発育期の激しいスポーツ活動がカルニチン代謝に与える影響

(研究課題番号 09670804)

平成9年～11年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2))研究成果報告書

平成12年3月

研究代表者　井上文夫
（京都教育大学教育学部教授）

コ
47
7

はしがき

本研究報告書は、平成9,10,11年度の3年間にわたって行った文部省科学研究費基盤研究C(2)「発育期の激しいスポーツ活動がカルニチン代謝に与える影響」の成果をまとめたものである。なお、本研究を行うにあたり、以下の先生方の多大なご協力をいただいたことをここに記し、深く感謝する次第です。

花の木医療福祉センター	寺田　直人　先生
社会保険京都病院小児科	中島　浩司　先生
大津市民病院小児科	中嶋　敏宏　先生
国立療養所青野原病院小児科	大河内正和　先生
京都府立医科大学小児科	木崎　善郎　先生
同	藤原　　寛　先生
元京都府立医科大学中央研究室	長谷川武史　先生

研究組織

研究代表者　井上文夫　　（京都教育大学体育学科教授）

研究経費

平成9年度	2,400千円
平成10年度	600千円
平成11年度	500千円
計	3,500千円

目次

はしがき・・・

研究の概要

1. 研究の背景

カルニチンは長鎖脂肪酸の酸化に必須のものであり、運動中とくに有酸素運動中の骨格筋や心筋のエネルギー代謝に重要な物質である。カルニチンは体内でも合成されるが、約80%は経口栄養から供給される。学童期から思春期にかけては、栄養必要量が多いにも関わらず、不規則でアンバラスな食事をとるものが多いのが現実である。さらに、最近多用されている抗生物質や抗痙攣剤の中にはカルニチン欠乏をきたすものが知られている。一方、中学、高校、大学などの運動クラブ活動などにおいて、勝つことに重きを置くためのオーバートレーニングが問題となっている。従って、このようなカルニチン欠乏状態におかれている子どもたちが、学校の運動クラブ活動で激しい運動を行う可能性が大いに考えられることになる。

2. 研究目的

発育期に激しいスポーツ活動を行なうことにより脂肪酸代謝およびカルニチン代謝がどのように変化するかを検討し、カルニチン欠乏を来す抗生物質の投与によっても運動時のエネルギー代謝に支障を来さないかを検討する。

3. 研究の特色

スポーツ活動とカルニチン代謝の関係をオーバートレーニングの面からみた研究はこれまで見られない。また、カルニチン欠乏状態をスポーツ活動の安全との関連でとらえることは、学校保健の観点からも重要であり、臨床的にも意味のある研究と考えられる。

4. 本研究の国内外の位置づけ

カルニチンと心機能、運動機能については多くの研究がある。また、運動によるカルニチン代謝の変化についても同様である。しかし、カルニチン前駆体や個々のアシルカルニチンまで含めて検討したものは殆どない。一方、抗生物質との結合で吸収率を高めることで知られるピバリン酸がカルニチン欠乏を来すことについても多く研究されている。しかし、ヒトでの検討は少なく、その場合でもスポーツ活動との関連について検討されたものは殆どない。

5. 研究成果

1)カルニチン、アシルカルニチン、カルニチン前駆体であるブチロベタイン、トリ

メチルリジンのタンデムマススペクトロメトリーによる分析方法を開発し、微量の血清、尿で比較的簡便なサンプル処理により分析が可能となった。
2)スポーツ活動によるカルニチン代謝及び前駆体のブチロベタインの動態を、上記の方法を用いて明らかにした。
3)カルニチン欠乏状態における代謝変動を明らかにするため、全身性カルニチン欠乏症のモデルマウス（JVSマウス）、ピバリン酸投与ラットについて検討した。また、ヒトにおいてピバリン酸を含む抗生物質の投与により、スポーツ活動時のエネルギー代謝、カルニチン代謝がどのように変化するかを検討した。

主な刊行論文

[1997]

1)Nakajima T, Horiuchi M, Yamanaka H, Kizaki Z, Inoue F, Kodo N, Kinugasa A, Saheki T, Sawda T: The effect of carnitine on ketogenesis in perfused livers from Juvenile visceral steatosis mice with systemic carnitine deficiency. Pediatr Res, 42: 108-113, 1997

2)井上文夫、藤原寛、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳：肥満外来を受診した幼児肥満例につての検討、肥満研究　3: 39-41, 1997

3)井上文夫、寺田直人、大河内正和、幸道直樹、衣笠昭彦、澤田淳、長谷川武史：エレクトロスプレーマススペクトロメトリーによる濾紙血の分析、　京都教育大学紀要　91: 15-22, 1997

4)井上文夫、落合利佳、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳、宮野前由利：中枢性思春期早発症を合併したPrader-Willi症候群の1例、　小児科診療　60: 1681-1684, 1997

5)高梨万美、木崎善郎、小坂喜太郎、井上文夫、幸道直樹、衣笠昭彦、澤田淳：血中ガラクトースと総胆汁酸の高値で発見された門脈閉塞症の1例にみられた代謝変動.　日本小児栄養消化器病学会雑誌、11: 60-65, 1997

[1998]

1)井上文夫、藤原寛、忠井俊明、縄本ひとみ：本学健康診断での体脂肪測定の有用性の検討、　京都教育大学紀要　93：1-12,　1998

2)井上文夫、村上順子、藤原寛、小坂喜太郎、木崎善郎、衣笠昭彦：インスリン依存性糖尿病小児のエゴグラムについての検討、小児科診療　61：274-277,　1998

