

# 学位論文

L-カルニチンの継続摂取および単回摂取が  
ヒトのエネルギー代謝に及ぼす影響  
Chronic and acute effects of L-carnitine  
supplementation on human energy metabolism

東京農工大学 大学院工学府  
生命工学専攻

2020年3月4日

王堂 哲

## 目次

### 第1章 序章

1.1 L-カルニチンについて	
1.1.1 L-カルニチンの発見から基本機能の解明まで	3
1.1.2 L-カルニチンの体内分布	4
1.1.3 一般的な食材に含有されるL-カルニチン	6
1.1.4 食事からの摂取	6
1.1.5 L-カルニチンの生合成	7
1.1.6 摂取と吸収	8
1.1.7 L-カルニチン摂取の目的と対象分野	9
1.1.8 エネルギー代謝におけるL-カルニチンの役割	10
その1 長鎖脂肪酸のミトコンドリアへの運搬	10
その2 アセチルバッファーと中枢神経への作用	12
1.2 本研究の背景 –メタボリックシンドロームとL-カルニチン摂取	14
1.3 既往の研究と課題および本研究の目的	14
1.4 本論文の構成	16
引用文献	21

### 第2章 (試験1.) 中性脂肪、体重がやや高めの被験者に対する低用量 L-カルニチンの継続摂取効果：体重およびメタボリ ックシンドローム関連指標への影響

2.1 緒言	
本試験の目的と試験デザインの考え方	24
2.2 試験方法	
2.2.1 被験者	26
2.2.2 試験デザイン	26
2.2.3 生化学パラメータの分析	28
2.2.4 統計処理	28
2.3 結果	
2.3.1 被験者のベースライン値の評価	29
2.3.2 動機付けが生活習慣に与える影響	31
2.3.3 L-カルニチンの摂取と動機付けが体重や体格組成に与える 影響	31
2.3.4 試験介入がメタボリックシンドローム関連パラメータに与え る影響	32

2.3.5 安全性に関する評価	34
2.4 考察	36
2.5 結論	42
引用文献	48

### 第3章 (試験2.) 脂肪動員条件下において低用量のL-カルニチン 単回摂取がエネルギー代謝に及ぼす影響

3.1 緒言	
3.1.1 既往の研究と本研究のアプローチ	50
3.1.2 本研究の目的と留意点、試験の構成	52
3.2 試験方法	
3.2.1 被験者	53
3.2.2 試験デザイン	53
3.2.3 ベースライン値の比較	57
3.2.4 生化学パラメータの分析	57
3.2.5 統計処理	57
3.3 結果	
3.3.1 ベースラインの評価	58
3.3.2 L-カルニチンの摂取が npRQ および REE に与える影響	59
3.3.3 npRQ と血中アセチルカルニチン濃度、npRQ と血中 総ケトン体濃度の間における相関	62
3.3.4 血中総ケトン体濃度と血中カルニチン類濃度の間における 相関	62
3.3.5 選択エネルギーが異なる状況下での血中カルニチン類の変化	63
3.3.6 安全性に関する評価	64
3.4 考察	65
3.5 結論	77
引用文献	89

### 第4章 結論と展望

4.1 結論	94
4.2 展望	94
引用文献	95
業績	96
謝辞	99

## 第1章 序論

### 1.1 L-カルニチンについて

#### 1.1.1 L-カルニチンの発見から基本機能の解明まで

1905年にロシアおよびドイツの研究グループは肉汁の中にドラージェンドルフ試薬と反応して有色の沈殿を生じるアミン成分の存在を各々独立に見出した。その物質はラテン語の肉を意味する”carnis-“にちなんで carnitine (カルニチン) と命名された<sup>1)</sup>。それから22年後となる1927年、基本的な化学構造(分子量161.2)が日本人研究者(Tomita and Sendju)によって決定された<sup>2)</sup>(Figure 1)。1943年、Fraenkelらはチャイロコメノゴミムシダマシという昆虫(ミールワームとも呼ばれ生物実験によく用いられる)の幼虫の必須成長因子を発見しその学名 *Tenebrio molitor* に因んでビタミンB<sub>T</sub>と命名したが<sup>3)</sup>、その9年後にはこの成分がカルニチンであること<sup>4)</sup>、さらに天然に存在するカルニチンはその立体配位がL体(R(-)配位)であることが報告された<sup>5)</sup>。1960年代の中盤にかけてはこの分子が担う生理的な主作用が長鎖脂肪酸のミトコンドリアマトリクス内への運搬にあること、すなわち今日知られている基礎的な生化学機能の大要が明らかにされた。

以降数十年を経て今なおL-カルニチンは生化学者、医学者、栄養学者ら極めて幅広い研究者らの興味を惹き続け、脂質エネルギー代謝のみならず先天性欠乏症、運動後の筋肉痛の緩和、男性不妊、女性不妊、AIDS、アルツハイマー病、心筋障害、脳梗塞、糖尿病、肥満症、人工透析合併症などの諸疾患に対する投与効果をはじめ免疫系、抗酸化、抗炎症に対する作用、健全な母体の周産期や精子性状の維持、スポーツ栄養、母豚を中心とした畜産分野への応用に至るまで多様な研究が進められている。

Table 1. L-カルニチンのヒト臓器における分布

臓器	mg/kg	mmol/kg	全体量 (mg)
骨格筋	677	4.2	<u>14,900</u>
肝*	161	1.0	223
心臓	210	1.3	60
腎*	97	0.6	60
脳*	48	0.3	68
血漿	8	0.05	36
精漿	81	0.5	0.4

\*生合成能あり

### 1.1.2 L-カルニチンの体内分布

L-カルニチンは微生物、動植物などほぼあらゆる生物に分布している。ミールワームの成長因子として発見された当初は動物の体内ではつくられない水溶性ビタミンの一種であるとみなされたが、その後生合成される成分であることがわかった。L-カルニチンは生体常在成分でありこれを欠くとミトコンドリアの機能不全がおこり致死的となる。体内のカルニチンプールは成人ひとりあたり 10~20 g と量的にも多くこれに生合成が担保されることにより深刻なレベルでの急性的欠乏症状が生ずることはない。基本的に微量な成分であるビタミンとはこの点でも異なっており現在では条件付き必須栄養素 (conditionally essential nutrient) あるいはビタミン様物質と位置付けられている。

ヒト体内における L-カルニチンの分布は Table 1 に示す通り全身に及んでいるが量的に突出しているのは筋肉 (骨格筋) であり、全体の 90 数パーセント以上を占め

Table 2. 種々食品中に含まれる L-カルニチンの量

<b>A</b> 1,000 mg/kg <	<b>B</b> 100 ~ 500 mg/kg	<b>C</b> < 100 mg/kg
Goat 山羊 2,210	Ground beef 挽き肉 470	Veal liver 牛レバー 92
Leg of lamb 羊 1,900	boar 猪 420	Chicken leg 鶏もも 80
Kangaroo カンガルー 1,660	Sausage ソーセージ 386	Chicken breast 鶏胸 78
Deer 鹿 1,500	Corned beef コンビーフ 320	Eel 鰻 65
Beef roast 牛 1,430	Breast of duck 家鴨 288	Duck liver 家鴨レバー 43
Ostrich 駝鳥 1,280	Lobster ロブスター 270	Caviar キャビア 37
Hare 野兎 1,200	Pork 豚 244	Pork liver 豚レバー 36
Horsemeat 馬肉 1,170	Oysters 牡蠣 243	Mackerel 鯖 32
Veal schnitzel 仔牛 1,050	Breast of squab 雛鳥 211	Salmon 鮭 31
Roast beef ロースト牛 1,010	Lean smoked ham ハム 205	Mussels ムール貝 28
	Pork filet 豚ヒレ 190	Octopus 蛸 21
	Langouste 伊勢海老 154	Pasta パスタ 7
	Turkey 七面鳥 133	Almonds アーモンド 6.7
		Broccoli ブロッコリー 4.8
		Wheat bread パン 3.5
		Eggplant ナス 3.0
		Rice 米 3.0
		Tomatoes トマト 1.1
		Beer ビール 0.6
		Oranges オレンジ 0.1

Human: 650 mg muscle/kg = 10 ~ 20 g/person

ている。血中での存在量は 1 % に過ぎないが本論第 3 章でもふれるようにその動態に関しては種々の研究がある。日本人の血中濃度に関する Takiyama らの報告<sup>6)</sup>によれば新生児では 20 ~ 30  $\mu\text{M}$ 、その後徐々に増加し男性成人 (15 ~ 65 歳) で  $50.3 \pm 7.5 \mu\text{M}$ 、女性成人 (15 ~ 50 歳) で  $41.2 \pm 7.5 \mu\text{M}$  であり性差間には有意差が認められている。一方 L-カルニチンの生理的誘導体であるアセチルカルニチンは運動時や L-カルニチンを経口摂取した場合などには短期的に変動するが、健常者の場合安静時の値は生涯を通じて性差なくおよそ 10 ~ 15  $\mu\text{M}$  と、極めて厳密な恒常性が保たれている。このアセチルカルニチンは糖質および脂質エネルギー代謝の分岐点に位置するアセチル CoA からカルニチンアセチル転移酵素によって生成する。そのためアセチルカルニチンは、ミトコンドリア内に局在しながらエネルギー産生状態に応じて時々刻々増減するアセチル CoA の変動をリアルタイムに反映する場合オマーカーとして利用しえる可能性が考えられる。この問題については主に研究第 3 章で論じるが、例えば Kuratsune

らはc型肝炎や慢性疲労症候群患者では血中アセチルカルニチン濃度が健常者に比べ有意に低下していることを報告している<sup>7)</sup>。また Costell らは種々年代のヒト筋肉中のL-カルニチン濃度について調べ、遊離カルニチン、アセチルカルニチンの双方が加齢とともに減少することを見出している<sup>8)</sup>。

### 1.1.3 一般的な食材に含有される L-カルニチン

種々な食材に含有されている L-カルニチン量を Table 2 に示す。この成分を最も豊富に含んでいるのはヒツジ、ヤギ、ウシなど偶蹄類の赤身肉である。牧草をはじめ一般に植物中の L-カルニチン含量は非常に少ないことからこれら草食動物における生合成能力が相当大きいことが推定される。草食動物が牧草を求めての長距離移動力に富んでいること、また基本的に多産であることなどは L-カルニチンの機能からみても示唆的である。一方、ブタや家鴨など雑食の食性の動物のもつ L-カルニチン含量は草食類のその数分の一、海産動物ではさらに低い含量レベルとなる。また野菜や果物にはほとんど含まれないことも特徴のひとつである。ちなみにヒトの筋肉中濃度は数百 mg/kg であるが、このレベルはわれわれが基本的に雑食性の動物であることと矛盾しない。

### 1.1.4 食事からの摂取

食材中の含有量およびそれらの喫食量のデータをもとにすれば、ある個人や国民・民族などが一日に食事から得ている L-カルニチン量の概数を見積もることができる。筆者らの算定によれば羊肉消費の高いモンゴル、オセアニア諸国の国民で一日あたり 300~400 mg、欧米で 100~250 mg、インドや日本では約 50 mg であった

(Table 3)。屈強な力士を輩出することで有名なモンゴルでは、病氣療養中や疲労時、産後の肥立ちなどに羊の煮汁（シユースとよばれる）を摂ることが励行されている

<sup>9)</sup>。医食同源を旨とする古来の中国の食養生ではさまざまな食材が「からだを温めるも

の」と「冷やすもの」に分類されている。それによればヒツジやウシなどの食材はほぼ「温めるもの」に集中している。このことは古代中国の人々が膨大な食経験をもとに組み上げた食体系の一側面が「L-カルニチンの脂肪燃焼効果」を暗示しているようでもあり興味深い。わが国では食の欧米化が言われて久しいが、L-カルニチンの摂取に関しては日本人の一日摂取量は世界でかなり少ない部類に属する。世界最長ランクの寿命をもつ日本人としては和食の良さを保ちながら時折の動物食肉、サプリメントや機能性食品などの形でL-カルニチンが補えればより高いQOLを伴った健康寿命の延伸が期待されるのではないかと思われる。

