

運動前における食事の有無が鉄代謝に及ぼす影響

石橋 彩

立命館大学 スポーツ健康科学研究科

1. 緒言

鉄は赤血球の酸素運搬に必須のヘモグロビン構成原子である。スポーツ競技者における体内の鉄欠乏は活動筋での酸素運搬能力を低下させ、運動パフォーマンスの減退に繋がる。従来、鉄欠乏の発症は、食事による鉄摂取量の不足¹やトレーニング時の発汗に伴う鉄喪失²、高強度運動での消化管からの鉄の吸収阻害³、足裏への衝撃に伴う赤血球の破壊（溶血）⁴が主な要因とされてきた。これらに加えて、新たな作用機序としてヘプシジンの分泌亢進に起因する鉄吸収阻害の関与が指摘されている⁵。肝臓から主に分泌されるペプチドホルモンであるヘプシジンは、生体での鉄利用の抑制因子として作用している。ヘプシジンは、血清鉄の増加、インターロイキン6（IL-6）の刺激、骨髄造血機能の低下、小胞体ストレスにより合成が亢進すると報告されている⁵⁻⁷。近年、運動やトレーニングにより分泌される炎症性サイトカインの一つであるIL-6が肝細胞からのヘプシジン産生を亢進させ、鉄代謝を抑制する機序の存在が注目されている⁸。

スポーツ競技現場では、早朝練習などでは食事をしない状況で長時間運動を行うことが多い。このように食事を摂取する前に運動・トレーニングを行うことで骨格筋グリコーゲン量は大幅に減少し、骨格筋グリコーゲン量が減少した条件下での運動・トレーニングは、有酸素能力の改善や筋グリコーゲン量の増加に有効であることが報告されている⁹。一方で、骨格筋グリコーゲン量が減少した状態でのトレーニングでは、IL-6の産生が顕著に亢進することが知られている¹⁰。動物実験を用いた近年の報告ではヘプシジンの産生が絶食に伴い亢進することも指摘されており¹¹、骨格筋グリコーゲン量を減少させるような絶食での運動が運動後のヘプシジンの分泌を助長し、スポーツ競技者において頻発する鉄欠乏症の一つの要因となっている可能性が考えられる。そこで、本研究では運動前の炭水化物を中心とした食事の摂取はヘプシジンの分泌を抑制するのではないかという仮説を検証することを目的とした。

2. 方法

2.1 対象者

運動習慣のある若年男性10名（ 20 ± 1 歳， 173 ± 5 cm， 64.6 ± 6.3 kg）を対象とした。これらの対象者の中に投薬中の者、または既往歴のある者は含まれていなかった。研究を開始するにあたり、すべての対象者に対し、研究の目的、食事、運動、測定内容および参加に伴う危険性について十分に説明し、書面にて協力への同意が得られた者のみを対象とした。なお、本研究は、立命館大学に帰属する倫理委員会の承認を得て実施した（KC-IRB-2015-039）。

2.2 実験デザイン

運動開始の120分前に高炭水化物を中心とした食事を摂取する（CHO条件）および絶食で運動を実施するコントロール条件（CON条件）からなる2条件での測定を、それぞれ異なる日に実施した。運動には、最大酸素摂取量の65%に相当する強度で60分間の自転車ペダリング運動を用

いた。運動前から運動終了 180 分後まで、血液パラメータ（血中グルコース、血中乳酸、血清ヘプシジン、血清鉄、血清フェリチン、血清ハプトグロビン、血漿 IL-6 濃度）、呼気ガスパラメータ（エネルギー消費量、呼吸交換比）などの変化を検討した。

2.3 最大酸素摂取量

最大酸素摂取量（Maximal oxygen uptake ; $\dot{V}O_{2max}$ ）の測定には、自転車エルゴメーター（828E, Monark 社製）での多段階漸増負荷ペダリングテストを用いた。ペダルの重さは、1.5 kp からスタートし、被験者が疲労困憊に至るまで 2 分ごとに 0.5 kp ずつ負荷を漸増した。疲労困憊の定義は、①規定の回転数（60rpm）を連続した 5 秒間にわたって 5 rpm を超えて下回る、②年齢から推定される最大心拍数に達する、③酸素摂取量がレベリングオフに達する、④Borg スケールによる自覚的運動強度（RPE : Rating of Perceived Exertion）が 20 に達する、からなる 4 項目のうち 2 項目以上を満たした時点とした。測定中は、呼気ガスパラメータと心拍数を連続的に測定した。呼気ガスパラメータの測定には、代謝分析測定機（AE300S, ミナト医科学社製）を用いて、運動時の酸素摂取量（ $\dot{V}O_2$ ）、二酸化炭素産生量（ $\dot{V}CO_2$ ）、呼吸交換比（RER）、換気量（ $\dot{V}E$ ）などの項目を breath-by-breath 法により評価した。また得られたデータから 30 秒毎の平均値を算出した。