3)井上文夫、寺田直人、中島浩司、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳：スポーツ活動がカルニチン代謝に及ぼす影響、日本医用マススペクトル学会講演集　23：169-172,　1998

4)村田美由紀、田中朋子、石原由理、寺田直人、木崎善郎、藤原功三、幸道直樹、井上文夫、竹内義博、衣笠昭彦、澤田淳：ビオチン欠乏が原因と考えられた3-メチルクロトニルグリシン尿症の1乳児例. 小児科診療、51: 449-453, 1998

[1999]

1)Inoue F, Terada N, Nakajima H, Okochi M, Kodo N, Kizaki Z, Kinugasa A, Sawada T: Effect of sports activity on carnitine metabolism -Measurment of free carnitine, g-butyrobetaine and acylcarnitines by tandem mass spectrometry-. J Chromatogr B, 731:83-88, 1999

2)Terada N, Inoue F, Okochi M, Nakajima H, Kizaki Z, Kinugasa A, Sawada T: Measurement of carnitine precursors, e-trimethyllysine and butyrobetaine in human serum by tandem mass spectrometry. J Chromatogr B, 731:89-95, 1999

3)Nakajima H, Inoue F, Kizaki Z, Terada N, Okochi M, Kinugasa A, Sawada T: Carnitine import to isolated hepatocytes and synthesis are accelerated in pivalate-treated rats. J Nutr, 129: 1688-1691, 1999

4)Nishimura Y, Kasaka K, Kizaki Z, Inoue F, Kinugasa A, Sawda T, Hayashi S: Anomaly of chromosome 18 complicated with diabetes mellitus and hyperthyroidism. Pediatr Internat, 41: 177-180, 1999

5)Yoshino M, Aoki K, Akeda H, Hashimoto K, Ikeda T, Inoue F, Ito M, Kawamura M, Kohno Y, Koga Y, Kuroda Y, Maesaka H, Murakami-S0da H, Sugiyama N, Suzuki Y, Yano S, Yoshioka A: Management of acute metabolic decompensation in maple syrup urine disease: a multi-center study. Pediatr Internat, 41: 132-137, 1999

6)Fujitake J, Ishikawa Y, Fujii H, Nishimura K, Hayakawa K, Inoue F, Terada N, Okochi M, Tatsuoka Y: L-2-Hydroxyglutaric aciduris: two Japanese adult cases in one family. J Neurol, 246: 378-382, 1999

7)井上文夫、藤原寛：中学・高校生の麻薬・覚せい剤に対する意識調査. 学校保健研究、41: 67-73, 1999

8)藤原寛、井上文夫、清沢伸幸：心疾患を有する児童生徒の体育指導についてのアンケート調査. 小児保健研究 58: 622-628,1999

9)藤原寛、井上文夫、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳：肥満児とその家族を対象した運動指導（第1報）. 肥満研究 5: 193-200, 1999

主な学会発表

[1997]

1)藤原寛、井上文夫：心疾患を有する児童生徒の体育指導のあり方、　第44回近畿学校保健学会、1997年6月7日、奈良

2)藤原寛、井上文夫：児童期の運動量設定のための基礎的検討、　第4回小児運動スポーツ研究会、　1997年4月17日、東京

3)藤原寛、井上文夫：心疾患を有する児童生徒の体育指導のあり方ー安全かつ効果的な体育指導を目指してー、　第44回日本学校保健学会、1997年10月4日、松山

4)井上文夫、藤原寛：麻薬・覚醒剤に対する意識調査、　第44回日本学校保健学会、1997年10月5日、松山

5)藤原寛、井上文夫：心疾患を有する児童の体育指導のあり方、　第44回日本小児保健学会、　1997年11月15日、京都

6)井上文夫、藤原寛、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳：インスリン依存性糖尿病小児のエゴグラムについての検討、　第44回日本小児保健学会、　1997年11月15日、京都

7)Inoue F, Terada N, Kodo N, Okochi M, Kinugasa A, Sawada T, Hasegawa T: Analysis of carnitine precursors by tandem mass spectrometry, 35th Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism, 1997.9.4, Goteborg, Sweeden

8)Nakajima H, Inoue F, Kodo N, Kizaki Z, Terada N, Kinugasa A, Sawada T: Carnitine import is accelerated in the hepatocytes of pivalate treated rats. 35th Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism, 1997.9.4, Goteborg, Sweeden

[1998]

1)井上文夫、藤原寛、木崎善郎、衣笠昭彦：大学生のスポーツ活動と体脂肪、第6回小児BI法研究会、1998.2.21、東京

2)藤原寛、井上文夫：高校生の保健学習における今日的問題の意識調査、第45回近畿学校保健学会、1998.6.13、大津

3)井上文夫、藤原寛：大学健康診断での簡易型体脂肪計の使用経験、第45回近畿学校保健学会、1998.6.13、大津

4)井上文夫、藤原寛、忠井俊明、杉本弘子：大学健康診断での任意血液検査の試み、第４５回日本学校保健学会、1998.11.21、つくば市

5)藤原寛、井上文夫：大学卒業後の女性のスポーツ活動への関わり、第45回日本学校保健学会、1998.11.21、つくば市

6)井上文夫、寺田直人、中島浩司、大河内正和、幸道直樹、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳：スポーツ活動がカルニチン代謝に及ぼす影響、第23回日本医用マススペクトル学会、1998.9.24、金沢

