

急性アルコール摂取が骨格筋エネルギー代謝におよぼす影響

The Effects of Acute Alcohol Intake on Energy Metabolism in Human Skeletal Muscle

食物学科 Dept. of Food and Nutrition 村瀬 訓夫 Norio Murase*** 永澤 健 Takeshi Nagasawa*****	佐古 隆之 Takayuki Sako 木目良太郎 Ryotaro Kime*** 上田千穂子 Chihoko Ueda*****	佐々木多佳 Taka Sasaki* 勝村 俊仁 Toshihito Katsumura*** 市村 志朗 Shiro Ichimura*****	浜岡 隆文 Takafumi Hamaoka** 本間 俊行 Toshiyuki Homma**** 中川 直樹 Naoki Nakagawa*****
--	--	--	---

抄 録 急性アルコール摂取が骨格筋ミトコンドリア酸化能および骨格筋安静時代謝量に与える影響について検討した。二重盲検法により、健康成人男女6名（年齢 26.7 ± 6.7 歳，平均 \pm SD）にアルコール（0.5 g/kg）またはプラセボをそれぞれ摂取させた。ミトコンドリア酸化能はリン31磁気共鳴分光装置を用いて、ハンドグリップ運動後の前腕屈筋群のクレアチンリン酸（PCr）の回復時間から評価した。骨格筋安静時代謝量は近赤外分光装置によって、アルコール摂取前後の動脈血流遮断時における前腕屈筋群の脱酸素化率から評価した。その結果、PCr回復時間はアルコール摂取条件（ 38.3 ± 13.9 秒）でプラセボ摂取条件（ 30.2 ± 10.4 秒）に比べて有意に延長した（ $p < 0.05$ ）。また骨格筋安静時代謝量はアルコール摂取条件でプラセボ摂取条件に比べて有意に低値を示した（ $p < 0.05$ ）。以上の結果より、急性アルコール摂取は骨格筋ミトコンドリア酸化能の低下および骨格筋安静時代謝量の減少を引き起こすことが示唆された。

キーワード：急性アルコール摂取，ミトコンドリア酸化能，骨格筋安静時代謝量， ^{31}P -MRS，NIRcws

Abstract We investigated the effects of acute alcohol intake on mitochondrial oxidative capacity and resting muscle metabolic rate. Six healthy subjects (age 26.7 ± 6.7 yr, mean \pm SD) were administered alcohol (0.5 g/kg) or a placebo in a double-blind design. Oxidative capacity was evaluated from the PCr resynthesis rate after submaximal handgrip exercise using ^{31}P -magnetic resonance spectroscopy. The resting muscle metabolic rate was evaluated by near-infrared spectroscopy from the deoxygenation rate during arterial occlusion in pre and post alcohol intake. The PCr resynthesis rate was significantly greater in the alcohol intake group (38.3 ± 13.9 sec) than in the placebo intake group (30.2 ± 10.4 sec, $p < 0.05$). In addition within the alcohol intake group, the resting muscle metabolic rate showed a significantly lower value than the placebo intake group ($p < 0.05$). These results suggest that acute alcohol intake causes mitochondrial dysfunction and reduces the resting metabolic rate in skeletal muscle.

Keywords : acute alcohol intake, mitochondrial oxidative capacity, resting muscle metabolic rate, ^{31}P -MRS, NIRcws

*食物学科，森永乳業 **鹿屋体育大学 ***東京医科大学 ****国立スポーツ科学センター
*****広島工業大学 *****明星大学 *****東京理科大学 *****産業能率大学

1. 緒言

アルコールの慢性的な過剰摂取による骨格筋への影響については、骨格筋タイプⅡ線維の委縮^{1, 2)}やグリコーゲン代謝阻害³⁾、安静時および運動時の筋内pHの低下、運動後の筋内pHの回復遅延などが生じることが報告されている⁴⁾。一方、アルコールの急性的な摂取の影響については、骨格筋ミトコンドリアの酸化酵素活性の低下²⁾が報告されている。しかしながら、アルコールの急性摂取による骨格筋ミトコンドリア酸化能に対する影響についてのin vivoでの検討はない。また、急性アルコール摂取が筋内pHへ与える影響についても明らかでない。そこで本研究では、骨格筋ミトコンドリア機能および骨格筋内pHに及ぼす急性アルコール摂取の影響について検討した。