菜食主義者の日常食からのL-カルニチン摂取量は相応に少ない。そこから推定されるとおりそれらの人々の血中L-カルニチン濃度は低いことが報告されている<sup>10)</sup>。また現在の医療では肉類の摂取が制限される慢性腎炎、処置の度に血中の75%が失われる人工透析患者などでは適正な外部補給が重要となる<sup>11)</sup>。

### 1.1.5 L-カルニチンの生合成

Figure 2 に示す通りL-カルニチンの生合成ではタンパク質に結合した状態でのリジン残基が出発原料となっており、その遊離アミノ基態窒素分子を基質としてS-アデノシルメチオニンによるトリメチル化反応がおこる<sup>12)</sup>。そののち、5つの反応過程を経てL-カルニチンに至る。最終中間体である $\gamma$ -ブチロベタインまでの合成は筋肉を主とした多くの臓器で行われるが、 $\gamma$ -ブチロベタインをL-カルニチンに変換する酵素( $\gamma$ -ブチロベタイン水酸化酵素)は肝臓、腎臓、脳など限られた臓器にのみ存在している。主として肝臓、腎臓で合成されたL-カルニチンは血流を介して骨格筋、心筋、脳など全身の臓器に分配される。この生合成経路にはビタミンC、鉄イオン、ビタミンB<sub>6</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>12</sub>、葉酸、NADなどのビタミンやミネラル、補酵素が必要である。実際これらの微量成分が欠乏することによってL-カルニチンが不足傾向に陥ることが知ら



Table 3. 日本人が日常の食生活で摂取する L-カルニチン量の推定

食材	食材摂取量 g/day)	カルニチン含有量 (mg/g)	カルニチン (mg/day)
穀類	433.9	0.004	1.7356
いも類	54.1	0.003	0.1623
野菜類	266.5	0.01	2.665
キノコ類	14.7	0.01	0.147
魚介類	72.7	0.05	3.635
牛肉	14	1.43	20.02
豚肉	31.9	0.25	7.975
ハム・ソーセージ	13.1	0.266	3.4846
鶏肉	23.1	0.13	3.003
その他の畜肉	0.1	1.9	0.19
肉類内臓	1.3	0.94	1.222
たまご類	34.8	0.008	0.2784
牛乳	87.7	0.023	2.0171
チーズ	2.6	0.1	0.26
発酵乳	23.8	0.122	2.9036
その他乳製品	8.5	0.12	1.02
補助栄養素	13.2	0.034	0.4488
			<b>51.16</b>

(王堂: 2011年国民栄養調査データをもとに推計)

れている。なお L-カルニチンの外部摂取が本来の生合成に影響を与えることはないと考えられる<sup>13)</sup>。

### 1.1.6 摂取と吸収

一日に身体が要求する L-カルニチンのうちどのくらいの割合が食事など外部補給に依存するかという点については国や民族、個々人による食性の相違から必ずしも一律ではないが「およそ数十パーセント」と考えられる。L-カルニチンは主に小腸から吸収される。吸収率は摂取量が少ないほど高まる。これはこの成分がそれに特有な Na<sup>+</sup>依存型トランスポーター(OCTN2)を介して能動輸送されることによる<sup>14)</sup>。摂取量がトランスポーターの処理余力を上回る場合には受動拡散輸送がおこるがその透過率は低い。能動輸送の場合には 54~87%<sup>15)</sup>、63~75%<sup>16)</sup>などの数値が報告されているが、摂取量が 2,000 mg では 20%にまで低下する。本来の身体的设计システムからすれば本来食肉などに含有される低濃度の L-カルニチン (高々 200 mg/100 g 程度) を捕

捉するためのしくみであるから大用量の摂取で吸収率がみかけ上低下することは想像に難くない。従って吸収率からみた摂取の方法としては一度に大量に摂取するよりも少量を複数回に分けて摂る方法が好都合といえる。日本では厚生労働省により一日摂取の上限目安が 1,000 mg と示されていることから、吸収率に関していえば比較的高い吸収効果が得られるレベルと考えられる。

ヒトではでは摂取後遅くとも 30 分で遊離カルニチンの血中濃度は上昇しはじめ 4~7 時間になだらかなピークが生じたのち緩やかに低下する。シャープなピークが生じない理由は摂取した L-カルニチンが小腸、門脈、肝臓から体循環に至り、腎排泄、腎再吸収（再吸収率は 98 % 以上）を経て静脈血に移行する際、既にそれら通過の過程で全身の組織細胞コンパートメントに広範に移行するもの、そこから逆に血中コンパートメントに分泌されるものが平衡混在しているためと考えられる。

摂取した L-カルニチンの体内での滞留時間は体重 70 kg の成人筋肉で 105 h、心筋で 21 h、脳で 223 h という報告がある<sup>17)</sup>。一方 Furuichi らは L-カルニチンのトランスポーター OCTN2 の発現変化が筋収縮や弛緩に伴い細胞膜できわめて速やかに起こること、またその発現の度合いはヒラメ筋、足底筋、腓腹筋など筋肉の性質によって異なることを報告している<sup>18)</sup>。従って、L-カルニチンの体内動態を考えるとときにはどの筋について、どのような状態や時間軸に着目するのかに留意することが重要である。

#### 1.1.7 L-カルニチンの摂取目的と対象分野

わが国では日本小児科学会から L-カルニチンの欠乏症に関して治療指針が出されている<sup>19)</sup>。欠乏症には大別して主に小児科領域で問題となる先天的なもの、人工透析や L-カルニチンと相互作用をもつ薬剤（抗てんかん薬：バルプロ酸など）を長期投与した場合に起こりえる 2 次性のものがある。

健常人が摂取する食品としてのL-カルニチン摂取を考える場合には例えば以下のようなケースが対象となり得る。

- ①     メタボリックシンドロームおよびその予備軍層<sup>20)</sup>  
内臓脂肪が過剰となっているためその消費を促すことを目的とする。
- ②     過体重から適正体重を目指したい場合<sup>20)</sup>  
上記①の観点に加え、膝関節への負担などの軽減を目的とする。
- ③     高齢者  
加齢とともに体内L-カルニチンは減少する<sup>8)</sup>。また生活活動に関して自立度のたかい高齢者ほど血中L-カルニチン濃度が高いことも知られている<sup>21)</sup>。
- ④     ベジタリアン<sup>10)</sup>  
日常食からの摂取が低い為それを補う。
- ⑤     周産期の女性<sup>22)</sup>および幼児<sup>23)</sup>  
出産期の妊娠糖尿病の防止、妊娠中にL-カルニチン濃度が低下する場合の補給。幼児では生合成能力が伴わない時期離乳後における補給。
- ⑥     精子性状に懸念のある男性<sup>24)</sup>  
精液中濃度の低下と精子性状には相関が認められる。
- ⑦     アスリートまたはスポーツ愛好者<sup>25)26)</sup>  
通常の生存レベルよりも身体が高まる場合その筋損傷の抑制や修復を通じて過度な筋肉痛を抑制する。

### 1.1.8 エネルギー代謝におけるL-カルニチンの役割

#### その1 長鎖脂肪酸のミトコンドリアへの運搬

脂質（脂肪酸）と糖質（グルコース）はヒト栄養素にあって2大エネルギー源である。このうちグルコース（グリコーゲン）の体内備蓄量が限られているもの

の、水で満たされた血液や細胞質にはなじみやすい手軽な水溶性燃料である。それに対し脂肪はほぼ無制限体内に備蓄し得るメリットを有するものの、本来体液とは相容れない脂溶性であるため通常はグリセリンエステル形態をとり輸送に際してはタンパク質に包み込まれた形（リポタンパク質、カイロミクロン複合体）で存在している。従ってこれを燃料として使いこなすためには糖質よりも多くの手順が必要となる。とくに細胞の中のエネルギー産生機関にあたるミトコンドリアの内部マトリクスは活性酸素が飛び交うコンパートメントである為物質の出入りは内膜の透過選択性によって厳重に制御されている。燃料としての脂肪は最終的には遊離した脂肪酸分子としてミトコンドリアマトリクスに到達する必要があるが、それ（遊離脂肪酸分子）自身が界面活性をもっているため繊細なミトコンドリア膜に接触すると膜透過性遷移誘導がおこり遷移孔が発生してその構造自体の破たんを招く<sup>27)</sup>。そこでL-カルニチンはミトコンドリア内膜の手前で転移酵素(CPT-1: carnitinepalmitlyl transferase-1)によって遊離脂肪酸（アシル基）を受容しアシルカルニチンとなる。この形態で carnitine translocase の基質となり内膜通過が可能となる。通過し終えたL-カルニチンは再びアシル基（脂肪酸分子）をCPT-2（carnitinepalmitoyl transferase-2、CPT-1と逆の反応を触媒する）に受け渡し、自らはもとの位置（内膜と外膜の間隙）に回帰する。このようにL-カルニチンはミトコンドリア膜を介した精密な手続きを経て行き来しながら過激な分子である長鎖脂肪酸を運搬する役割を担っている。このサイクル系は「カルニチンシャトル（シャトル”shuttle”はもともと往復運動を繰り返す装置である機織り機の「杼（ひ）」という部品を意味する）」と呼ばれL-カルニチンの最も基本的な生理機能であると考えられている(Figure 3)。L-カルニチンを10日間経口摂取することによって脂肪燃焼が高まることが安定同位体標識した脂肪酸プローブを使ったヒト試験で証明されている<sup>28)</sup>。このカルニチンシャトル全体の回転速度を決定している調節酵素はCPT-1であるが、この酵素遺伝子の発現はTCAサイクルの中のクエン酸からつくられ

る脂肪酸合成の中間体（マロニル CoA）によって抑制される。これにより、クエン酸が過剰に生成している状態がエネルギー過剰状態であるとみなされるためそれ以上無駄に燃料を消費しないような仕組みとなっている。この点については第3章で論じる。

## その2 アセチルバッファーと中枢神経系での働き

ミトコンドリア内にもたらされた遊離脂肪酸は CoA と結合して活性化を受けたのち  $\beta$ -酸化を受ける。 $\beta$ -酸化の最終代謝産物であるアセチル CoA は TCA サイクルのオキサロ酢酸と結合することで回路に組み込まれ、好氣的で巨大なエネルギー産生に向かう。一方アセチル CoA は解糖系（グルコース）からも生じる。つまりアセチル CoA は脂質からも糖質からももたらされるエネルギー代謝の交差点に位置している。アセチル CoA が円滑に TCA サイクルへ移行しているときには何ら問題は起こらないが、ひとたびこれが過剰に生産されると遊離 CoA が不足して代謝が停滞してしまう。この停滞はミトコンドリア内部でおこるが、ここに L-カルニチンが十分に存在すれば過剰なアセチル CoA からアセチル基を受け取ってアセチルカルニチンとなり血中に移行する。これによって遊離 CoA 量に余力が生まれると代謝の渋滞は緩和され円滑なエネルギー産生が再開される。このような働きは「L-カルニチンのアセチルバッファー作用」と呼ばれる。アセチル CoA の過剰な蓄積が生じるケースとしては、激しい運動を急激に行った場合、空腹時（飢餓時）などが挙げられる。また糖尿病はグルコースの細胞内取り込みが不全に陥る結果糖質をエネルギー源として利用できなくなる疾病であるが、この場合のエネルギー調達も専らアミノ酸からの糖新生もしくは脂肪酸の  $\beta$ -酸化によらねばならない。パルミチン酸など代表的な脂肪酸 1 分子が  $\beta$ -酸化を受けると 8 分子ものアセチル CoA が生じるので、ミトコンドリア内では遊離 CoA のストックが慢性的に不足に陥り渋滞を誘発しやすくなっている。Muio らはアセチル転