6)寺田直人、大河内正和、中島浩司、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳、井上文夫：LIquid　SIMS/MSるtrimethyllysine測定の再検討-homoarginineによる妨害について-．　第23回日本医用マススペクトル学会、1998.9.24、金沢

7)藤原寛、井上文夫、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳：肥満児とその家族を対象とした運動指導、第19回日本肥満学会、1998.12.4、松山

8)井上文夫、藤原寛、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳：肥満児の運動指導のありかた、第101回日本小児科学会、1998.5.15、米子

9)藤原寛、井上文夫、浜岡建城、尾内善四郎：小児の運動中の心拍数反応による運動エネルギー消費量推定の試み、第５回小児運動スポーツ研究会、1998.5.14、米

子

10)井上文夫、西村往子、藤原寛、衣笠昭彦、小寺薫、西条毅：女子中学生の運動習慣と骨密度、第380回日本小児科学会京都地方会、1998.12.7、京都

[1999]

1)藤原寛、井上文夫、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳、中尾安次、中野裕：運動指導による肥満児の運動に対する意識の変化. 第12回近畿小児科学会. 1999年3月7日；京都

2)藤原寛、井上文夫、名和三千恵：児童の生活習慣や運動習慣が体脂肪率に及ぼす影響. 第46回近畿学校保健学会. 1999年6月26日；和歌山

3)井上文夫、藤原寛：大学野球部員のスポーツ障害・外傷とエゴグラム. 第46回近畿学校保健学会. 1999年6月26日；和歌山

4)藤原寛、井上文夫：運動制限を有する児の心拍数を指標とした体育指導－心臓管理表の有効な活用のために－. 第46回日本小児保健学会. 1999年10月16日；札幌

5)井上文夫、藤原寛：小学生の体脂肪率と運動の好き嫌い. 第46回日本小児保健学会. 1999年10月16日；札幌

6)衣笠 昭彦、井上文夫、木崎善郎、澤田淳、藤原寛：女子中学生の骨密度と運動習慣. 第46回日本小児保健学会. 1999年10月16日；札幌

7)藤原寛、井上文夫、木崎善郎、衣笠昭彦、澤田淳：肥満児とその家族を対象とした運動指導（第2報）－肥満児とその家族の基礎体力の検討－. 第20回日本肥満学会. 1999年10月15日；東京

8)井上文夫、藤原寛、清沢伸幸：心疾患児の体育指導に関する小児循環器専門医の見解. 第35回日本小児循環器学会. 1999年7月9日；福岡

9)井上文夫：大学野球部員のスポーツ障害・外傷とエゴグラム．第10回日本臨床スポーツ医学会．1999年11月7日；東京

10)藤原寛、井上文夫：心疾患児の体育指導に関する小児循環器専門医の見解．第46回日本学校保健学会．1999年11月27日；名古屋

研究成果の解説

A. カルニチンの機能と分析方法

1. カルニチンの構造と機能[1)2)]

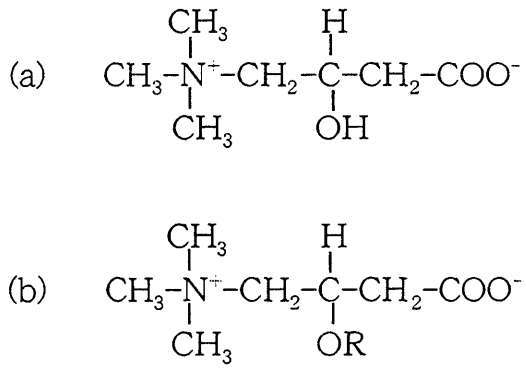

図1　遊離カルニチン(a)およびアシルカルニチン(b)の化学構造
(R=C(O)-(CH_2)n-CH_3)

カルニチンは図1に示すように、水酸基とカルボキシル基を有する四級アミンである。生体内のカルニチンの多くは筋肉内に存在し、肝、腎、心や血液プールにも存在する。これらの臓器においてカルニチンは長鎖脂肪酸が酸化される際に必須の物質として知られている。図2にその概要を示す。長鎖脂肪酸は細胞内に取り込まれるとアシルCoA合成酵素によりアシルCoAとなり、ミトコンドリア膜を通過する際にミトコンドリア外膜に存在するカルニチンアシルトランスフェラーゼⅠにより遊離カルニチンと反応し、カルニチンの水酸基と脂肪酸がエステル結合したアシルカルニチンとなる。このアシルカルニチンは膜内に存在するカルニチントランスロカーゼにより膜を通過し、さらにアシルカルニチンはミトコンドリア内膜に存在するカルニチンアシルトランスフェラーゼⅡにより加水分解されて遊離カルニチンとアシルCoAとなる。このアシルCoAは鎖長に応じたβ酸化系の酵素により分解されてアセチルCoAを産生する。アセチルCoAはクエン酸回路に入り、呼吸鎖の助けをかりてエネルギーを産生する。一部のアセチルCoAはケトン体となり、また一部は遊離カルニチンと結合してアセチルカルニチンとなり、ミトコンドリア外に出て、ミトコンドリア内の遊離CoA濃度を保つとともに、アセチルカルニチンの形でエネルギーの保存や輸送を行う。この過程で、アセチルカルニチンは腎において再吸収されなかった分は尿中に排泄される。

以上をまとめるとカルニチンの機能は、①長鎖脂肪酸のミトコンドリア内への輸送、②ミトコンドリア内の遊離CoA/アシルCoA比の維持、③エネルギーの保存と輸送である。