アルコールの急性摂取の影響として、全身の酸素摂取量(VO_2)が増加することが知られており^{5, 6)}、個人差があるものの10%程度のエネルギー代謝亢進が生じる。これは、アルコール摂取による血管拡張作用、アルコール代謝に伴う心悸亢進、体温上昇、アルコール飲用後の著明な顔面紅潮や結膜充血が見られるflushingに伴う皮膚温上昇などが原因と考えられている。一方、骨格筋レベルの局所的な影響については、急性アルコール摂取によりインスリン抵抗性を示すこと、また骨格筋のグルコース取り込みおよび利用が低下することが報告されている⁷⁾。このことは、アルコール摂取により安静時の骨格筋酸素消費量(VO_{2mus})が低下する可能性を示している。そこで、骨格筋安静時代謝に及ぼす急性アルコール摂取の影響についても検討した。

2. 対象および方法

健康成人男女6名(年齢 26.7 ± 6.7 (SD) 歳、身長 165.8 ± 7.9 cm、体重 56.7 ± 10.7 kg)を対象とした。被験者のうち、アルコール摂取に伴う自律神経反応、心悸亢進および、flushingによる皮膚温上昇を示すF型の者が男性1名、女性2名で、それらを示さないNF型の者は男性2名、女性1名であった。全ての対象者に対して、本研究の目的、方法、ならびに危険性を十分説明し、研究に参加することへの同意を文章により得た上で実験を行った。

実験は二重盲検、プラセボ対照法により実施した。被験者に対してアルコール投与、あるいはプラセボ

摂取の実験を、順序無作為に日を変えて行った。被験者には、実験飲料摂取の3時間前に炭水化物を中心とする約400 kcal相当の食事と水500 mlを摂取させた後絶食として、食事による体熱効果の影響を最小限にした。実験室に来室後、座位で安静状態を20分間保った。その後、近赤外分光装置(NIRcws)により前腕屈筋群の安静時筋酸素消費量を測定した後、アルコールあるいはプラセボを摂取し、15分後に再び安静時筋酸素消費量を測定した。実験飲料摂取30分後から、リン31磁気共鳴分光装置(³¹P-MRS)の中でグリップ運動を行い、運動後のクレアチンリン酸の回復時定数(τ PcCr)を測定した。

本実験で飲料として用いたアルコールは、アルコール分以外の糖質などの代謝影響を極力避けることができ、かつアルコール濃度が高いために水で希釈しても比較的少量で飲めるという理由からウイスキー(アルコール濃度40%)とした。投与するウイスキーの量は、アルコール分0.5 g/kg体重で換算した量に約5℃の冷水100 mlを加えたものとした。プラセボには、同量のウイスキーを煮沸し、アルコール分を蒸発させたものを用いた。本研究では、血中アルコール濃度の標準的なピークとされる飲用15分後~50分後に測定を行った。

被験者は、すべての実験に先立ち、本研究と同様のプロトコルでのハンドグリップ運動の練習を十分に行った。運動は椅座位で右腕を側方に挙上し、³¹P-MRSのマグネットボア内に挿入した姿勢で、ハンドグリップエルゴメーターのハンドル部を掌握するという方法であった。その際、NIRcwsと³¹P-MRSの両測定において同一部位の骨格筋代謝を測定できるように、両測定装置のプロープ間距離を共に3 cmに統一して、隣接して設置した。事前に測定した等尺性最大随意筋力(MVC)の20%、30%に相当する錘をセットして負荷の調節を行う加重法により、メトロノームのリズムに合わせて運動を行った。各被験者は、アルコール及びプラセボ摂取の25分後から、20% MVCを4秒に1回の頻度で2分間、30% MVCを4秒に1回の頻度で1分間の計3分間の運動を行った。