移酵素を欠いたノックアウトマウスを用いた試験ならびに糖尿病患者、培養細胞を用いた系統的な実験を通じてアセチル CoA の過剰蓄積を通じて理論通りエネルギー代謝の渋滞が起こること、またその渋滞が L-カルニチンの補給によって解消され、疲労感やグルコース耐性などが改善されることを示した<sup>29)30)</sup>。

L-カルニチンはミトコンドリアへの遊離脂肪酸の運び入れという上流側での働きだけを演じているのではなく下流にある渋滞頻発箇所（アセチル CoA 発生箇所）で交通整理のように糖質代謝とのバランスを整え、停滞を緩和することにも重要な役割を担っている。この点については第 3 章で論じる。

以上述べたようにアセチルカルニチンの生成はミトコンドリア内での遊離 CoA の再供給を行う上で重要である。血中に出たアセチルカルニチンは尿中排泄を受けることにより恒常的に血中濃度が調整されているものと思われる。この考えによればアセチルカルニチンは一種のエネルギーの排泄メディエーターであるととらえることもできる。一方、既述のようにアセチルカルニチンの血中濃度は慢性疲労症候群の患者や c 型肝炎の患者では健常人に比較して有意に低いことが報告されている。アセチルカルニチンは血液脳関門に発現する OCTN2 を介して脳に至り、脳の一定の座位に局在的に分布する。またアセチルカルニチンを積極的に投与することによって脳機能が改善されることも報告されている。Figure 4. に示すようにアセチルカルニチンは神経伝達物質であるアセチルコリンや神経作用アミノ酸の一種である GABA やその前駆体としてのグルタミン酸などとの構造類似性が指摘できる点で極めて興味深いが、実際 Ando らはアセチルコリン代謝に注目し、認知症モデルラットを用いたアセチルカルニチンの脳機能について報告している<sup>31)</sup>。ここでは脳シナプスにおけるコリンの取り込み→アセチルコリンの合成→アセチルコリンのシナプスからの放出という一連のプロセス（代謝回転）がアセチルカルニチンの投与により促進されることが示され、Hebb-Williams 課題迷路を用いた学習能力の向上が 19 月齢のラットで確認されて

いる。また Reichenbach らは CoA を介してアセチルカルニチンと L-カルニチンの転移反応を触媒する酵素 (carnitine acetyltransferase : Crat) が脳内アグーチ関連ペプチド (agouti-related peptide : AgRP) に関与する神経細胞中に発現しており食欲の制御に一定の役割を演じていることを報告している<sup>32)</sup>。

## 1.2 本研究の背景 –メタボリックシンドロームと L-カルニチン摂取

メタボリックシンドロームは糖尿病や脂質異常症、心筋梗塞などに至る前駆段階としての複合的かつ潜在的なリスクステージとして国家的な健康ケアターゲットと位置付けられてきた<sup>33)</sup>。メタボリックシンドロームは主に過剰な内臓脂肪の蓄積によって引き起こされるため予防的観点からの第一選択的な対応策として、食事療法と運動療法による体重管理が重要であると考えられている。肥満を治療するための承認薬は非常に少なく、また長期的な有効性には限界が認められる<sup>34-35)</sup>。シブトラミン<sup>36)</sup>やオルリスタット<sup>37)</sup>などはそのような薬剤であるが下痢、高血圧、不眠症などの副作用を伴う懸念も指摘される。

このような観点から脂質代謝関連成分である L-カルニチンは生体常在成分であり副作用なく長期摂取しても安全な食品成分であり、その作用機序が基本的なブロッカーやインヒビターである薬物療法よりも安全性の点で懸念がないと考えられる<sup>38-41)</sup>。Pooyandjoo らは L-カルニチン摂取が体重コントロールに対する影響について 9 件の報告を対象としたメタアナリシスを実施し有意な体重減少効果が得られることを結論付けている<sup>20)</sup>。

## 1.3 既往の研究と課題および本研究の目的

L-カルニチンに関する臨床試験例は極めて多いが、摂取量についてみると代表的なシステマティックレビューで取り上げられた計 66 件のヒト臨床試験において 1,000 mg/日の用量で行われた事例は 4 件 (6.1%) にすぎず、大半は 2,000 mg/日が用い

られている<sup>20)</sup>。例えば前項にふれた Pooyandjoo らによる減量効果に関するメタアナリシス<sup>20)</sup>で評価対象とされた臨床試験での投与量は 1.8~4 g/日であった。摂取量が概して高用量である理由としては L-カルニチンの安全性がそのような用量範囲で担保されていること、また医薬品として使用されている用量が類似の範囲であることとも関連しているものと思われる。安全性が確認されているという前提であれば効果の可否を評価する上において敢えて低用量での試験が組まれることも考え難い。さらに、L-カルニチンが生体異物ではなく生合成される常在成分であることや、過体重の原因となる体脂肪の動態が個々人の食事や運動の習慣の影響を受けやすいことも大量摂取が臨床試験デザインの趨勢となる背景となっているであろう。換言すれば L-カルニチンは「最小有効摂取量」について単純明瞭なカットオフ値を得にくい成分であるともいえる。

日本における L-カルニチンの外部補給は乳幼児を中心にみられる希少疾患（先天性欠乏症）に対する治療を目的として用いられてきた。しかしながらサプリメント成分として海外で長らく使用されてきた実績から 2002 年、厚生労働省による食薬区分見直しの結果食品成分としての利用が認められるようになった。ただし当該認可の際、これがダイエットなどで関心の高い脂肪燃焼に関連する成分であること、また医薬品としても併用されていることから一般健常被験者が安易な期待を抱いて過剰摂取することについて一定の留意が必要である旨の見解が提示された。具体的には一日摂取上限として 1,000 mg を目安とすることとなっている<sup>42)</sup>。健康補助食品は疾病の治療を目的としていないこと、また一般的な食品からの摂取に鑑みて 1,000 mg/日が十分量（既述のように日本においては一般食品からの摂取が 50 mg 程度と見積もられる）であると考えられることなどからこの上限目安を順守する形で製品は流通している。1,000 mg/日以下で行われた臨床試験が圧倒的に少ないという背景は L-カルニチンの既往研究における大きな限界のひとつであり、効果に対するエビデンスの担保という観



点に鑑みて本成分の普及に関する限定要因ともなっている。

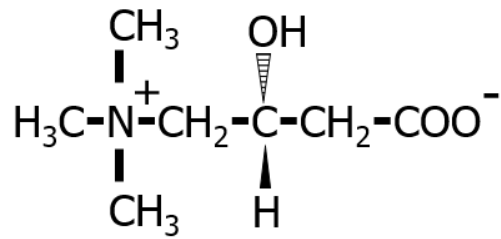
以上の既往研究の背景に基づき、本研究では低用量での L-カルニチン摂取の有効性について検討することを主要な目的のひとつとした。

#### 1.4 本論文の構成

第 2 章では（試験 1）中性脂肪、体重がやや高めの被験者に対し低用量の L-カルニチンを継続摂取した場合の体重およびメタボリックシンドローム関連指標への影響について「生活習慣上の動機付け」を伴った場合とそうでない場合とを比較検討した結果について報告する。

第 3 章では（試験 2）脂肪動員条件下および脂肪動員のない状況において低用量の L-カルニチンの単回摂取がエネルギー代謝に及ぼす影響について検討した結果について報告する。また、アセチルカルニチンの血中濃度の変動にも焦点をあて、エネルギー枯渇時におけるアセチルカルニチンの役割について中枢神経との関連からも考察を加える。

第 4 章では、本研究で得られた結果をもとに実際の臨床応用の観点から考察し結論を与えたのち今後の研究の展望について述べる。

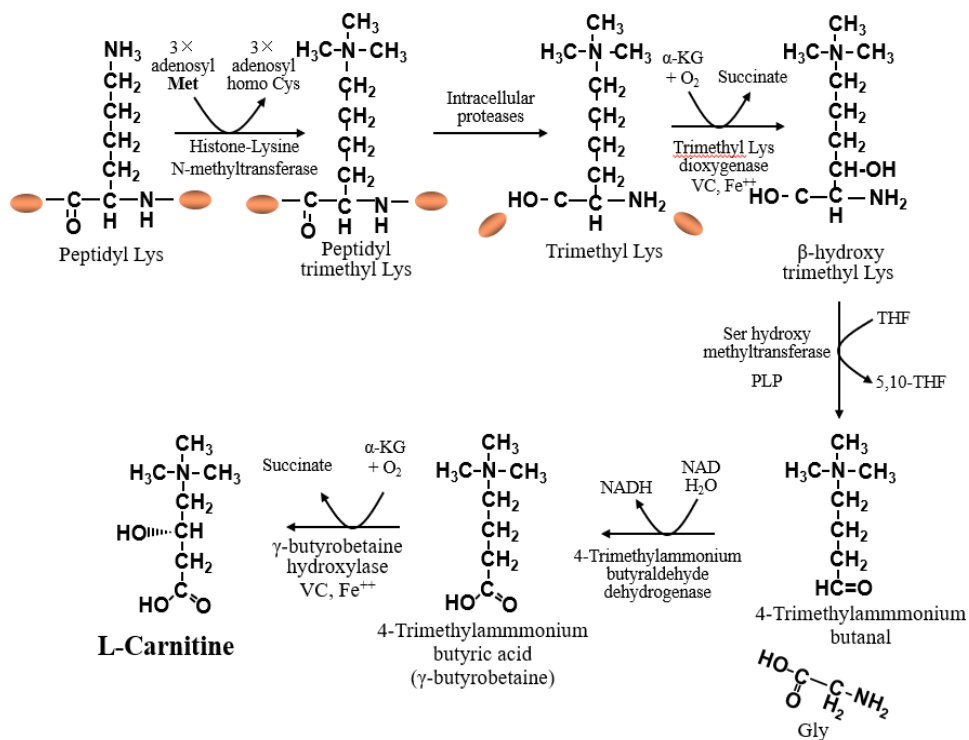


**R(-)- $\gamma$ -trimethyl amino- $\beta$ -hydroxybutyric acid  
L-Carnitine**

[CASRN: 541-15-1]

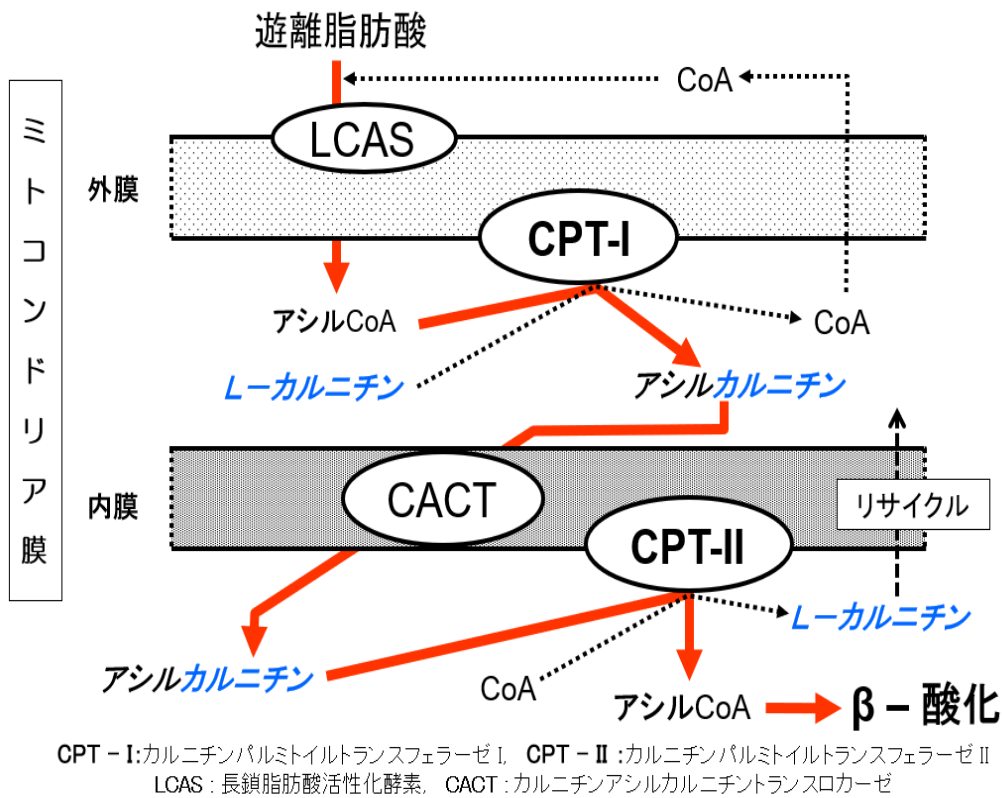
- 分子量 161.2,
- 比旋光度  $-32.0^\circ \sim -30.0^\circ$  (Na-D, 25°C, c=10, 水溶液)
- 融点: 180 ~ 190°C
- 水溶解度: 250 g/100 ml 以上 (20°C)
- 1905年肉汁中から発見された成分 (Carnis-:ラテン語で肉の意味)
- 4級アンモニウム塩、コリン誘導体、リジン誘導体
- 常温で無色、無味無臭の白色の結晶性粉体