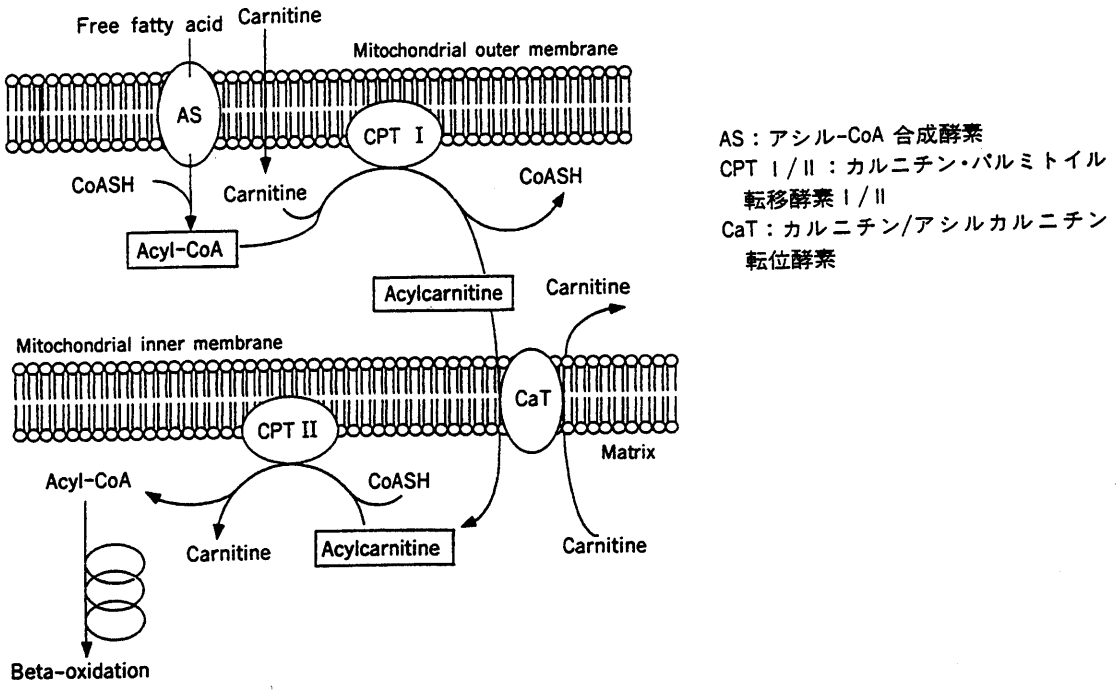

図2　脂肪酸のミトコンドリア内への転送とカルニチンシャトル

カルニチンの多くは経口摂取により食物からのものが殆どであるが、生体内で合成も行われている。この合成能は乳児期にはまだ十分発達しておらず、経口摂取が主となる。カルニチンの細胞内への輸送はNa依存性の能動輸送により行われており、最近その遺伝子(OCTN2)が同定され[3]、全身性カルニチン欠乏症の病因であることが明らかにされた。

2. カルニチン及びカルニチン前駆体の分析方法（掲載論文1、2）

カルニチンの分析はラジオアイソトープを用いたradioenzymatic method[4]やカルニチンデヒドロゲナーゼによる酵素法[5]が主流であるが、最近になりHPLC法[6]や質量分析計を用いる方法[7][8]が報告されてきた。これらの方法の利点は遊離カルニチンばかりでなく、個々のアシルカルニチンの測定が可能なことである。今回、タンデムマスを用いて遊離カルニチン、個々のアシルカルニチンとカルニチン前駆物質

であるブチロベタインを同時に測定する方法を開発した。この方法により微量のサンプルから再現性のある正確かつ特異的な測定が可能になった。具体的な内容については論文を参照されたい。同様の方法にてブチロベタインの前駆体であるトリメチルリジンの測定についても検討を行ったが、生体内に存在するホモアルギニンにより妨害されることが明らかになった。その妨害をできるだけ少なくする方法を開発し、その方法によりかなり正確な値が測定されることを示した。カルニチン前駆体であるトリメチルリジン[9]やブチロベタイン[10]の測定はこれまではきわめて煩雑で時間がかかり、感度も悪いのが実状であったが、今回の測定法の開発によりその問題は解決された。