³¹P-MRSの測定には、横型磁気共鳴分光装置(BEM250/80型、大塚電子社製、2テスラ、ボア径26 cm)を用い、リンの共鳴周波数34.58 Hz、パルス幅60 msecとした。Shimming時の半値幅は0.3 ppm以下であった。被験者の右浅指屈筋群を、

測定台に取り付けられた直径3 cmの表面コイル上に位置するように固定し、その状態でマグネットボア内に腕と測定台を挿入した。2秒に1回採取したシグナルをFourier変換した後、5つ積算することにより10秒に1個のFree-induction decay (FID)を得た。安静時は30 FIDsを積算し、運動時は2 FIDs、回復時は最初の3分間は1 FIDずつ、次の3分間は3 FIDsずつ、最後の4分間は6 FIDsずつの積算によりスペクトルを得た。得られたスペクトルは大塚電子社製フィットプログラムを用いて処理し、PCr, PiおよびATPの各ピーク面積を算出した。PCr濃度の絶対値はPCrと β -ATPの比を用いることで算出した。ATPの濃度は先行研究のbiopsyにより得られた8.2 mmolを用いた⁸⁾。また、筋内pHはPCrを基準としたPiの化学シフト値(α)から、Taylorらの式⁹⁾に基づいて算出した。筋内pHが7.0から大きく低下しない運動後のPCr回復時定数(τ PCr)は、ミトコンドリアの有酸素能を反映することが確認されていることから¹⁰⁾、本研究では τ PCrをミトコンドリア酸化能の指標とした。

NIRcws (OM100, 島津製作所)を用いて、運動中の筋内酸素化ヘモグロビン/ミオグロビン(oxy-Hb/Mb)量の変化(筋酸素化レベル)を測定した。測定法の詳細についてはTamuraら¹¹⁾によって報告されている。本実験で用いたNIRcwsは、プローブとコンピュータの本体で構成され、測定時は本体と解析用のコンピュータ(NEC PC9801)を光ケーブルで接続してリアルタイムでのモニタリングを行った。1つの送光部から発せられた3種類の波長(780, 805, 830 nm)の近赤外光は皮膚を透過して散乱しながら骨格筋組織まで到達し、HbやMbに吸

収された後、受光部に戻ってくる。受光部に戻ってくる光の強さの変化から、Beer-Lambertの法則を利用して、筋組織の酸素化状態を評価する。筋酸素化レベルは安静時のoxy-Hb/Mbのレベルを100%、7分間の動脈血流遮断時におけるoxy-Hb/Mbの最低値を0%として相対値で標準化した¹²⁾。測定は1.5秒間の時間分解能で行った。動脈血流遮断は上腕部に巻いた加圧帯を300 mmHgで加圧することにより行った。アルコールおよびプラセボ摂取後の筋酸素消費量(VO_2 mus)は、動脈血流遮断時のoxy-Hb/Mbの低下率から算出し、摂取前の安静時に対する相対値で表した¹³⁾。

結果で得られた各変数の値は、平均値±標準偏差で表した。各変数の2群間の平均値の差の検定には対応のあるt検定を用い、危険率5%未満($p < 0.05$)を有意とした。

3. 結果

(1) アルコール摂取による筋内PCr, Pi濃度および筋内pHへの影響

安静時の筋内PCr濃度はアルコール摂取時に 31.6 ± 1.7 mM、プラセボ摂取時に 29.8 ± 4.8 mMとなり、両条件間で有意な差は認められなかった(Table 1)。同様に筋内Pi濃度および筋内pHについても両条件間で有意な差が認められなかった。ハンドグリップ運動中の筋内PCr濃度および筋内pHの変化はアルコール摂取時およびプラセボ摂取時にそれぞれ、 -7.8 ± 1.8 mM vs 7.9 ± 0.9 mM, -0.19 ± 0.12 vs -0.18 ± 0.13 となり、両群間で有意な差は認められなかった(Table 2)。ハンドグリップ運動中の筋酸素化レベルについても、アルコール摂取時

Table 1 PCr, Pi, pH and VO_2 mus at rest after alcohol or placebo intake

	PCr (mM)	Pi (mM)	pH	VO_2 mus (folds of pre intake)
Alcohol	31.6 ± 1.7	0.12 ± 0.00	7.04 ± 0.00	$1.05 \pm 0.18^*$
Placebo	29.8 ± 4.8	0.10 ± 0.00	7.04 ± 0.02	1.19 ± 0.13

Values are means \pm SD. *: $p < 0.05$ significant differences from placebo intake.

