Grootjans, J., et al.: Physiology and pathophysiology of splanchnic hypoperfusion and intestinal injury during exercise: strategies for evaluation and prevention, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 303(2), G155-168 (2012)
- 25) Kanda, K., Sugama, K., Sakuma, J., et al.: Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage, *Exerc. Immunol. Rev.*, 20, 39-54 (2014)

(受付日: 2018年10月9日)
(採択日: 2018年11月13日)

Original Article

Effects of acute swimming on pancreatic enzyme activity and intestinal glucose transporters content in rats

Saki KONDO, Ayumi FUKAZAWA, Shin TERADA

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo

ABSTRACT

【Aim】

Long-term endurance exercise training reportedly increases pancreatic amylase activity in rats, suggesting that chronic exercise training enhances the carbohydrate digestive capacity. To clarify whether an acute bout of endurance exercise can also induce pancreatic adaptation and affect the glucose transport capacity in the small intestine, we evaluated the effects of acute swimming for different durations on pancreatic amylase activity and the intestinal glucose transporter contents in rats.

【Methods】

Male Sprague-Dawley rats were subjected to acute bouts of swimming for 1 h (Ex-1h group) or 6 h (Ex-6h group, two 3-h bouts separated by 1h of rest). Sedentary rats were used as a control (Con group). The pancreas and small intestine (jejunum) were removed immediately or 24 h after the exercise, and the amylase activity and glucose transporters (GLUT2 and SGLT1) contents were measured.

【Results】

While no significant difference in the total pancreatic amylase activity was observed between the Con and Ex-1h groups, the Ex-6h group had a significantly lower total amylase activity, compared with the Con group, both immediately and 24 h after the exercise. No significant differences in the GLUT2 and SGLT1 protein contents were observed among the three groups.

【Conclusion】

These results suggest that an acute bout of prolonged exercise for a long period (~6 h) may decrease the carbohydrate digestive capacity in the rat pancreas through a reduction in amylase activity, although the prolonged exercise had little effect on the intestinal glucose transporters contents.

Keywords: amylase, GLUT2, SGLT1, pancreas, small intestine