2.4 食事内容

CHO 条件では、炭水化物を中心とした食事（たんぱく質 $10.1 \pm 0.3\%$ 、脂質 $20.3 \pm 0.9\%$ 、炭水化物 $71.7 \pm 1\%$ 、 968 ± 48 kcal）を提供し、食後 120 分間の休息時間をはさみ、その後運動を開始した。また、CHO 条件における炭水化物の摂取量は体重あたり 2.8 ± 0.2 g/kg になるように設定した。

2.5 採血

血中グルコース濃度（ニプロ FS 血糖センサーライト、ニプロ社製）および血中乳酸濃度（Lactate Pro2 LT-1730、Arkray 社、東京）の測定には指先より採取した血液を用いた。それ以外の項目の測定には、前腕静脈から採取した血液を使用した。得られた採血は 4°C 、3000 rpm で 10 分間遠心分離し、血清および血漿を -80°C で冷凍保存した。血清フェリチン、鉄、ハプトグロビン濃度は自動分析法により測定した（株式会社 SRL、東京）。血清ヘプシジン濃度の解析および血漿 IL-6 濃度の解析には、市販のキット（Human Hcpidin ELISA kit および Human IL-6 ELISA kit、R&D systems 社）を用いて、酵素免疫測定法により実施した。

2.6 統計処理

得られたデータの解析には、統計解析ソフト IBM SPSS Statistic ver. 22.0（日本アイ・ビー・エム株式会社）を用いた。運動前から運動終了 3 時間後の各項目の平均値の差の検定には、反復測定による 2 元配置の分散分析（two-way ANOVA）を用い、交互作用（条件×時間）および主効果の有無（条件および時間）を検定した。検定したすべての測定値は、平均値 \pm 標準誤差（Means \pm SE）で示し、有意水準は危険率 5%未満に設定した。

3. 結果

3.1 呼吸交換比

安静時から運動後 180 分までの呼吸交換比の結果を Fig.1 に示した。CHO 条件において、運動開始前（食後 120 分）の呼吸交換比は CON 条件と比較して有意に高値を示した ($p < 0.05$)。さらに、CHO 条件では、運動終了 60 分後および 180 分後においても CON 条件と比較して有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

3.2 血中グルコース、乳酸濃度

安静時から運動後 180 分までの血中グルコースおよび乳酸濃度の結果を Fig.2 に示した。血中グルコース濃度は、食後 30 分後に CHO 条件が CON 条件と比較して有意に高値を示した ($p < 0.05$)。また、運動終了直後、運動終了 60 分後および 180 分後では、CHO 条件で CON 条件と比較して、血中グルコース濃度が高値であった (Fig.1)。

血中乳酸濃度は、両条件で運動直後に有意に増加した ($p < 0.05$)。しかしながら、いずれの時点において条件間で有意な差は認められなかった。

3.3 血漿 IL-6 濃度

安静時から運動後 180 分までの血漿 IL-6 濃度の結果を Fig.3 に示した。血漿 IL-6 濃度は、両条件で運動終了 60 時間後に運動前と比較して高値を示した ($p < 0.05$)。一方、これらの変化の動態に条件間での、有意差は認められなかった。

3.5 血清ヘプシジン濃度

安静時から運動後 180 分までの血清ヘプシジン濃度の結果を Fig.4 に示した。血清ヘプシジン濃度は、両条件で運動終了 180 分後において運動前と比較して高値を示した ($p < 0.05$)。一方、これらの変化の動態に条件間での、有意差は認められなかった (Fig.3)。運動前から運動 180 分後までの変化率は、CON 条件で $121.8 \pm 22.1\%$ 、CHO 条件で $163.9 \pm 43.5\%$ となり、条件間で有意差は見られなかった。