Figure 1. L-カルニチン分子とその特徴



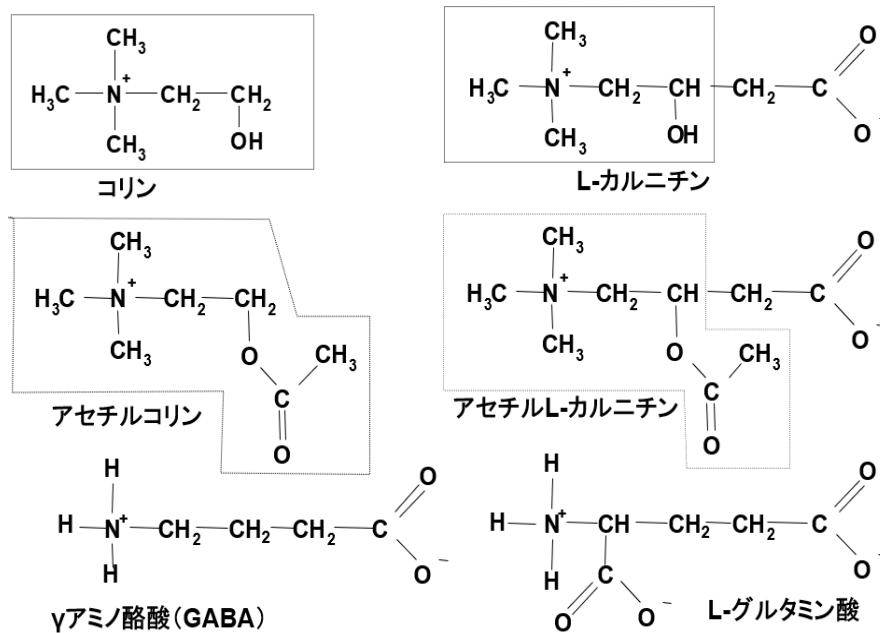
**Figure 2. L-カルニチンの生合成経路**

L-カルニチンの生合成ではタンパク結合性のリジンが初発基質となる。メチオニンによってトリメチル化されたのち、5ステップを経て L-カルニチンとなる。最終中間体のγ-ブチロベタインまでは筋肉などでも生合成されるが、それを L-カルニチンに転換する酵素（γ-butyrobetaine hydroxylase）は肝臓、腎臓、脳など限られた臓器にのみ分布している。



**Figure 3. L-カルニチンによる長鎖遊離脂肪酸のミトコンドリア内への運搬**

遊離脂肪酸は LCAS によって CoA と結合して活性化される。その後 CPT-1 によってアシル CoA からアシル基が L-カルニチンに転移されアシルカルニチンが生成する。アシルカルニチンは CACT によってミトコンドリアマトリクスに移動する。そこで CPT-II の触媒作用によりアシル基を CoA に受け渡すことによって遊離脂肪酸が内膜を通過できたことになる。L-カルニチンはその後内膜の外へ出てリサイクルされる。



**Figure 4.** カルニチン、コリンおよび各アセチル体、類縁神経伝達物質の化学構造の比較

L-カルニチンは同じく4級アンモニウム塩のコリンの誘導体とも考えられる。L-カルニチンもコリンも同じ部位にある水酸基がアセチル化され、各々のアセチル体ができる。これらはともに神経伝達物質として重要な役割を演じている。また神経関連アミノ酸であるグルタミン酸やGABAなども類縁であり脳内ではアセチルカルニチンはGABAに転換することが知られている。

## 引用文献

- 1) Gulewitsch Wl, Krimberg R. 1905. Zur Kenntnis der Extractivstoffe der Muskeln. *Z Physiol Chem.* 45: 326-330.
- 2) Tomita M, Sendju Y. 1927. Über die Aminoverbindungen, welche die Biuretreaktion Zeigen. III. Spaltungen der  $\gamma$ - Amino- $\beta$ -oxybuttersäure in die optisch aktiven Kouponenten. *Z Physiol Chem.* 169, 263-277
- 3) Fraenkel G, Blewett M. 1943. The basic food requirements of several insects. *J Exp Biol.* 20, 28-34. (1943)
- 4) Carter HE, Bhattacharyya PK, Weidman KR, Frankel G. 1952. Chemical studies on vitamin B<sub>12</sub>. Isolation and characterization as carnitine. *Arch Biochem Biophys.* 38, 405 - 416 (1952)
- 5) Carter HE, Bhattacharyya PK. 1953. Improvements in the synthesis of DL-carnitine. *J Am Chem Soc.* 75, 2503-2504
- 6) Takiyama N, Matsumoto K. 1998. Age- and Sex-Related Differences of Serum Carnitine in a Japanese Population. *J Am Col Nutr.* 17, 71-74
- 7) Kuratsune H, Yamaguti K, Lindh G, Evengard B, Takahashi M, Machii T, Matsumura K, Takaishi J, Kawata S, Langström B, Kanakura Y, Kitani T, Watanabe Y. 1998. Low levels of serum acylcarnitine in chronic fatigue syndrome and chronic hepatitis type C, but not seen in other diseases. *Int J Mol Med* 2, 51-56 doi: 10.3892/ijmm.2.1.51
- 8) Costell M, O'Connor JE, Grisolia S. 1989. Age dependent decrease of carnitine content in muscle of mice and human. *Biochem Biophys Res Commun* 161, 1135-1143
- 9) 小長谷有紀. 2005. 『モンゴル』 世界の食文化 3, 農文協刊
- 10) Sachan DS, Daily JW, Munroe SG, Beauchene RE. 1997. Vegetarian elderly women may risk compromised Carnitine status. *Veg Nutr* 1, 64-69
- 11) 王堂 哲. 2008. 広がりつつあるサプリメントを理解する – 腎不全患者に活用するために『臨床透析』 24 (13) 1758-1760
- 12) Vaz FM, Wanders RJ. 2002. Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem J* 361, 417-429, doi: 10.1042/0264-6021:3610417.
- 13) Rebouche CJ. 1983. Effect of dietary carnitine isomers and gamma-butyrobetaine on L-carnitine biosynthesis and metabolism in the rat. *J Nutr.* 113 (10), 1906-1913
- 14) Tamai I, Ohashi R, Nezu JI, Sai Y, Kobayashi D, Oku A, Shimane M, Tsuji A. 2000. Molecular and functional characterization of organic cation/carnitine transporter family in mice. *J Biol Chem* 275, 40064-72 doi:
- 15) Stadler DD, Chenard CA, Rebouche CJ. 1993. Effect of dietary macronutrient content on carnitine excretion and efficiency of carnitine reabsorption. *Am J Clin Nutr* 58 (6), 868-872 (1993)

- 16) Rebouche CJ. 1991. Quantitative estimation of absorption and degradation of a carnitine supplement by human adults. *Metabol* 40, 1305-10
- 17) Reuter SE, Evans AM. 2012. Carnitine and acylcarnitines, pharmacokinetic, pharmacological and clinical aspects. *Clin Pharmacokinet* 51, 553-572
- 18) Furuichi Y, Sugiura T, Kato Y, Takakura H, Hanai Y, Hashimoto T, Masuda K. Muscle contraction increases carnitine uptake via translocation of OCTN2. 2012. *Biochem Biophys Res Commun*. 418, 774-779
- 19) 日本小児科学会ほか編 『カルニチン欠乏症の診断・治療指針 2016』
- 20) Pooyandjoo M, Nouhi M, Shab-Bidar S, Djafarian K, Olyaeemanesh A. 2016. The effect of (L-)carnitine on weight loss in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev* 17, 10, 970-976. doi: 10.1111/obr.12436.
- 21) 高橋美知代、鈴木利和、松本光、金子健彦、額田均、橋詰直孝. 2014. 長期入院高齢者におけるL-カルニチンおよびCoQ10血中レベルは自立高齢者よりも低値を示す *New Diet Therapy* 30, 23 – 33
- 22) Mitchell ME, Snyder EA. 1991. Dietary carnitine effects on carnitine concentrations in urine and milk in lactating women. *Am J Clin Nutr*, 54, 814-820
- 23) Crill CM & Helms RA. 2007. The use of carnitine in pediatric nutrition. *Nutr Clin Pract* 22, 204-13
- 24) Fayeza A., Nassarb A., Shaeera O., Fayeka S. 2011, Effect of L-carnitine on the sperm motility in ejaculated semen and cervical mucus, *Human Androl*, 1, 83-87
- 25) Wall BT, Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Marimuthu K, Macdonald IA, Greenhaff PL. 2011. Chronic oral ingestion of L-carnitine and carbohydrate increases muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans. *J Physiol* 589, 963-973.
- 26) Kraemer WJ, Volek JS, Dunn-Lewis C. 2008. L-carnitine supplementation: influence upon physiological function. *Curr Sports Med Rep*, 7, 218-223
- 27) Oyanagi E, Yano H, Uchida M, Utsumi K, Sasaki J. 2011. Protective action of L-carnitine on cardiac mitochondrial function and structure against fatty acid stress. *Biochem Biophys Res Commun* 412, 61-67. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.07.039.
- 28) Wutzke KD, Lorenz H. 2004. The effect of l-carnitine on fat oxidation, protein turnover, and body composition in slightly overweight subjects. *Metabol* 53, 1002-1006.
- 29) Seiler ES, Seiler SE, Koves TR, Gooding JR, Wong KE, Stevens RD, Ilkayeva OR, Wittmann AH, DeBalsi KL, Davies MN, Lindeboom L, Schrauwen P, Schrauwen-Hinderling VB, Muoio DM. Carnitine acetyltransferase mitigates metabolic inertia and muscle fatigue during exercise. *Cell Metabolism* 22, 65-76 (2015)
- 30) Muoio DM, Noland RC, Kovalik JP, Seiler SE, Davies MN, DeBalsi KL, Ilkayeva OR,