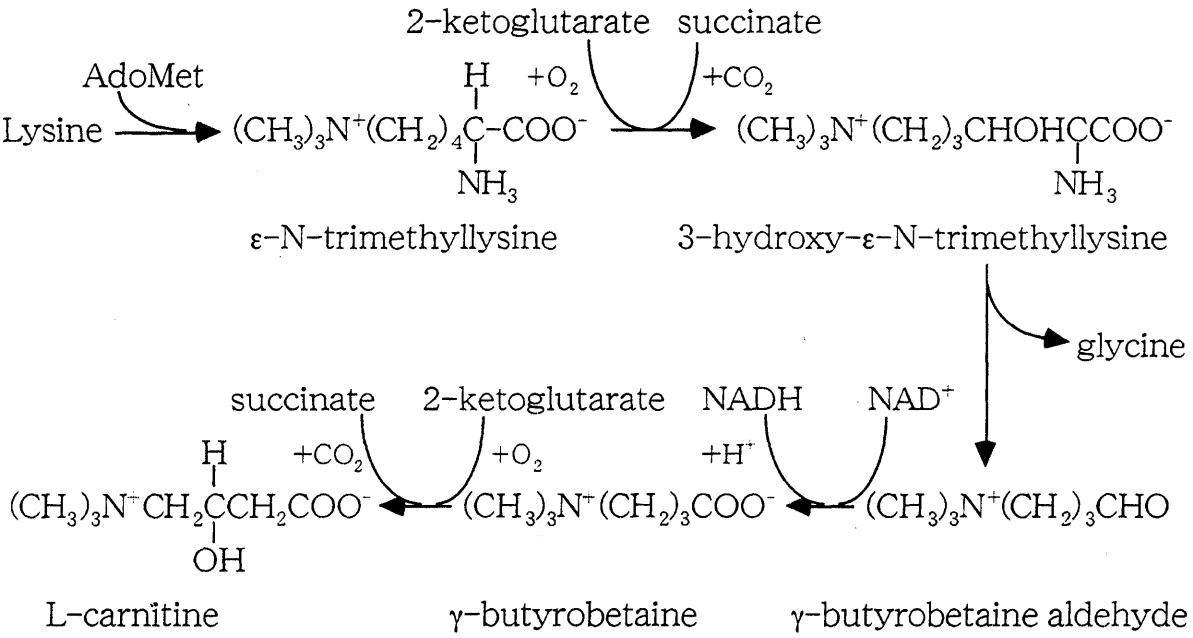

図3　カルニチンの生合成経路

カルニチンの生合成は図3のように蛋白結合リジンからトリメチルリジンが作られ、それがいくつかのステップを経てブチロベタインとなり、ブチロベタインは肝においてブチロベタインβヒドロキシラーゼによりカルニチンとなる。これらのステップにおいてアスコルビン酸、鉄、ビタミンB_6などが必要とされる。この生合成の際に、律速段階となるのは肝のブチロベタインβヒドロキシラーゼ活性ではなく、前駆体であるトリメチルリジン[11]やブチロベタイン[12]の濃度が重要な役割を果たすと考えられている。従って、カルニチンの生合成の状態をみる指標として、トリメチルリジンやブチロベタインを測定することで、カルニチン生合成に関する情報が得られるものと考えられ、今後種々の病態において検討を行う予定である。

参考文献

1)Bremer J: Carnitine-metabolism and functions. Physiol Rev 63: 1420-1480, 1983

2)Rebouche CJ, Paulson DJ: Carnitine metabolism and function in humans. Ann Rev Nutr 6: 41-66, 1986

3)Wang J, Ye J, Ganapathy V, Longo N: Mutations in the organic cation/ carnitine transporter OCTN2 in primary carnitine deficiency. Proc Natl Acad Sci USA 96: 2256-2260, 1999

4)McGarry JD, Foster DW: An improved and simplified radioisotopic assay for the determination of free and esterified carnitine. J Lipid Res 17: 277-281, 1976

5)Takahashi M, Ueda S, Misaki H, Sugiyama N, Matsumoto K, Matsuo N, Mutano S: Carnitine determination by a enzymatic cycling method with carnitine dehydrogenase. Clin Chem 40: 817-821, 1994

6)Minkler PE, Brass EP, Hiatt WR, Ingall ST, Hoppel CL: Quantification of carnitine, acetylcarnitine, and total carnitine in tissues by high-performance liquid chromatography: the effect of exercise on carnitine homeostasis in man. Anal Biochem 231: 315-322, 1995

7)Costa CG, Struys EA, Bootsma A, ten Brink HJ, Drland L, Tavares de Almeida, Duran M, Jakobs C: Quantitative analysis of plasma acylcarnitines using gas chromatography chemical ionization mass fragmentography. J Lipid Res 38: 173-182, 1997

8)Millington DS, Norwood DL, Kodo N, Roe CR, Inoue F: Application of fast atom bombardment with tandem mass spectrometry and liquid chromatography/mass spectrometry to the analysis of acylcarnitines in human urine, blood, and tissue. Anal Biochem 180: 331-339, 1989

9)Lehman L, Olson AN, Rebouche CR: Measurement of ε-trimethyllysine in human blood plasma and urine. Anal Biochem 162: 137-142, 1987

10)Sandor A, Minkler PE, Ingalls ST, Hoppel CL: An enzymatic method for the determination of butyrobetaine via conversion to carnitine after isolation by high performance liquid chromatography. Clin Chim Acta 176: 17-28, 1988

11)Rebouche CJ, Lehman LJ, Olson AN: ε-N-Trimethyllysine availability

regulates the rate of carnitine biosynthesis in the growing rat. J Nutr 116: 751-759, 1986
12)Sandor A, Hoppel CL: Butyrobetaine availability in liver is a regulatory factor for carnitine biosynthesis in rat. Eur J Biochem 185: 671-675, 1989
13)Inoue F, Terada N, Nakajima H, Okochi M, Kodo N, Kizaki Z, Kinugasa A, Sawada T: Effect of sports activity on carnitine metabolism -Measurment of free carnitine, g-butyrobetaine and acylcarnitines by tandem mass spectrometry-. J Chromatogr B, 731:83-88, 1999
14)Terada N, Inoue F, Okochi M, Nakajima H, Kizaki Z, Kinugasa A, Sawada T: Measurement of carnitine precursors, e-trimethyllysine and butyrobetaine in human serum by tandem mass spectrometry. J Chromatogr B, 731:89-95, 1999

B. カルニチン欠乏とその影響

1. カルニチン欠乏の原因

臨床的にカルニチンが欠乏する病態が知られている。表1にカルニチン欠乏を来す原因について示した。原発性の全身性カルニチン欠乏症は古くからカルニチン欠乏を来す疾患として知られ、ミオパチー、心筋症などの症状が見られるが、その原因についてはカルニチン輸送系の異常と推測されていた。最近になりヒトでの原因がorganic cation/carnitine transporter OCTN2の遺伝子変異によることが明らかにされた[1)2)]。また、全身性カルニチン欠乏症のモデル動物とされていたjuvenile visceral steatosis mouse(JVSマウス）も本遺伝子の異常によることが明らかにされた[3)]。