3.6 鉄関連項目

安静時の血清フェリチン濃度は、CON 条件では $75.9 \pm 10.6 \text{ ng/mL}$ 、CHO 条件では $77.5 \pm 10.4 \text{ ng/mL}$ となり、条件間で有意差は見られなかった。また、血清鉄濃度も、両条件ともに運動に伴う有意な変化はみられなかった (Fig.4)。また、溶血の指標である血清ハプトグロビン濃度も、両条件ともに運動に伴う有意な差はみられなかった。

4. 考察

本研究では、運動習慣のある若年男性を対象に、運動前の食事の有無が運動後のヘプシジンおよび鉄代謝に及ぼす影響を検討した。本研究から得られた主要な知見としては、運動前に食事摂取の有無は運動後のヘプシジンおよび血清鉄の変化に影響しなかったことがあげられる。

スポーツ競技者に多くみられる鉄欠乏を引き起こす作用機序として、ヘプシジンの分泌亢進に起因する鉄吸収阻害の関与が指摘されている。ヘプシジンは、主に腸管からの鉄の吸収と網内系マクロファージからの鉄放出を抑制する⁵。Peelingら(2009)によると、60分のランニング運動条件(15分75~80%HR_{peak}+45分の85~90%HR_{peak})と安静条件の比較では、運動条件において運動直後にIL-6の分泌が亢進し、運動3時間後にはヘプシジンが有意に高値を示すことが報告されている¹²。先行研究によると、運動によるヘプシジンの分泌増大は主に運動後3~6時間後に認められる¹²⁻¹⁴。本研究においても、血清ヘプシジン濃度は運動3時間後に大幅に増加することが認められた。これは、本研究の運動によって運動直後にIL-6の分泌が増加し、その後にヘプシジンが増加したものと考えられる。

骨格筋グリコーゲン量が減少した状態での運動は、肝臓における糖新生を促進させるためIL-6の増加を助長させる。また、運動によるヘプシジン産生は、主にIL-6の分泌が亢進することにより増加することが指摘されている^{10,15}。このことから、運動前または運動中の炭水化物の摂取は、運動後におけるヘプシジンの分泌を抑制するのではないかと考えられる。一方で、75%VO_{2max}に相当する走速度で90分間のランニング運動中20分ごとに炭水化物(糖質を6%含む溶液を体重当たり3ml)を摂取させた研究では、運動後のヘプシジンおよびIL-6はCON条件との差は認められなかった¹⁶。さらに、高強度間欠的運動(85%VO_{2max}に相当する負荷での3分間×8本)を実施した直後に炭水化物(炭水化物を1.2g/kg含む飲料)を補給する条件(運動終了直後、2時間後ごと)または運動終了から間隔をあけて補給する条件(運動終了2、4時間後ごと)では、ヘプシジンおよびIL-6の変化は同様であった¹⁷。これらのことから、運動中や運動終了後の炭水化物(糖質)の摂取は、ヘプシジンを抑制する効果は認められていない。そこで、本研究では運動の直前に炭水化物に飲料ではなく、炭水化物を中心とした食事を摂取することとした。本研究の炭水化物の摂取量は先行研究と比較して、運動前に摂取する炭水化物の摂取量は体重あたり3g/kgと多く設定し、65%VO_{2max}に相当する負荷でのサイクリング運動を60分間行った。しかしながら、運動後のIL-6およびヘプシジンの増加を抑制することができなかった。本研究では、運動直後の血中乳酸濃度および血漿IL-6濃度が条件間で差がみられなかったことから、炭水化物の摂取量が少なかったこと、また運動の強度が低く骨格筋グリコーゲン量の減少の程度が少なかった可能性が考えられる。Badenhorstら(2015)の報告によると、低炭水化物食(3g/kg)および高炭水化物食(8g/kg)となるように設定された食事を運動前日に摂取し、骨格筋グリコーゲン量を枯渇させるような運動を行った際、低炭水化物食を摂取した条件においては、運動直後のIL-6および運動3時間後のヘプシジン濃度が高炭水化物条件と比較して増加したことが報告されている¹⁸。このことから、食事を摂取するタイミングも重要であると考えられ、今回の設定した食後2時間という時間設定では短かったことが考えられる。

ランニング運動では、運動直後に溶血が起り、その影響を受けてヘプシジンの産生が増加する可能性が考えられる。そのため、今回は溶血の影響を避けるためにサイクリング運動を用いた。