Table 2 PCr, pH and muscle oxygenation level during exercise

	Δ PCr (mM)	Δ pH	end oxygenation (%)
Alcohol	-7.8 ± 1.8	-0.19 ± 0.12	70.4 ± 21.8
Placebo	-7.8 ± 0.9	-0.18 ± 0.13	59.6 ± 19.4

Values are means \pm SD.

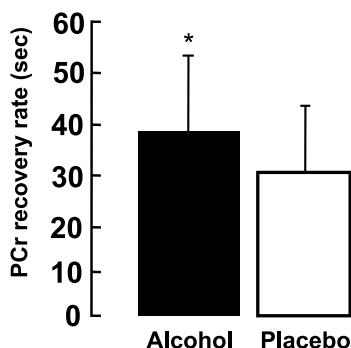


Fig. 1 Rate of PCr recovery in alcohol or placebo intake. Values are means \pm SD. *: $p < 0.05$ significant differences from placebo intake.

に $70.4 \pm 21.8\%$ 、プラセボ摂取時に $59.6 \pm 19.4\%$ となり、両群間で有意な差はなかった。運動後の PCr 濃度の回復時定数 τ PCr は、アルコール摂取時が 38.3 ± 13.9 秒、プラセボ摂取時が 30.2 ± 10.4 秒となり、アルコール摂取により τ PCr は有意に増加したことから、アルコール摂取により骨格筋有酸素能が抑制されることが示された ($p < 0.05$, Fig. 1)。

(2) アルコール摂取による骨格筋安静時代謝量への影響

アルコール摂取後の VO_{2mus} は摂取前の 1.05 ± 0.18 倍、プラセボ摂取後は 1.19 ± 0.13 倍となり、アルコール摂取後はプラセボ摂取後と比較して有意に低値を示し、骨格筋安静時代謝量がアルコール摂取により抑制されることが示された ($p < 0.05$, Table 1)。

4. 考察

本研究の主要な知見は、第1にアルコール摂取により運動後の τ PCr が増加を示したことである。 τ PCr はミトコンドリア酸化能を反映することから¹⁰⁾、急性アルコール摂取によって、骨格筋のミトコンドリアの機能低下が引き起こされることが示唆された。第2に、本研究では安静時骨格筋代謝量がプラセボ摂取後に上昇したのに対し、アルコール摂取時にはプラセボ摂取時と比較して有意に低値を示した。このことは急性アルコール摂取によって、安静時の骨格筋内ミトコンドリアの酸素利用が低下する