表1 カルニチン欠乏をきたす主な病態

1. 原発性カルニチン欠乏症
   カルニチン輸送蛋白(OCTN2)の異常
2. 続発性カルニチン欠乏症
   a. 先天性代謝異常症
      ①脂肪酸酸化異常症
      ②有機酸代謝異常症
      ③ミトコンドリア病
   b. 腎疾患：尿細管障害、透析など
   c. 栄養性：中心静脈栄養など
   d. 薬剤性：抗生物質、抗痙攣剤など
   e. その他

二次性のカルニチン欠乏を来す原因としては、先天性代謝異常症に伴うもの、腎疾患によるもの、栄養摂取不足、排泄亢進などがあげられる。先天代謝異常症としては脂肪酸酸化異常症、有機酸血症、ミトコンドリア病などが代表的であるが、欠乏のために高アンモニア血症、筋力低下、心筋症などがみられる。摂取不足の原因としては、新生児期から乳児期にかけての中心静脈栄養や特殊ミルクの摂取によるものが知られている。この時期の内因性のカルニチン合成能が低いことが大きな要因と考えられている。排泄亢進の原因としては、腎尿細管異常症が代表的であるが、最近になり種々の薬物の影響が注目されている。とくに、ピバリン酸を側鎖に持つ抗生物質では服用後急速にカルニチンの血中濃度が低下することが知られているが[4)]、組織中の濃度は比較的保たれるため大きな脂肪酸酸化の障害は無いとされている。抗痙攣剤であるバルプロ酸の投与によってもカルニチンが低下することが報告されており[5)]、高アンモニア血症もしばしば見られる。最近では喘息薬のテオフィリンや抗ガン剤などでもカルニチンの排泄が増加することが報告されている。このようにカルニチン欠乏を来しうる多くの要因が存在している。

2. カルニチン欠乏と代謝異常（掲載論文3）

このようなカルニチン欠乏時にみられる代謝異常の病態を詳細に検討するため、肝潅流法による実験を行った。

まず、全身性カルニチン欠乏症のモデルマウスであるJVSマウスでは、低血糖、高アンモニア血症、脂肪肝が見られる。肝潅流でのオレイン酸からのケトン体産生はきわめて低下しいたが、中鎖脂肪酸のオクタン酸や短鎖脂肪酸の酪酸からのケトン体産生は障害されていなかった。この長鎖脂肪酸の酸化障害はカルニチンを添加することにより速やかに回復した。また、乳酸からの糖新生能も低下していた。

カルニチン欠乏に伴う症状の出現には、臓器におけるエネルギー代謝の障害が大きな原因と考えられている。特に、空腹時のエネルギー源としての脂肪酸酸化は肝ばかりでなく骨格筋や心筋においても重要である。今回の検討から、カルニチン欠乏による脂肪酸酸化障害は組織のカルニチン濃度が極端に低下しない限り保たれると推測された。JVSマウスの潅流肝を用いて、カルニチン濃度をstepwiseに上昇させた検討からは、Km値は13nmol/g wet liverであり、水分濃度として45mMであり、これは報告されていたCPT IのKm値と近似しており、正常マウスの組織の遊離カルニチン濃度の約1/10に相当した。つまり、遊離カルニチンの組織濃度が正常の1/10になると酸化能は1/2になる計算になる。

参考文献

1)Wang J, Ye J, Ganapathy V, Longo N: Mutations in the organic cation/carnitine transporter OCTN2 in primary carnitine deficiency. Proc Natl Acad Sci USA 96: 2256-2260, 1999

2)Vaz FM, Scholte HR, Ruiiter J, Hussarts-Odijk LM, Pereira RR, Schweitzer S, de Klerk JBC, Waterham HR, Wanders RJA: Identification of two novel mutations in OCTN2 of three patients with systemic carnitine deficiency. Hum Genet 105: 157-161, 1999

3)Lu K, Nishimori H, Nakamura H, Shima K, Kuwajima M: A missence mutation of mouse OCTN2, a sodium-dependent carnitine cotransporter, in the juvenile visceral steatosis mouse. Biochem Biophys Res Com 252: 590-594, 1998

4)Nakajima H, Kodo N, Inoue F, Kizaki Z, Nukina S, Kinugasa A, Sawada T: Pivalate affects canitine status but causes no severe metabolic changes in rat

liver. J Nutr 126: 1683-1687, 1996
5)Stadler DD, Bale JF, Chenard CA, Rebouche CJ: Effect of long-term valproic acid administration on the efficiency of carnitine reabsorption in humans. Metabolism 48: 74-79, 1999
6)al Khokaifi AM, Alhomida AS: Influence of theophylline on urinary excretion of total, free and acyl carnitine in rats. In Vivo 13: 225-229, 1999
7)Heuberger W, Berardi S, Jacky E, Pey P, Krahenbuhl S: Increased urinary excretion of carnitine in patients treated with cisplatin. Eur J Clin Pharmacol 54: 503-508, 1998
8)Marthaler NP, Visarius T, Kupfer A, Lauterburg BH: Increased urinary losses of carnitne during ifosfamide chemotherapy. Cancer Chemother Pharmacol 44: 170-172, 1999
9)Nakajima T, Horiuchi M, Yamanaka H, Kizaki Z, Inoue F, Kodo N, Kinugasa A, Saheki T, Sawda T: The effect of carnitine on ketogenesis in perfused livers from Juvenile visceral steatosis mice with systemic carnitine deficiency. Pediatr Res, 42: 108-113, 1997