先行研究では 65% $\dot{V}O_{2max}$ に相当する運動負荷で 40 分間のサイクリング運動した場合に、65% $\dot{V}O_{2max}$ に相当する走速度でのランニング運動を 40 分間行なった場合に比較して、ヘプシジンの増加の程度が少ないことが報告されている¹⁴。また、本研究でも条件間において血清鉄が運動前後で増加しなかったことや溶血の指標であるハプトグロビン濃度が変化しなかったことは本研究においてヘプシジンが増加しなかった要因の一つとして考えられる。今後は、炭水化物の摂取量および食事のタイミングに着目して、ヘプシジンの抑制する方策の検討を行っていく必要があると考えられる。

5. 結論

運動習慣のある若年男性に対する、運動前の炭水化物を中心とした食事の摂取は、運動後のヘプシジン濃度および鉄代謝には影響を及ぼさないことが明らかとなった。

6. 謝辞

本研究にご支援を賜りました財団法人ミズノスポーツ財団に深く感謝申し上げます。

7. 参考文献

1. King N, Fridlund KE, Askew EW. Nutrition issues of military women. *J Am Coll Nutr*. 1993;12(4):344-348. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8409093>. Accessed November 1, 2016.
2. Brune M, Magnusson B, Persson H, Hallberg L. Iron losses in sweat. *Am J Clin Nutr*. 1986;43(3):438-443. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3953482>. Accessed November 1, 2016.
3. Stewart JG, Ahlquist DA, McGill DB, Ilstrup DM, Schwartz S, Owen RA. Gastrointestinal blood loss and anemia in runners. *Ann Intern Med*. 1984;100(6):843-845. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6609656>. Accessed November 1, 2016.
4. Miller B, Pate R, Burgess W. Foot Impact Force and Intravascular Hemolysis During Distance Running. *Int J Sports Med*. 1988;9(1):56-60. doi:10.1055/s-2007-1024979.
5. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*. 2004;306(5704):2090-2093. doi:10.1126/science.1104742.
6. Ganz T, Nemeth E. Iron Sequestration and Anemia of Inflammation. *Semin Hematol*. 2009;46(4):387-393. doi:10.1053/j.seminhematol.2009.06.001.
7. Ganz T, Nemeth E. Iron sequestration and anemia of inflammation. *Semin Hematol*. 2009. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0037196309000985>. Accessed June 29, 2016.
8. Peeling P, Dawson B, Goodman C, et al. Effects of exercise on hepcidin response and iron metabolism during recovery. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2009;19(6):583-597. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20175428>. Accessed November 1, 2016.
9. Stannard S, Buckley A, Edge J. Adaptations to skeletal muscle with endurance exercise training in the acutely fed versus overnight-fasted state. *J Sci*. 2010. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1440244010000733>. Accessed April 25, 2017.

10. Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, et al. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB J*. 2001;15(14):2748-2750. doi:10.1096/fj.01-0507fje.
11. Troutt J, Rudling M, Persson L, Ståhle L. Circulating human hepcidin-25 concentrations display a diurnal rhythm, increase with prolonged fasting, and are reduced by growth hormone administration. *Clinical*. 2012. <http://clinchem.aaccjnl.org/content/58/8/1225.short>. Accessed April 25, 2017.
12. Peeling P, Dawson B, Goodman C, et al. Effects of exercise on hepcidin response and iron metabolism during recovery. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2009;19(6):583-597. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20175428>. Accessed May 25, 2016.
13. Peeling P, Dawson B, Goodman C, et al. Training surface and intensity: inflammation, hemolysis, and hepcidin expression. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(5):1138-1145. doi:10.1249/MSS.0b013e318192ce58.
14. Sim M, Dawson B, Landers G, et al. Effect of Exercise Modality and Intensity on Postexercise Interleukin-6 and Hepcidin Levels. *www.IJSNEM-Journal.com Orig Res Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2013;23:178-186. <http://journals.humankinetics.com/doi/pdf/10.1123/ijsnem.23.2.178>. Accessed April 25, 2017.
15. Steensberg A, Febbraio MA, Osada T, et al. Interleukin-6 production in contracting human skeletal muscle is influenced by pre-exercise muscle glycogen content. *J Physiol*. 2001;537(Pt 2):633-639. doi:10.1111/j.1469-7793.2001.00633.x.
16. Sim M, Dawson B, Landers G, et al. The effects of carbohydrate ingestion during endurance running on post-exercise inflammation and hepcidin levels. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(5):1889-1898. doi:10.1007/s00421-011-2156-0.
17. Badenhorst CE, Dawson B, Cox GR, Laarakkers CM, Swinkels DW, Peeling P. Timing of post-exercise carbohydrate ingestion: influence on IL-6 and hepcidin responses. *Eur J Appl Physiol*. 2015;115(10):2215-2222. doi:10.1007/s00421-015-3202-0.
18. Badenhorst CE, Dawson B, Cox GR, Laarakkers CM, Swinkels DW, Peeling P. Acute dietary carbohydrate manipulation and the subsequent inflammatory and hepcidin responses to exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2015;115(12):2521-2530. doi:10.1007/s00421-015-3252-3.