- Stevens RD, Kheterpal I, Zhang J, Covington JD, Bajpeyi S, Ravussin E, Kraus W, Koves TR, Mynatt RL. 2012. Muscle-specific deletion of carnitine acetyltransferase compromises glucose tolerance and metabolic flexibility. *Cell Metab* 15, 764-77. doi: 10.1016/j.cmet.
- 31) Ando S, Tadenuma T, Tanaka Y, Fukui F, Kobayashi S, Ohashi Y, Kawabata T. 2001. Enhancement of learning capacity and cholinergic synaptic function by carnitine in aging rats. *J Neurosci Res*, 66, 266-271
- 32) Reichenbach A, Stark R, Mequinion M, Lockie SH, Lemus MB, Mynatt RL, Luquet S, Andrews ZB. 2018. Carnitine acetyltransferase (Crat) in hunger-sensing AgRP neurons permits adaptation to calorie restriction. *FASEB J*. 32, 6923-6933
- 33) Pagotto U, Vanuzzo D, Vicennati V, Pasquali R. 2008. "Pharmacological Therapy of Obesity," *Giornale Italiano di Cardiologia (Rome)*, 9, (4), Suppl 1, 2008, 83S-93S.
- 34) Weigle DS. 2003. Pharmacological therapy of obesity: past, present, and future, *J Clin Endocrinol Metabol*, 88, 2462-2469. doi:10.1210/jc.2003-030151
- 35) James WP, Caterson ID, Coutinho W, Finer N, Van Gaal LF, Maggioni AP, Torp-Pedersen C, Sharma AM, Shepherd GM, Rode RA, Renz CL. 2010. Effect of sibutramine on cardiovascular outcomes in overweight and obese subjects, *New Engl J Medicine*, 363, 905-917.
- 36) Scheen AJ. 2010. Cardiovascular risk benefit profile of sibutramine, *Am J Card drugs*, 10, 321-334. doi:10.2165/11584800-000000000-00000
- 37) Li M, Cheung BM. 2009. Pharmacotherapy for obesity, *Brit J Clin Pharmacol*, 68, 804-810.
- 38) Rubin MR, Volek JS, Gomez AL, Ratamess NA, French DN, Sharman MJ, Kraemer WJ. 2001. Safety measures of L-carnitine L-tartrate supplementation in healthy men, *J Stren Cond Res*, 15, 486-490.
- 39) Hurot JM, Cucherat M, Haugh M, Fouque D. 2002. Effects of L-carnitine supplementation in maintenance hemodialysis patients: A systematic review. *J Am Soc Nephrol* 13, 708-714.
- 40) Serban MC, Sahebkar A, Mikhailidis DP, Toth PP, Jones SR, Muntner P, Blaha MJ, Andrica F, Martin SS, Borza C, Lip GYH, Ray KK, Rysz J, Hazen SL, Banach M. 2015. Impact of L-carnitine on plasma lipoprotein(a) concentrations: A systematic review and metanalysis of randomized controlled trials. *Scientific Rep* 6:19188|DOI:1038/srep19188
- 41) Fielding R, Riede Linda, Lugo JP, Bellamine A. 2018. L-carnitine supplementation in recovery after exercise. *Nutrients*, 10, 349; doi:10.3390/nu10030349
- 42) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長 平成 26 年 3 月 14 日  
 「「医薬品的効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）」の食品衛生法上の取扱いの改正について」の一部改正について。食安基発 0314 第 1 号



## 第2章 (試験1.) 中性脂肪、体重がやや高めの被験者に対する低用量 L-カルニチンの継続摂取効果：体重およびメタボリックシンドローム関連指標への影響

### 2.1 緒言

#### 本試験の目的と試験デザインの考え方

食品成分としての L-カルニチンについてその脂肪燃焼効果をヒト試験で検証しようとする際に留意すべき事項として以下の諸点が挙げられる。第一に、この成分が生合成されるほか通常の食事からも摂取されることである。また生体常在成分でもあり成人一人あたりの保有量は 15~20 g にも及ぶ。第二に、L-カルニチンは本来医薬品のような生体異物ではなくブロッカーでも酵素阻害剤でもない。また先天的なものや人工透析などがもとになっておこる二次性のものを除き、一般健常人ではビタミンや必須アミノ酸、ミネラルのように栄養学的な欠乏症がみられるわけでもない。これが明瞭な生理機能の検出を困難なものにする第二の要因である。第三に、L-カルニチンの基本的な生理機能であるエネルギー代謝は基本的に食習慣、運動習慣などの影響を受けやすく、得られた効果がどのファクターに起因するものであるかを特定しにくいことが挙げられる。第四に、最終的にアウトカムをえるためには長期間を要することである。これらのうち第三、第四の点はとくに L-カルニチンに特異的な事情とはいえないが、いずれにせよこれらの課題を総合的に解決する方法としては(i) 投与量を安全上可能な限り高めに設定すること、(ii) 摂取期間を長期に設けること、(iii) 徹底的な監視介入を行うことなどが考えられる。L-カルニチンがきわめて水溶性の高い物質であり余剰が生ずればすみやかに尿排泄を受ける。この点は安全性の側面からは非常に好ましいが、臨床試験計画者においては摂取レベルを引き上げるきっかけとなりやすい。また長期間の試験ではコンプライアンスの保持が常に問題となるし、摂取のみな

らず生活習慣を含めて徹底した監視のもとに介入を行うことは実施手技上現実的ではない。

第1章の序論で述べたように日本ではサプリメントなど食品分野でL-カルニチンを用いる場合には一日摂取上限の目安を1,000 mgとすることが厚生労働省からアナウンスされているが、実際のところこの上限を超えない摂取量で行われた臨床試験はこれまでのところ世界的にみてもほとんど行われておらず、実用上大いに課題を残すものであった。本試験ではこの点を勘案し以下のような基本試験デザインを組んだ。被験者をまず定法通りL-カルニチン摂取群とプラセボ摂取群に2分割した後、さらに各群を動機付けあり（モチベーションを喚起し行動変容を促した群）と動機付けなし（特別なことを行わず被験品を摂取する群）に区分けし、合計4群の比較を行うことによって運動や食習慣の影響を減殺しながら評価することとした。摂取量はL-カルニチンとして500 mg（L-カルニチン酒石酸塩<sup>※</sup>として750 mg）を用い、中性脂肪値がやや高めの健常人における体重および血中の生化学パラメータの変化を主要アウトカムとした。

※（補注）

L-カルニチン酒石酸塩：L-カルニチンは常温で粉体であるが潮解性を有する。通常のハードカプセルや錠剤として製剤化する目的から酒石酸とともに再結晶を行い、潮解性のないL-カルニチンの酒石酸塩として製造したものである。酒石酸塩はL-カルニチン2分子に対しL-酒石酸が1分子配位している。摂取後消化管内で速やかに塩は乖離して吸収され、その後体内ではL-カルニチンとして挙動する。L-カルニチン原体とともにL-カルニチン酒石酸塩も厚生労働省により食品成分としての利用が認められている。

## 2.2 試験方法

### 2.2.1 被験者

被験者に対しては、スクリーニングの前に書面によるインフォームドコンセントを提供した。本試験は論文著者らによって計画され(株)SOUKEN／芝パレスクリニックに委託して実施された。受託者は芝パレスクリニック倫理審査委員会を設置し、その承認の下試験計画書並びに「ヘルシンキ宣言」に基づく倫理的原則に準じて実施した。

被験者のスクリーニングは(株)SOUKEN にパネルとして登録されている 97 人の (20～60 歳) 日本人男性被験者を母集団とし、BMI：25-28 kg/m<sup>2</sup>、トリグリセリド (TG)：150-350 mg/dL、腹囲長：85-100 cm の範囲にある 24 名の運動習慣のない男性被験者を選定した。

### 2.2.2 試験デザイン

本試験は、二重盲検無作為化プラセボ対照試験 (RCT 試験) として実施した。これら被験者を L-カルニチン摂取群 (以下 C と略：L-カルニチン酒石酸 (ロンザジャパンより提供) を 1 粒あたり 190 mg 封入したゼラチンハードカプセル製剤。L-カルニチンとして 125 mg 相当を含有) およびプラセボ摂取群 (以下 NC と略：C 群と同等の見かけとしたセルロース粉末含有ゼラチンハードカプセル製剤) に群分けした。被験品は朝食後に 4 カプセル (L-カルニチンとして 500 mg) を水 100 ml とともに摂取した。各群は、さらにモチベーション群 (以下 M 群と略) と非モチベーション群 (以下 NM 群と略) のふたつのグループに分割した。M 群に対して行った動機付けプロセスは以下の方法によって二重盲検的に実施した。まず試験開始前の訪問時に各被験者は試験委託者と 30 分間の個別面談を行い「L-カルニチンの脂肪燃焼効果の概略」「肥満がもたらす健康リスク」「健康のために理想的な食と運動習慣」の 3 点について一律

の説明を行った。また試験期間中は日常生活の中で簡便に選択しえる動作（通勤等日常生活の中でエスカレーターのかわりに階段を利用する）などについても指導を行った。さらに、空腹時に適度の軽食を摂取することでリバウンドを抑えながらカロリー摂取量を 1,500~1,800 kcal にコントロールする手法について説明した。また万歩計、体重計を貸し出し日々の記録を行うように依頼した。被験品摂取開始の 7 日前および終了までの 7 日間の食物摂取を報告するよう依頼した。グループ M については試験開始後 2 週間目時点において各人 15 分間のフォローアップ面談を個人ごとに行い指示内容の順守状況について報告を受けるとともに後半に向けての生活習慣のポイントについて初回面談時の内容に基づいて相互確認を行った。

ベースライン値及び被験品摂取後 4 週間目時点で以下の項目について測定した。体脂肪率：インピーダンス測定（Body 3.2、BIOSPACE Co.、Ltd.、韓国）、安静時代謝 REE：呼気ガス分析器（間接熱量計）（Vmax29s、Sensor Medics Co.）、血液生化学分析（以下の生化学パラメータに記載）。動機付けを行った喚起群（M 群）に対しては食事記録、体重、運動量に関する諸記録を回収した。エネルギー摂取量は回収した食事記録をもとに市販のダイエット調査ツール（Excel 栄養君 Ver. 4.5、(株)建帛社、ダイエットモニターソフトウェアによるヒアリング調査）を用いて算出した。運動量は歩数値をデータサンプルとして用いた。試験日に際しては各試験時の 12 時間前から絶食とし、採血前まではミネラルウォーター以外の飲料や食物は摂取しないこととした。また全試験を通じ、脂質もしくはエネルギー代謝に影響を与える可能性のあるサプリメントあるいは機能性食品を摂取しないこととともに不規則な生活習慣（睡眠不足、過度の飲食など）を避けるように要請した。被験品の摂取状況については開始後 2 週間目および 4 週間目における被験者のプロトコル順守記録を評価し、潜在的な有害事象の有無を確認する目的で 15 分間の面談を実施した。

### 2.2.5 生化学パラメータの分析

採取血液について以下の項目について測定した。(i) 一般生化学試験項目：白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度、および血小板数。(ii) メタボリックシンドローム関連指標：血清中の総コレステロール、中性脂肪、低密度リポタンパク質 (LDL) コレステロール、高密度リポタンパク質 (HDL) コレステロール、アディポネクチン、血糖値、HbA1c (iii) 腎機能：尿素窒素、クレアチニン、尿酸、(iv) 肝機能：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ、血清インスリン、(v) 電解質：ナトリウム、カリウムについて測定した。これらの測定は(株)BML (151-0051 東京都渋谷区千駄ヶ谷 5-21-3) に委託して実施した。

### 2.2.6 統計処理

被験者の群分けについては、中性脂肪、BMI、ウエスト周囲径、年齢平均が群間で極力平準化するべく無作為化を行った。本論中の数値はすべて平均 $\pm$ 標準偏差として記した。3名の被験者は統計評価から除外した。何らかの理由で利用できないデータについては欠落データとして処理した。統計解析は、SPSS (IBM) Ver. 16.を用いて行った。データサンプルの分布は正規分布とみなしてパラメトリックな統計処理を行うこととした。被験品の摂取効果の検定はベースライン値と4週間後の値をもって対応のある  $t$  検定によって評価した。ベースラインデータおよび4週間後の変化値の各群間比較は Tukey 法によった。

## 2.3 結果

### 2.3.1 被験者のベースライン値の評価

本試験（試験1）は中性脂肪が正常高値の日本人を被験者として実施した。低用量（500 mg/日）のL-カルニチンを4週間継続摂取したときのメタボリックシンドローム関連指標に与える効果について、動機付けによる行動変容を加味して評価することをプライマリーアウトカムとした無作為化プラセボ対照二重盲検試験である。参加した24人すべての被験者が脱落なく4週間の試験を完遂した。しかしながらそのうち3人の被験者は、夜間もしくはシフト制の労働に従事していることが事後に判明した。これら被験者については標準的な生活習慣との乖離があったとみなして解析から除外し、残る21人を解析対象とした。各被験者の初期値における属性を **Table 1** に示した。被験者は、血清中性脂肪レベル（216~228 mg/dL）、BMI（25.8~26.6 kg/m<sup>2</sup>）、腹囲長の平均（93.3~99.2 cm）、年齢（40.2~44.4 yr）にグループ間有意差はみられないように分配が行われた。ただし体重の初期値は他の3群に比較してC/M群（L-カルニチン摂取し動機付けを行った群）でやや高かったが有意差には至らなかった（**Table 2**）。

**Table 1. Baseline demographic characteristics of the subjects (n = 21).**

	L-carnitine		Placebo	
	Motivated group	Non-motivated group	Motivated group	Non-motivated group
Number of subjects	5	6	5	5
Age (year)	44.4 ± 3.5	43.3 ± 8.2	40.2 ± 4.8	43.4 ± 6.5
Height (cm)	175.7 ± 3.8	168.5 ± 5.1	169.5 ± 3.2	169.9 ± 5.8

mean ± SD.