C. スポーツ活動によるカルニチン代謝の変化

運動時のエネルギー源は運動の種類により異なることが知られている。無酸素運動の場合は筋肉内のグリコーゲンの分解により得られた糖質の解糖系でのATP産生が主要なエネルギー源であり、結果として乳酸が蓄積する。一方、有酸素運動においては、グリコーゲンとともにアミノ酸や脂肪もエネルギー源として利用することができる。グリコーゲンの場合は解糖系からさらにクエン酸回路に入り、呼吸鎖においてATPが産生される。アミノ酸や脂肪の場合も最終的には呼吸鎖においてATPが産生される。このように有酸素運動においてはきわめて効率的にATPが産生されるが、なかでも脂肪酸からのエネルギーは持続的な運動エネルギーとして主要なものとなる。従って、これまで運動とカルニチン代謝についての研究は行われ[1)2)]、カルニチンの補助的投与についても検討されてきた[3)]。

小児における運動エネルギー代謝の検討を行うために、10～15歳の小児に20kwat/分のランプ負荷による運動負荷試験を行った。約10分間で殆どのものは最大負荷に到達したが、その際のケトン体産生は負荷が増大して無酸素運動が主となるに従い低下し、終了後の回復過程で軽度増加した。カルニチン代謝については、遊離カルニチン、アセチルカルニチン、ブチロベタインとも殆ど変化を認めなかった。また、中学生の陸上競技選手における検討では、長距離走者と短距離走者の間でエネルギー利用に差が見られ、筋線維によるエネルギー代謝の特異性が示唆された[4)]。

一方、大学生バレーボール部での通常の約2時間にわたる練習前後では、ケトン体産生は著明に増加し、カルニチン代謝では遊離カルニチンの軽度低下、アセチルカルニチンの増加、ブチロベタインの増加が認められた。従って、クラブ活動などの長時間持続する有酸素運動では、エネルギー源としては脂肪酸酸化によるものが多いとかんがえられた。図4に示すようにカルニチン代謝もそれに伴い変化することが明らかにされた。すなわち、運動により脂肪組織からの遊離脂肪酸の動員がおこり、脂肪酸が筋肉に取り込まれてβ酸化をうける。そのためにはカルニチンが必要であり、血中から筋肉へのカルニチンの取り込みも増加することから、血中遊離カルニチンは減少する。一方、肝でのカルニチン合成は増加すると考えられ、他組織からのカルニチン前駆体であるブチロベタインが動員され血中レベルは増加すると推測された。また、β酸化の結果増加したアセチルカルニチンは一部ミトコンドリアのカルニチンシャトルにより血中へと出され、その一部は腎から尿中へと排泄されると考えられた。（掲載論文1）

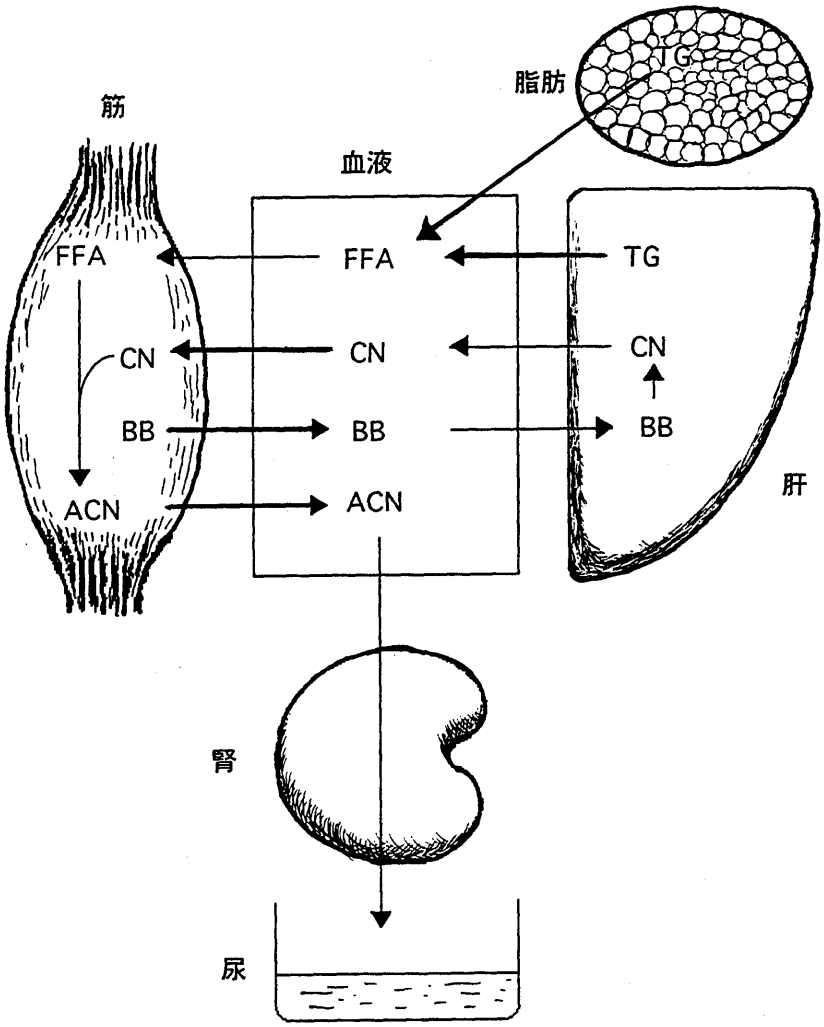

図4　運動によるカルニチン代謝の変化

参考文献

1)Brass EP, Hiatt WR: Carnitine metabolism during exercise. Life Sci 54: 1383-1393, 1994