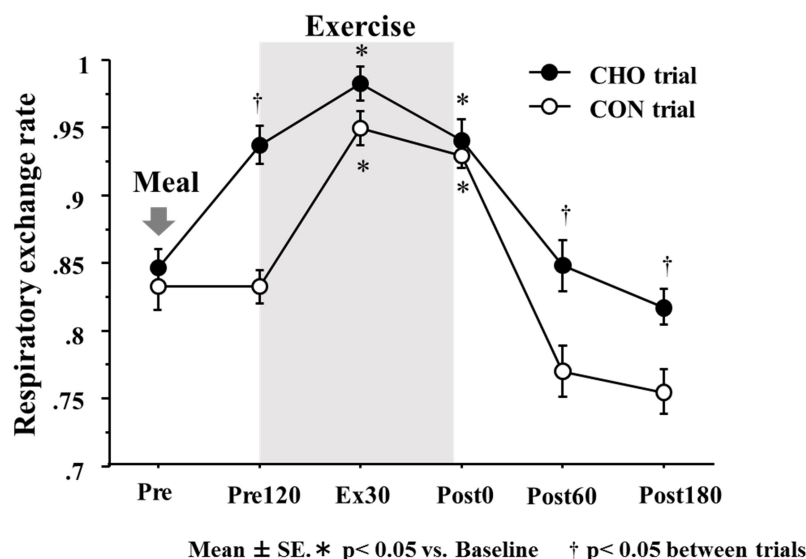


Figure1. Change in respiratory exchange rate during experiment in fasting and CHO meal eating conditions.

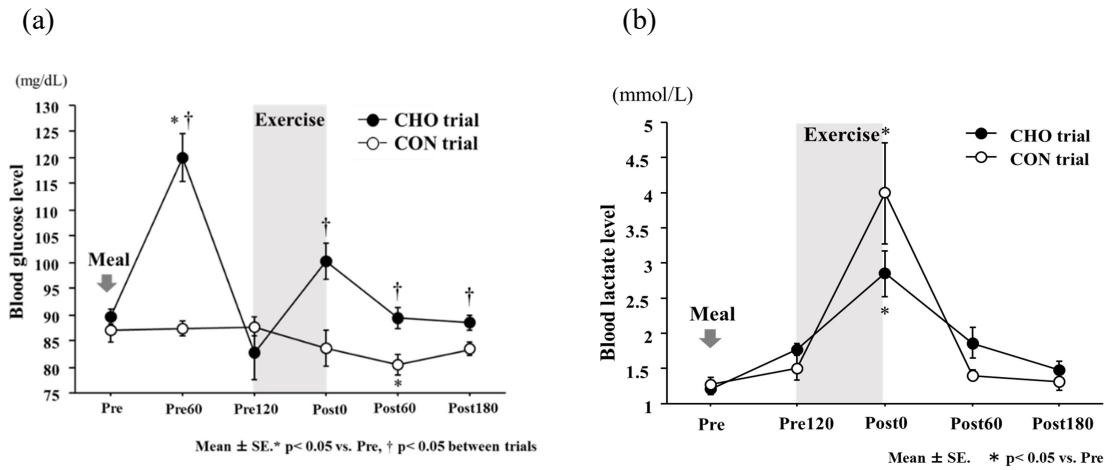


Figure2. Change in (a) blood glucose level and (b) blood lactate level during experiment in fasting and CHO meal eating conditions.