ことを示唆している。

(1) 運動時骨格筋ミトコンドリア酸化能

本研究では、アルコール摂取により、運動後の τ PCr が、プラセボ摂取時より平均8秒遅延した。Haida ら¹⁴⁾ の報告では、急性アルコール摂取条件で運動後 τ PCr が遅延しなかったが、それはアルコール投与量が少なかったのが原因であると考察している。PCr の回復に必要な ATP は有酸素的に供給されること、 τ PCr が筋の酸化酵素活性と関連が認められることから、PCr 回復速度は筋のミトコンドリア酸化能の指標となることが知られている¹⁰⁾。以上のことから、急性アルコール摂取によりミトコンドリア機能が低下することが示唆された。先行研究ではアルコールの急性筋障害として、エタノールおよびアセトアルデヒドがミトコンドリア内のグリコーゲン代謝障害を起こすことが報告されている²⁾。Maltinez ら¹⁵⁾ は急性アルコール摂取障害の初期段階として、骨格筋タイプ I 線維の酸化酵素活性が選択的に抑制され、骨格筋の壊死につながる可能性を示唆している。急性アルコール摂取により、ラット骨格筋でのグルコース取り込みが通常の50%まで減少することや、骨格筋内のグルコースの酸化および利用の低下が起こることも報告されている¹⁶⁾。Xu ら⁷⁾ は、急性アルコール摂取によるミオパチーとして、特にインスリン感受性の高い骨格筋タイプ I 線維が選択的に障害され、インスリン刺激性のグルコースの取り込みや酸化の減少、グリコーゲンからのグルコース産生が障害されると報告している。またアルコール摂取が長時間持続されると、ミトコンドリアの機能が阻害されつづけ、不可逆的な慢性ミオパチーにつながる可能性も考えられる。慢性アルコール症患者では健常者と比較して τ PCr が遅延することや、ミトコンドリア酸化能が低下することが報告されている³⁾。さらに、慢性アルコール症患者の場合は安静時、運動中、回復時の pH 低下が報告されているが⁴⁾、本研究においては、プラセボ摂取時と比較して運動中の pH の有意な低下、または運動後の pH 回復速度の有意な遅延は認められなかった。以上より、急性アルコール摂取においては、慢性アルコール摂取による障害である筋内 pH の低下というシビアな影響は引き起こされなかったものの、ミトコンドリア酸化能への影響が生じることは示された。

(2) 安静時骨格筋代謝

プラセボ摂取後に骨格筋のエネルギー代謝が亢進したメカニズムは明らかではない。これに対してアルコール摂取後に、プラセボ摂取後に見られた骨格筋代謝量の上昇が抑制されたのは、アルコールが代謝抑制効果を有するためと考えられる。本研究の結果は、急性アルコール摂取により安静時の骨格筋のグルコース代謝が障害を受けるという先行研究と類似する^{7, 17)}。Xuらは、ヒトにおいて急性アルコール摂取によりNIDDMに似たインスリン抵抗性を示すこと、また血中アルコール濃度上昇によりインスリン刺激性の骨格筋グルコース利用が減少することを報告している⁷⁾。またSpolaricsらは、ラットにおいて、インスリンとエタノール注入条件の方が骨格筋のグルコース利用率がインスリン注入条件に比べて50%減少すること、またインスリンに刺激を受け、グルコースを骨格筋内に取り込むGLUT-4活性がエタノール注入時には増加しないことを報告している¹⁸⁾。このような急性インスリン抵抗性が生じるメカニズムとして、アルコール摂取により、アルデヒドに分解されるまでの中間生成物であるアセテートが肝臓において大量に生じる。そのアセテートが骨格筋内で酸化される際に、脂肪酸の代謝と関連して骨格筋でのグルコース取り込み及び利用を障害することが考えられる。一方、DhillonらはADH阻害剤(4-MP)を使用してもグルコース利用率が減少したままであり、グルコース代謝率には有意な改善が認められないことから、アセテートは必ずしもグルコース利用障害を引き起こさないことを報告している¹⁹⁾。グルコース利用障害に関与すると考えられるアセテート以外の経路として、アルコールの直接的な影響または筋細胞膜のインスリンレセプター異常や、インスリン刺激作用を発現するニューロン遺伝子の障害、筋の脈管への影響、グルコース代謝に関するホルモンへの間接的な影響等が推測される⁷⁾。以上のことより、本研究において安静時代謝量がプラセボでは上昇していたのに対しアルコール摂取によって低値を示したのは、骨格筋において急性インスリン抵抗性が起ったためと推測される。

本研究では血中アルコール濃度を測定しなかったため、アルコール摂取後の血中アルコール濃度変化を確認できなかった。アルコール摂取により心悸亢進や顔面紅潮などのflushing反応には個人差があることが知られている。そのため、血中濃度の個人差

が結果に影響していた可能性もある。したがって、数名の被験者で τ PCrの遅延が認められなかったのは、アルコール生体反応の差により血中アルコール濃度がピークよりも低下していた可能性が考えられる。