**Table 2. Comparison of body weight and body composition between the 4 groups at baseline and after 4 weeks (n = 21).**

	L-carnitine				Placebo				
		Motivated group		Non-motivated group		Motivated group		Non-motivated group	
		5	5	6	5	5	5	5	
Number of subjects									
Body weight (kg)	Baseline	82.0 ± 2.2		73.4 ± 3.6		75.3 ± 1.6		76.2 ± 6.4	
	4 weeks	80.9 ± 1.8 <sup>ab</sup>		73.6 ± 3.4		75.3 ± 1.4		76.9 ± 6.1	
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	Baseline	26.6 ± 1.1		25.8 ± 0.6		26.2 ± 1.0		26.4 ± 0.6	
	4 weeks	26.2 ± 1.0 <sup>c</sup>		25.9 ± 0.6		26.2 ± 1.1		26.6 ± 0.5	
Muscle mass (kg)	Baseline	58.7 ± 3.0		53.6 ± 4.4		54.3 ± 3.3		56.5 ± 4.6	
	4 weeks	58.0 ± 2.7		53.8 ± 3.7		54.6 ± 2.5		56.8 ± 4.5	
Body fat mass(kg)	Baseline	20.1 ± 2.4		16.8 ± 1.4		17.9 ± 2.6		16.5 ± 2.1	
	4 weeks	19.7 ± 2.4		16.6 ± 1.0		17.6 ± 2.5		17.0 ± 1.9	
Basal metabolism (kcal/day)	Baseline	1590 ± 59		1512 ± 147		1546 ± 94		1566 ± 161	
	4 weeks	1575 ± 48		1517 ± 128		1552 ± 82		1571 ± 160	
Waist (cm)	Baseline	99.2 ± 3.4		93.3 ± 3.2		95.5 ± 4.9		94.7 ± 6.3	
	4 weeks	97.9 ± 2.3		94.2 ± 3.5		94.5 ± 4.4		95.2 ± 6.6	

mean ± SD; a: p < 0.01, for change from baseline at 4 weeks; b: p < 0.05, for L-carnitine motivated group versus L-carnitine non-motivated group; c: p < 0.05, for change from baseline at 4 weeks. Within each group, correlated t-test was applied at “baseline” and “after”; Tukey’s test was applied between every two group at “baseline” and “after 4 weeks”.

### 2.3.2 動機付けが生活習慣に与える影響

M 群の被験者は一日摂取カロリーを 1,500 ~ 1,800 kcal に維持するように動機付けられたが、結果としてほとんどの被験者のエネルギー摂取量は 2,000 kcal / day を超過していた。エネルギー摂取量は介入中有意に変化せず、群間差異もみられなかった (Table 3)。M 群については C/M 群、NC/M 群とも平均歩数がベースライン (C / M = 5,934 ± 2,367; NC / M = 5,199 ± 2,473) と 4 週目 (C / M = 8,617 ± 2,883; NC / M = 6,872 ± 1,375) の間で増加していた。ただし、当該の変化は統計的有意差には至らなかった。

### 2.3.3 L-カルニチンの摂取と動機付けが体重や体格組成に与える影響

L-カルニチン動機付けグループ (C/M 群) ではベースライン値 82.0 ± 2.2 kg に対し、4 週目 80.9 ± 1.8 kg であり介入期間の 4 週間以内に有意な体重の減少を示した (P = 0.007)。他のすべてのグループにおいては増加またはほぼ不変であった (Table 2)。体重の変化の群間比較では、Figure 1 に示すとおり C/M 群と NC/NM 群の間で有意な差が認められた (P = 0.0019)。また被験者個々人の変化に着目すると他の 3 グル

**Table 3. Energy intake and step count in the motivated groups at baseline and after 4 weeks (n = 21).**

		L-carnitine	Placebo
		Motivated group	Motivated group
Number of subjects		5	5
Calories (kcal)	Baseline	1940 ± 307	2138 ± 576
	4 weeks	2079 ± 215	2125 ± 413
Step count (step)	Baseline	5934 ± 2367	5199 ± 2473
	4 weeks	8617 ± 2883	6872 ± 1375

mean ± SD.



ープとは対照的に、L-カルニチン動機付けグループのすべての被験者で体重減少が認められた (Figure 4 (a))。また BMI についてみると、C/M 群においてベースライン値  $26.6 \text{ kg/m}^2$  から 4 週目値  $26.2 \text{ kg/m}^2$  において有意な減少が見られたのに対し、他の 3 群では不変か微増していた (Table 2)。体脂肪量、筋肉量および基礎代謝については有意な変化はみられなかった。

#### 2.3.4 L-カルニチンの摂取と動機付けが血中メタボリックシンドローム関連パラメータに与える影響

血中中性脂肪 (TG : triglyceride) 濃度について C/M 群はベースライン値  $218 \pm 45 \text{ mg/dL}$ 、4 週間目値  $145 \pm 42 \text{ mg/dL}$  と他の 3 群に比較して最も大きな減少を示した (Table 4 および Figure 2)。4 週目における群間比較では C/M 群の摂取後 4 週目値は、NC/NM 群よりも有意に低かった ( $p = 0.03$ )。ベースライン値と 4 週目値の TG 変化については C/M 群と NC/NM 群 ( $P = 0.014$ )、C/NM 群と NC/NM 群の間 ( $P = 0.0223$ ) で有意差が認められた (Figure 2)。個々人の変化については Figure 4 (b) に示した。

総コレステロール値は C/M 群においてはがわずかに減少した ( $-2 \text{ mg/dL}$ ) のに対し、NC/NM 群では  $209 \pm 28 \text{ mg/dL}$  から  $231 \pm 36 \text{ mg/dL}$  に増加が認められた (有意差なし)。LDL コレステロールは C/M グループでは一定のままであったが、他のすべてのグループでは増加し、とくに NC/NM 群では  $125 \pm 29 \text{ mg/dL}$  から  $141 \pm 38 \text{ mg/dL}$  への有意に増加していた。HDL コレステロールについてはいずれの群でも有意な変化はみられなかった (Table 4)。

**Table 4. Lipid profile between the 4 groups at baseline and after 4 weeks (n = 21).**

	L-carnitine				Placebo	
	Motivated group		Non-motivated group		Non-motivated group	
	5	6	5	5	5	5
Number of subjects						
Triglyceride (mg/dL)	Baseline	218 ± 45	228 ± 33	216 ± 64	220 ± 79	
	4 weeks	145 ± 42 <sup>a</sup>	187 ± 38	183 ± 51	265 ± 108	
Total Cholesterol (mg/dL)	Baseline	215 ± 31	218 ± 32	232 ± 32	209 ± 28	
	4 weeks	213 ± 36	221 ± 30	237 ± 30	231 ± 36	
LDL Cholesterol (mg/dL)	Baseline	126 ± 22	128 ± 18	147 ± 30	125 ± 29	
	4 weeks	129 ± 24	138 ± 24	154 ± 25	141 ± 38 <sup>b</sup>	
HDL Cholesterol (mg/dL)	Baseline	57.4 ± 14.3	50.3 ± 18.8	48.2 ± 3.6	46.4 ± 10.9	
	4 weeks	61.0 ± 14.0	50.2 ± 12.6	50.8 ± 6.0	47.2 ± 10.8	

mean ± SD; a:  $p < 0.05$ , for L-carnitine motivated group versus placebo non-motivated group; b:  $p < 0.05$ , for change from baseline at 4 weeks; Within each group, correlated t-test was applied at “baseline” and “after 4 weeks”; Tukey’s test was applied between every two group at “baseline” and “after 4 weeks”.

**Table 5. Metabolic parameters between the 4 groups at baseline, and after 4 weeks (n = 21).**

	L-carnitine				Placebo	
	Motivated group		Non-motivated group		Non-motivated group	
	5	6	5	5	5	5
Number of subjects						
Total adiponectin (µg/mL)	Baseline	7.54 ± 2.44	6.32 ± 3.74	6.52 ± 1.75	5.68 ± 1.26	
	4 weeks	8.72 ± 2.15 <sup>a</sup>	6.93 ± 4.60	6.08 ± 1.48	6.24 ± 0.33	
Blood glucose (mg/dL)	Baseline	99.2 ± 3.7	97.2 ± 4.5	99.8 ± 9.1	95.8 ± 4.3	
	4 weeks	98.6 ± 2.7	98.7 ± 11.2	96.2 ± 4.4	100.0 ± 4.0	
HbA1c (%)	Baseline	5.10 ± 0.29	5.07 ± 0.28	4.72 ± 0.24	4.78 ± 0.19	
	4 weeks	5.12 ± 0.26	5.10 ± 0.28	4.72 ± 0.29	4.82 ± 0.24	
Insulin (µU/mL)	Baseline	7.94 ± 2.16	6.17 ± 1.80	10.70 ± 10.20	5.96 ± 2.44	
	4 weeks	8.46 ± 1.92	13.10 ± 7.00 <sup>a,c</sup>	5.44 ± 1.58	10.70 ± 3.70 <sup>b</sup>	

mean ± SD; a:  $p < 0.05$ , for change from baseline at 4 weeks; b:  $p < 0.01$ , for change from baseline at 4 weeks; c:  $p < 0.05$ , for L-carnitine non-motivated group versus placebo motivated group; Within each group, correlated t-test was applied at “baseline” and “after 4 weeks”; Tukey’s test was applied between every two group at “baseline” and “after 4 weeks”.