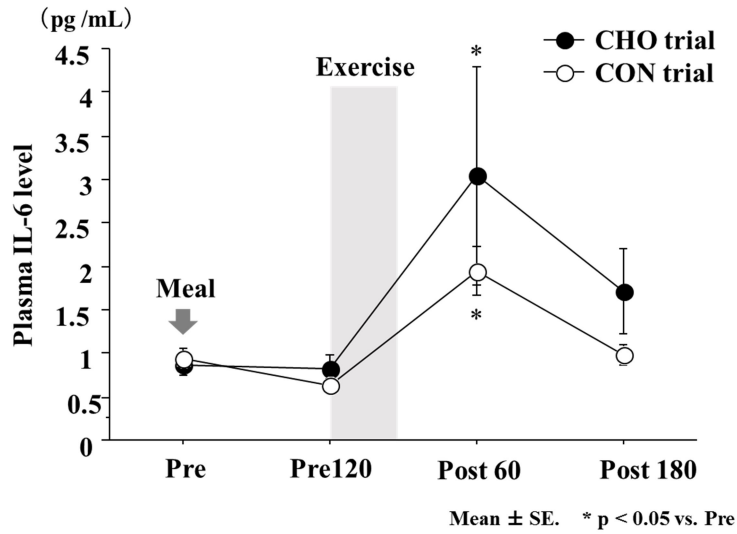


Figure3.
IL-6 level

Change in plasma during experiment in

fasting and CHO meal eating conditions.

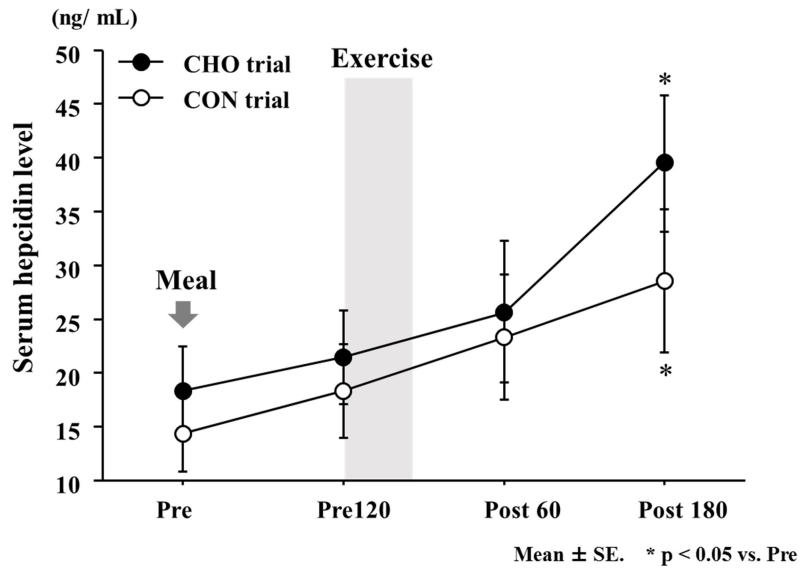


Figure 4.
hepcidin during
CHO meal

Change in serum experiment in fasting and eating conditions.

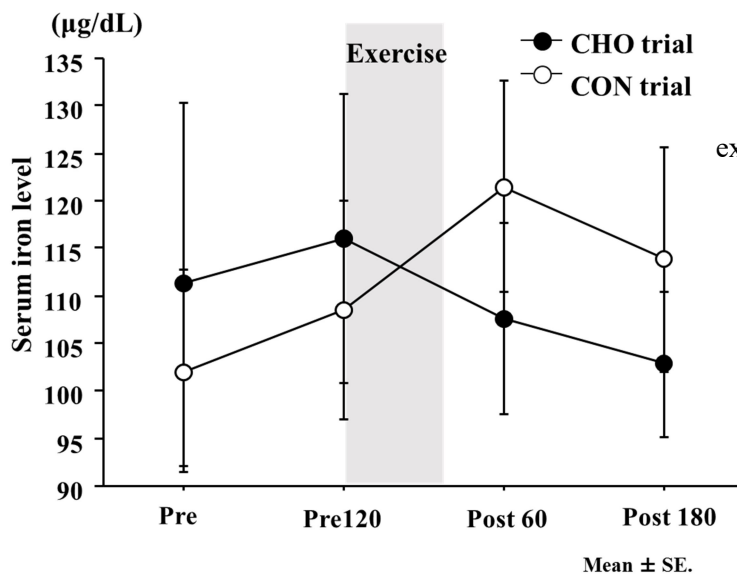


Figure 5. Change in serum iron level during experiment in fasting and CHO meal eating conditions.