2)Heinonen, OJ: Carnitine and physical exercise. Sports Med 22: 109-132, 1996

3)Colombani P, Wenk G, Kunz I, Krahenbuhl S, Kuhnt M, Arnold M, Frey-Rindova P, Frey W, Langhans W: Effects of L-carnitine supplementation on physical performance and energy metabolism of endurance-trained athletes: a double-blind crossover study. Eur J Appl Physil 73: 424-439, 1996

4)Constantin-Teodosiu D, Howell S, Greenhaff PL: Carnitine metabolism in human muscle fiber types during submaxumal dynamic exercise. J Appl Physiol 80:1061-1064, 1996

D. スポーツ活動中のピバリン酸を含む抗生物質の服用

1. ピバリン酸とカルニチン欠乏（掲載論文4）

ピバリン酸を側鎖に持つ抗生物質投与により、低カルニチン血症がみられることは多くの報告があり、われわれも小児において検討を行っている[1)]。ラットを用いた検討[2)]において、カルニチン血中濃度は著明に低下したにもかかわらず、組織中の濃度は比較的保たれており、ケトン体産生の低下はみられず、むしろ軽度亢進する傾向がみられた。ピバリン酸投与下における血中カルニチン濃度と組織カルニチン濃度の解離の原因について検討するため、単離肝細胞を用いてカルニチンの輸送について検討を行った。その結果、ピバリン酸の投与をうけた肝細胞ではカルニチンの取り込みは増加しており、その原因はKm値の低下によることが明らかにされた。また、肝の遊離カルニチン濃度の低下はみられず、アセチルカルニチン、ブチロベタイン濃度の低下が見られたことから、肝におけるカルニチンの生合成が亢進していることが推測された。以上より、正常人ではピバリン酸の投与期間が短ければ、組織中の遊離カルニチン濃度は正常程度に保たれることから、脂肪酸酸化に大きな影響は生じないと推測された。

2. スポーツ活動中のピバリン酸を含む抗生物質服用の影響

ピバリン酸を含む抗生物質服用中のものがスポーツ活動を行った場合の影響について検討した。大学女子バスケットボール部員を対象にして、夏期練習中、1週間ピバリン酸を含む抗生物質服用を行い、その前後で血液・尿の生化学検査を行った。表2に示すように抗生物質服用後に筋逸脱酵素の上昇がみられた。ケトン体産生能については、ラットの場合と同様に軽度増加傾向が見られた。カルニチン代謝ではピバリン酸を含む抗生物質投与により血中遊離カルニチン濃度は軽度低下し、ブチロベタイン、アセチルカルニチン、ピバロイルカルニチンは増加し、運動によりアセチルカルニチン、ピバロイルカルニチンは軽度増加していた。今回見られた筋逸脱酵素の上昇については薬物によるものか、1週間の運動練習によるものかは不明である。しかし、ピバリン酸投与後に心のエネルギー代謝に変化があり、心機能にも影響するとの報告[3)]もあることから、今後慎重に検討する必要がある。

表2　ピバリン酸を含む抗生物質服用の影響

	抗生物質服用前		抗生物質服用後	
	運動前	運動後	運動前	運動後
CK(IU/l)	109±43	155±54	727±544	856±627
Myogl(ng/ml)	26±6	81±31	48±28	263±247
FFA(mEq/l)	0.25±0.26	0.88±0.26	0.40±0.24	0.95±0.21
3OHB(μmol/l)	65±165	115±89	47±43	196±100
grasp(kg)	32.8±4.5		31.1±4.6	
FC(nmol/ml)	37.6±6.0	33.4±6.8	32.1±6.9	29.6±5.6
BB(nmol/ml)	1.5±0.3	1.7±0.3	1.7±0.3	1.7±0.2
C2(nmol/ml)	4.9±0.7	15.0±2.3	5.9±1.4	9.9±3.8
C5(nmol/ml)	0.2±0.1	0.1±0.1	2.4±2.2	3.4±3.0
C8(nmol/ml)	0.05±0.06	0.13±0.15	0.18±0.12	0.22±0.14

参考文献

1)幸道直樹、木崎善郎、中島浩司、中嶋敏宏、上嶋泰生、井上文夫、衣笠昭彦、澤田淳：ピバリン酸を側鎖に持つ抗生物質投与による低カルニチン血症と脂肪酸酸化障害について．日本小児科学会雑誌　98: 247-257, 1994

2)Nakajima H, Kodo N, Inoue F, Kizaki Z, Nukina S, Kinugasa A, Sawada T: Pivalate affects canitine status but causes no severe metabolic changes in rat liver. J Nutr 126: 1683-1687, 1996

3)Abrahamsson K, Eriksson BO, Holme E, Jodal U, Jonsson A, Lindstedt S: Pivalatic acid-induced carnitine deficiency and physical exercise in humans. Metabolism 45:1501-1507, 1996

4)Nakajima H, Inoue F, Kizaki Z, Terada N, Okochi M, Kinugasa A, Sawada T: Carnitine import to isolated hepatocytes and synthesis are accelerated in pivalate-treated rats. J Nutr, 129: 1688-1691, 1999

主な論文