**Table 5** に示すとおり C/M 群において 4 週目のアディポネクチン値 ( $8.72 \pm 2.15 \mu\text{g/mL}$ ) がベースライン値 ( $7.54 \pm 2.44 \mu\text{g/mL}$ ) に比較して有意に高値を示した ( $p = 0.04$ )。ただしこの増加は群間有意差には至らなかった。アディポネクチンレベルの変化を個々人についてみると C/M 群ではすべての被験者で増加を示したのに対し、他の 3 群ではそのような一貫性は見られなかった。グルコースと HbA1c レベルについては群間比較での有意な変化はみられなかった。インスリンレベルは大きな変動を示し、L-カルニチンの摂取有無にかかわらず動機付けを行わなかったふたつの群 (C/NM、NC/NM 群) で有意な増加を示した (それぞれ  $p = 0.038$  および  $p = 0.006$ )。また摂取 4 週目におけるインシュリンレベルは、4 週間値で NC/M 群に対し C/NM 群で有意に高かった。 ( $p = 0.047$ )。

### 2.3.5 安全性に関する評価

白血球数、MCV、MCH、血小板数、血漿尿素窒素にわずかな変化がみられたが群間有意差は認められなかった。全血球数の結果を **Table 6** に、腎と肝機能に関するのマーカー値の変化を **Table 7** に示す。本試験で用いた L-カルニチンとプラセボ被験品はすべての被験者において摂取にあたっての問題はみられなかった。

**Table 6. Complete blood count between the 4 groups at baseline and after 4 weeks (n = 21).**

	L-carnitine				Placebo		
		5		6		5	
		Motivated group	Non-motivated group	Motivated group	Non-motivated group	Motivated group	Non-motivated group
Number of subjects							
White blood cells ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	Baseline	7458 $\pm$ 2261	6243 $\pm$ 1743	4784 $\pm$ 1020	5536 $\pm$ 1422		
	4 weeks	5770 $\pm$ 1069	7027 $\pm$ 2818	4886 $\pm$ 1280	6032 $\pm$ 1256 <sup>a</sup>		
Red blood cells ( $\times 10^5/\mu\text{L}$ )	Baseline	498 $\pm$ 18	519 $\pm$ 19	513 $\pm$ 19	486 $\pm$ 20		
	4 weeks	509 $\pm$ 25	522 $\pm$ 31	512 $\pm$ 30	508 $\pm$ 14		
Hemoglobin (g/dL)	Baseline	15.4 $\pm$ 0.8	15.4 $\pm$ 0.7	15.7 $\pm$ 0.4	14.8 $\pm$ 0.8		
	4 weeks	15.7 $\pm$ 0.9	15.5 $\pm$ 0.9	15.6 $\pm$ 1.1	15.7 $\pm$ 0.6		
Hematocrit (%)	Baseline	45.6 $\pm$ 2.3	47.2 $\pm$ 2.2	46.8 $\pm$ 2.4	44.4 $\pm$ 1.6		
	4 weeks	46.1 $\pm$ 2.2	46.4 $\pm$ 2.3	46.2 $\pm$ 2.2	45.9 $\pm$ 1.0		
Platelet count ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	Baseline	23.0 $\pm$ 4.8	24.6 $\pm$ 3.9	21.7 $\pm$ 4.9	25.2 $\pm$ 7.4		
	4 weeks	25.3 $\pm$ 6.2	26.3 $\pm$ 3.1	23.4 $\pm$ 5.7 <sup>b</sup>	25.3 $\pm$ 7.0		

mean  $\pm$  SD; a:  $p < 0.05$ , for change from baseline at 4 weeks; b:  $p < 0.05$ , for change from baseline at 4 weeks; Within each group, correlated t-test was applied at "baseline" and "after 4 weeks"; Tukey's test was applied between every two group at "baseline" and "after 4 weeks".

**Table 7. Markers of liver and renal functions between the 4 groups at baseline and after 4 weeks (n = 21).**

	L-carnitine				Placebo		
		5		6		5	
		Motivated group	Non-motivated group	Motivated group	Non-motivated group	Motivated group	Non-motivated group
Number of Subjects							
Creatinine (mg/dL)	Baseline	0.82 $\pm$ 0.13	0.79 $\pm$ 0.04	0.84 $\pm$ 0.10	0.83 $\pm$ 0.07		
	4 weeks	0.81 $\pm$ 0.16	0.79 $\pm$ 0.06	0.79 $\pm$ 0.10	0.79 $\pm$ 0.03		
Uric Acid (mg/dL)	Baseline	6.78 $\pm$ 0.78	6.35 $\pm$ 0.65	6.56 $\pm$ 0.88	6.92 $\pm$ 0.49		
	4 weeks	6.78 $\pm$ 1.65	6.33 $\pm$ 1.16	6.42 $\pm$ 0.70	6.88 $\pm$ 1.01		
Urea Nitrogen (mg/dL)	Baseline	12.1 $\pm$ 2.4	13.1 $\pm$ 2.3	13.7 $\pm$ 3.7	13.0 $\pm$ 4.2		
	4 weeks	16.2 $\pm$ 4.9	13.3 $\pm$ 2.3	13.5 $\pm$ 1.0	15.0 $\pm$ 3.9 <sup>a</sup>		
AST (U/L)	Baseline	22.4 $\pm$ 4.2	26.5 $\pm$ 4.7	22.4 $\pm$ 5.4	23.2 $\pm$ 3.7		
	4 weeks	22.2 $\pm$ 4.0	27.2 $\pm$ 8.8	20.2 $\pm$ 4.8	25.4 $\pm$ 6.4		
ALT (U/L)	Baseline	28.2 $\pm$ 9.7	39.3 $\pm$ 16.3	20.6 $\pm$ 6.3	23.6 $\pm$ 8.4		
	4 weeks	27.4 $\pm$ 7.8	42.3 $\pm$ 21.8	18.2 $\pm$ 6.3	32.0 $\pm$ 17.6		
$\gamma$ -GT (U/L)	Baseline	51.4 $\pm$ 20.5	46.2 $\pm$ 24.7	32.6 $\pm$ 9.7	39.2 $\pm$ 12.1		
	4 weeks	49.6 $\pm$ 31.5	47.2 $\pm$ 23.2	31.4 $\pm$ 10.2	58.0 $\pm$ 38.5		

mean  $\pm$  SD; a:  $p < 0.05$ , for change from baseline at 4 weeks; Within each group, correlated t-test was applied at "baseline" and "after 4 weeks"; Tukey's test was applied between every two group at "baseline" and "after 4 weeks".

## 2.4 考察

本研究ではメタボリックシンドロームに関連するパラメータを対象として既往研究で多用されているレベルよりも低用量のL-カルニチンの効果を検討した。その際、被験者の食事や運動習慣から受ける影響を低減するために一定の動機付けを与えてL-カルニチンの効果を浮き彫りにしたことが本研究の特色である。L-カルニチンを摂取し動機付けを得た群(C/M)では体重が4週間で1.10 kg減少したのに対し、動機付けなくL-カルニチンも摂取していない群(NC/NM群)では逆に0.7 kgの増加が認められた ( $p=0.0019$ , **Figure 1**)。一方L-カルニチンを摂取していても動機付けを伴わなかった場合(C/NM)にはこうした減量効果は認められなかった。Villaniらは4 gのL-カルニチン摂取を運動と組合わせて8週間での減量効果を調べ「無効であったこと」を報告しているが<sup>1</sup>、この場合はプラセボを摂取した群においても運動を行うことによって自然な減量効果が生じL-カルニチンの機能を顕在化できなかったこと、すなわちその試験デザインに起因しているものと考えられる。このことは本試験におけるC/NM群とNC/M群との間で差異が認められなかったという結果に対応するものであろう。またMalaguarneraはわずかに過体重の糖尿病患者が3か月間2 gのL-カルニチンを摂取する試験を行ったが「BMIには影響しない」ことを報告している<sup>2)</sup>。その試験はイタリアにおいて9月から12月すなわち晩秋から冬にかけて実施されたものである。カロリー摂取量、身体活動、そしてその後の体重は季節によって異なり、平均体重は冬にピークになることが知られている<sup>3)</sup>。本試験は11月に実施し、Malaguarneraらの試験実施時期とほぼ一致する初冬期であった。このことは最も介入の度合いが少なかった群(動機付けを行わずプラセボを摂取したNC/NM群)での体重に増加傾向がみられたことと関連している可能性がある。このような(体重増を伴いやすい)季節にありながら、本試験でのL-カルニチン動機付けグループ(C/M群)の被験者は、他の群との比較において有意な体重減少を示した。本試験における動機付けは万歩計

による記録や食事摂取量のモニターを行ったことに加えて、試験実施者（インストラクター）との個別面談によってメタボリックシンドロームのリスク低減に対する減量効果などの説明を行っている。今回の試験では二重盲検的に動機付けを行っているため、動機付けを行わなかった群（C/NM群およびNC/NM群）からは運動量や食事摂取量のデータは得られていない。従って動機付けを受けた被験者が受けなかった被験者に比較してどの程度の行動変容に結び付いたかについては十分な考察を及ぼし得ないところである。ただし得られた限定的なデータ（Table 3.）が示すところ、摂取カロリーとしては減少傾向がみられなかったことから被験者は食事摂取に関する行動変容を受けていないものとみられ、むしろ万歩計の歩数増加（C群、NC群とも1673~2683歩の増加）として現れるような「運動量に対する行動変容」をより受けやすかったのではないかと推定できる。実際 Figure 1に見られるようにC/M群はC/NM群に対して有意な体重減少を示したことから、単L-カルニチンの摂取に依存するだけでは確かな減量効果を得ることは困難であることがわかった。また本試験ではL-カルニチンを摂取せず動機付けのみを得た群の6名の中4名には体重減少が見られた。このこともまた減量効果を生むための基本がL-カルニチンの摂取にではなく、行動変容にあることを示唆している。

健常人を被験者とし、10日間3gのL-カルニチンを摂取することによって摂取した脂肪の酸化が有意に増加することが同類のふたつの研究で示されている<sup>4)5)</sup>。このことから本試験におけるL-カルニチン摂取群では体脂肪量の減少が期待される所であったが、実際に見られた体脂肪量の減少は傾向に留まり有意差には至らなかった。この点については本試験の摂取期間が十分ではなかった可能性が考えられる。

L-カルニチン摂取+動機付け群（C/M群）とL-カルニチン+非動機付け群（C/NM群）のいずれにおいても、プラセボ非動機付け群（NC/NM群）と比較して血清中性脂肪レベルの有意な低下が認められた（Figure 2）。4週間摂取前後での中性脂

肪値の変化をメタボリックシンドロームの診断基準である 150 mg/dL との関連において評価してみるために **Figure 3** を作成した。本試験での被験者採用条件のひとつは「中性脂肪がやや高め (150~350 mg/dL)」としている。ここでの下限値はメタボリックシンドローム診断基準である 150 mg/dL をカットオフ値として採用している。これら 21 名の被験者のうち 5 名が 4 週間後に当該カットオフ値を下回ったが、うち 3 名は動機付けを伴いながら L-カルニチンを摂取した C/M 群において認められた。一方、NC/NM 群ではこの基準をクリアした被験者は一例もみられなかった。メタボリックシンドロームは複数のパラメータが基準値を超えることで相乗的にリスクが上昇するが、逆にひとつでも基準を下回ることによって全体的なリスクが低下することが特徴である<sup>6)</sup>。従って本試験の結果から L-カルニチンを摂取しながら行動を好ましい方向に変化させてゆくことがメタボリックシンドロームリスクの低減手段として有効である可能性が示唆された。血中脂質に対する L-カルニチンの有益な効果は、これまでにいくつかの研究で示されている<sup>7)</sup>。Malaguarnera らは 3 か月間 1 日あたり 2 g の L-カルニチンを補給することによって糖尿病患者の血中中性脂肪値を  $3.31 \pm 0.35$  mM から  $2.30 \pm 0.31$  mM に有意に減少させられること、すなわち低減幅が約 1.01 mM であったことを報告している<sup>2)</sup>。本試験 (500 mg、4 週間摂取) で得られた約 73.4 mg/dL (0.41 mM) の低下幅はほぼオーダー的に整合するものであった。一方、Malaguarnera らの報告では総コレステロール、LDL、HDL コレステロールレベルに対する L-カルニチンの摂取効果も有意に得られている<sup>2)</sup>。本試験ではコレステロール値の変化の方向性はこれと同じであったが有意差には至らなかった。**Figure 2** では C/NM 群は NC/NM 群との比較において有意な中性脂肪の上昇抑制効果を示している。L-カルニチンの摂取効果はまず中性脂肪値の低減として最も現れやすいことが考えられる。なお、**Figure 4 (a)**の結果から体重の変化と中性脂肪値の変化は見かけ上総じて類似のパターンとしてあらわれた。そこで、両パラメータの散布図を作成して相関関係を求めたところ有意な相関が

認められた (**Figure 4 (b)**,  $R = 0.64$ ,  $P < 0.01$ : Spearman 法による検定)。メタボリックシンドロームの診断基準には測定の必須項目に体格指標 (カットオフ値:「内臓脂肪面積について男女とも  $100 \text{ cm}^2$  以上」) が設けられている。ただし内臓脂肪面積は CT スキャンに依らねばならないためより日常的で簡易な測定指標として「ウエスト周囲径が男性  $85 \text{ cm}$  以上、女性  $90 \text{ cm}$  以上」が採用されている。またそれに加え、血中脂質 (中性脂肪値  $150 \text{ mg/dL}$  以上かつ/または HDL コレステロール値  $40 \text{ mg/dL}$  以下)、血圧 (収縮期血圧  $130 \text{ mmHg}$  以上かつ/または拡張期血圧  $85 \text{ mmHg}$  以上)、空腹時血糖値 ( $110 \text{ mg/dL}$  以上) の 3 項目のうち 2 項目以上が該当する場合にメタボリックシンドロームと判定される。このように現在の診断基準には体重はパラメータとして採用されていない。しかしながら今回本研究の結果から、より身近な測定対象として体重を管理することが中性脂肪値のコントロールに簡便かつ有効な手段となりえることが改めて示唆された<sup>8)</sup>。