急性アルコール摂取による骨格筋代謝への影響について検討した本研究において、1) 骨格筋のミトコンドリアの機能低下を引き起こすこと、2) 安静時の骨格筋内ミトコンドリアの酸素利用を低下させること、が示唆された。以上の結果は、急性アルコール摂取であっても、骨格筋のミトコンドリア機能の低下を可逆的に引き起こす可能性を示唆している。

参考文献

- 1) Fernandez-Sola J., et al.: Significance of type II fiber atrophy in chronic alcoholic myopathy, *J. Neurol., Sci.*, **130**, 69-76 (1995)
- 2) Martin F., et al.: Alcoholic skeletal myopathy, a clinical and pathological study, *Q. J. Med.*, **55**, 233-251 (1985)
- 3) Yazaki K., et al.: Effect of chronic alcohol intake on energy metabolism in human muscle, *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **20**(Suppl), 360A-362A (1996)
- 4) Mayer R. F.: Recent studies in man and animal of peripheral nerve and muscle dysfunction associated with chronic alcoholism, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **215**, 370-372 (1973)
- 5) Klesges R. C., Mealer C. Z. and Klesges L. M.: Effects of alcohol intake on resting energy expenditure in young women social drinkers, *Am. J. Clin. Nutr.*, **59**, 805-809 (1994)
- 6) Weststrate J. A., et al.: Alcohol and its acute effects on resting metabolic rate and diet-induced thermogenesis, *Br. J. Nutr.*, **64**, 413-425 (1990)
- 7) Xu D., Dhillon A. S. and Palmer T. N.: Metabolic effects of alcohol on skeletal muscle, *Addict. Biol.*, **1**, 143-55 (1996)
- 8) Harris, R. C., Hultman E. and Nordesjo L. O.: Glycogen, glycolytic intermediates and high-energy phosphates determined in biopsy samples of musculus quadriceps femoris of man at rest. methods and variance of values, *Scand. J.*

- Clin. Lab. Invest.*, **33**, 109-120 (1974)
- 9) Taylor D. J., et al.: Bioenergetics of intact human muscle. A ^{31}P nuclear magnetic resonance study, *Mol. Biol. Med.*, **1**, 77-94 (1983)
 - 10) McCully K. K., et al.: Relationships between in vivo and in vitro measurements of metabolism in young and old human calf muscles, *J. Appl. Physiol.*, **75**, 813-819 (1993)
 - 11) Tamura T., et al.: New instrument for monitoring hemoglobin oxygenation, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **248**, 103-107 (1989)
 - 12) Hamaoka T., et al.: Noninvasive measures of oxidative metabolism on working human muscles by near-infrared spectroscopy, *J. Appl. Physiol.*, **81**, 1410-1417 (1996)
 - 13) Sako T., et al.: Validity of NIR spectroscopy for quantitatively measuring muscle oxidative metabolic rate in exercise, *J. Appl. Physiol.*, **90**, 338-344 (2001)
 - 14) Haida M., et al.: Mitochondrial dysfunction of human muscle in chronic alcoholism detected by using ^{31}P -magnetic resonance spectroscopy and near-infrared light absorption, *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **22**(Suppl), 108S-110S (1998)
 - 15) Martinez A. J., Hooshmand H. and Faris A. A.: Acute alcoholic myopathy. enzyme histochemistry and electron microscopic findings, *J. Neurol. Sci.*, **20**, 245-252 (1973)
 - 16) Vila L., et al.: Effect of chronic ethanol ingestion and exercise training on skeletal muscle in rat, *Drug Alcohol Depend.*, **64**, 27-33 (2001)
 - 17) Xu D., et al.: Alcohol and glucose metabolism in skeletal muscles in the rat, *Addict. Biol.*, **1**, 71-83 (1996)
 - 18) Spolarics Z., et al.: Acute alcohol administration attenuates insulin-mediated glucose use by skeletal muscle, *Am. J. Physiol.*, **267**, E886-E891 (1994)
 - 19) Dhillon A. S., Xu D. and Palmer T. N.: Acute ethanol-mediated insulin resistance in the rat: the role of ethanol oxidation, *Addict. Biol.*, **1**, 427-435 (1996)