本研究では 4 週目のアディポネクチンレベルが、ベースラインレベル ( $+1.18 \text{ } \mu\text{g/ml}$ ) と比較して L-カルニチン動機付け群 (C/M 群) で有意に増加した ( $p = 0.04$ )。また統計的な有意差には至らなかったものの、L-カルニチン非動機付け群 (C/NM 群) でも増加傾向が認められた ( $+0.61 \text{ } \mu\text{g/ml}$ )。アディポネクチンは脂肪細胞で産生されるいわゆる「善玉ペプチドホルモン」であり、その血中レベルは内臓脂肪量と逆相関する。血漿グルコースレベルの低下とインスリン感受性の改善効果をもたらすことからアディポネクチンの分泌はメタボリックシンドロームリスクの低減上重要であることが知られている<sup>9)</sup>。一方、これまで行われた研究においてアディポネクチンレベルの増加は体重減少との間に必ずしも一貫した関係は得られていない<sup>10-11)</sup>。Silva らは低カロリー食と運動の組み合わせで減量を促すことにより、アディポネクチンレベルが 18~48 % 増加したことを報告している<sup>11)</sup>。アディポネクチンレベルの増加は、心疾患リスクを伴う被験者を対象に行われた試験ではアセチルカルニチンの摂取試験でも認



められている<sup>12)</sup>。この場合2g/日のアセチルカルニチンを24週間摂取した結果みられたアディポネクチンの増加は27%であった。本試験ではL-カルニチン摂取量500mg/日、摂取期間4週間であったがL-カルニチン動機付け群(C/M群)で観察された増加率は約15%に及んだ。またPniaguaらはアディポネクチンの血清レベルの上昇が遊離脂肪酸の酸化の改善に起因するとの仮説を提唱している<sup>13)</sup>。これらのことから本試験の結果認められたL-カルニチン摂取による血中アディポネクチンの増加効果は体重減少とは別の機序からメタボリックシンドロームリスクの低減に貢献しえる可能性を示している。

インスリンレベルは本試験で比較的大きく変動したパラメータのひとつである。しかしながらその変動は、L-カルニチンの補給や動機付けの有無のいずれにも起因しておらず、別の要因に基づくものであると考えられた。

Unickらは肥満した女性被験者に対し電話を用いて行動変容を促す「動機付け試験(24週間)」を行っている<sup>14)</sup>。その結果、電話コールを行う回数が実際の減量成功に対する強力な因子であることが示された。またその他にも代謝性疾患を予防するための減量プログラムの中に行動変容の喚起を取り入れた海外事例がある<sup>15-16)</sup>。本試験においてL-カルニチンの摂取に動機付けを加えた理由として、L-カルニチンが生体常在成分であることが挙げられる。一般に医薬品は生体にとって本来異物であり、酵素阻害剤やブロッカーとしての作用機序をもつものが多いのに対しL-カルニチンは生合成成分である。そのため臨床試験においては純粋なプラセボ状態(体内に全くL-カルニチンが存在しない状況)を設けることがそもそもできない。また、アウトカムである体重や血中脂質といったパラメータは運動や食事の影響を日々に受けることから「L-カルニチンの摂取効果」を単純な形で顕在化させるためにはこれら日常の外的要因を上回る介入を加える必要がある。L-カルニチンは水溶性も高く余剰分は尿排泄を受ける安全性の高い成分である<sup>17)</sup>。それ故、従来の試験は専ら高い摂取レベルで行われる

ことが専らであった。これは日本のように栄養補助食品の成分として上限目安（1,000 mg/日）が設けられている成分にとっては実践的なエビデンスの提供を行う上における大きな課題といえる。今回行った「動機付けプロセス」はL-カルニチン摂取群とプラセボ摂取群の双方に対して二重盲検的に行ったものである。よって「プラセボ+動機付け(NC/M群)」と「プラセボ+非動機付け（事実上の非介入群：NC/NM群）」のふたつの群を対照群とすることによって生活習慣から受ける影響をある程度捨象することができたものと考えられる。

一方、通常の臨床試験では設けられない「非摂取+動機付け群（NC/M群）」の被験者の変化に着目すると、自発的に行動変容をなしたとみられる被験者とそうではなかったとみられる被験者の間にじつに大きな変化方向の乖離やばらつきがみられた。通常の臨床試験で採られる試験デザインは本試験におけるC/NM群とNC/NM群との比較であるが、以上の観点に鑑みて生体常在成分を少量摂取した場合にこれら両群の間に有意な差を顕在化させることは極めて困難と思われる。その意味において本試験はL-カルニチンに限らず同様な生体常在食品機能性成分の効果検定評価法として汎用性のあるものではないかと考えるところである。

最後に本試験の限界と今後の課題について述べる。本試験では1群5~6名の規模で実施したパイロット試験であるため今後より大規模な試験を行い、その効果を確かめる必要がある。その際にはまず「動機付け」のための面談方法、介入方法を大規模化に対応すべく規格化する必要がある。今回の試験では当初含まれていた夜間労働に従事している被験者3名を除外対象としたが、より大規模な試験では生活習慣を層別解析すべくより多様な属性の被験者を含めることも考慮されるべきであろう。摂取期間については長期にすることによってより顕著な摂取効果が期待される反面、プロトコル順守（コンプライアンス）の問題とともに中だるみやマンネリ化により生活習慣の影響がより強く反映することが予想される。このためには試験途上において

十分な面談回数を設ける、電話やメールなどでのフォローをこまめに行うなどの工夫も必要となる。なお別の観点から L-カルニチンについて長期試験を行うことの意義として、この成分が筋肉に徐々に蓄積されることにより作用をあらわすものであることが挙げられる。Wall らは L-カルニチンと炭水化物との同時摂取試験によってインスリン依存的に筋中の L-カルニチン濃度が上昇し、エネルギー代謝が有意に亢進することを報告しているが、当該結果を得るためには 24 週間を要している<sup>18)</sup>。しかしながら短期間また小規模なものではあっても必要十分な客観的介入を整備することにより「影響ファクターを集約的に絞り込んだ条件下」で起こる現象を明確化してゆくこと（例えば被験者の属性を明確にして試験を行うことなど）は大規模試験の基礎を固める上においては非常に重要であると考えられる。長期大規模の前向き試験のデザインは確固たるパイロット試験の結果をふまえて計画されるべきものである故である。

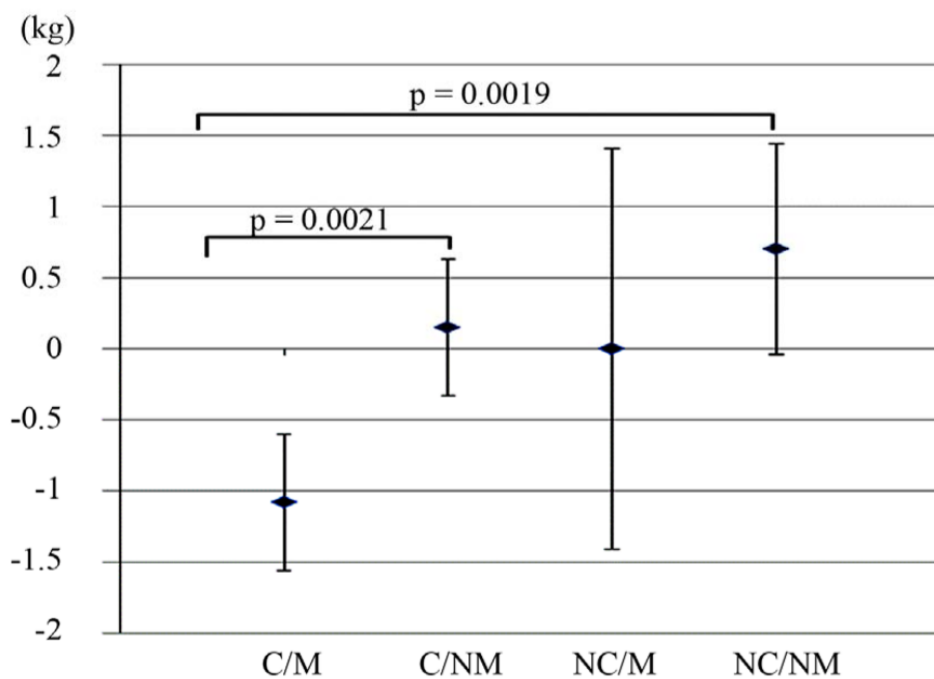
## 2.5 結論

本章では、血中中性脂肪値がやや高めの健常人被験者が生活習慣に関する動機付けを伴いながら 500 mg の L-カルニチンを摂取した場合、メタボリックシンドローム関連指標がどのような影響を受けるかについて検討した。得られた結論を以下に要約する。

- (1) L-カルニチン 500 mg/day を 4 週間経口摂取することによって以下の事項が確認された。
- (2) L-カルニチンの摂取により、体重減少、血中中性脂肪の低減が有意に認められた。
- (3) 摂取に際してモチベーションを伴った場合にはさらに効果が高められた。
- (4) 体重減少と血中中性脂肪値の低減には有意な相関関係が認められた。
- (5) L-カルニチン摂取+モチベーションによって、アディポネクチン濃度が有意に高

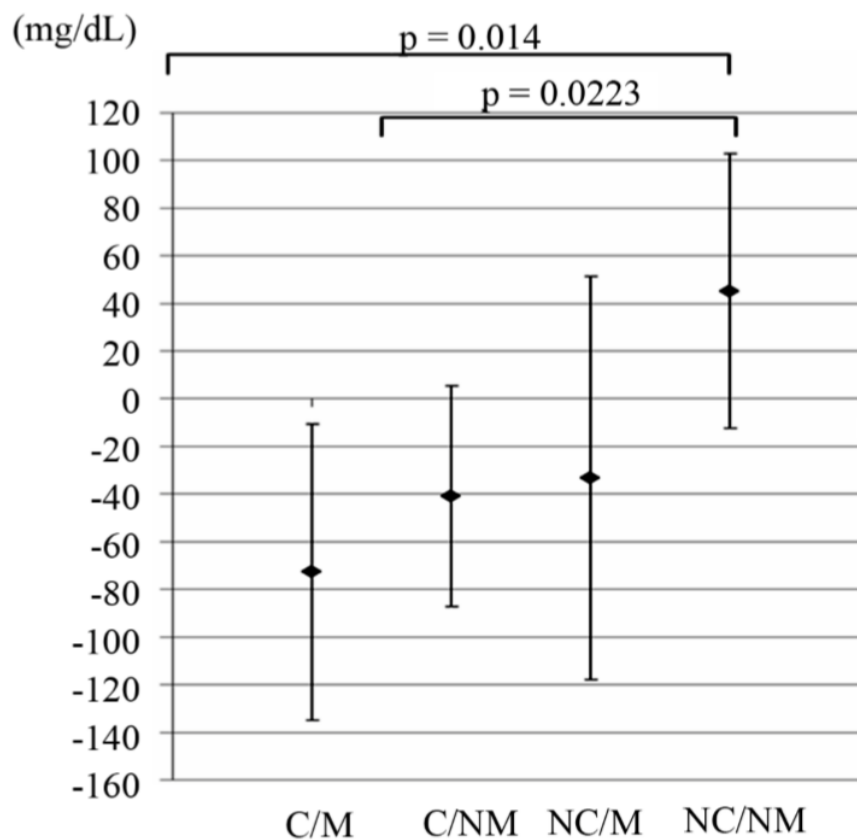
められた (+ 16%) .

- (6) L-カルニチン摂取+モチベーションによって、メタボリックシンドロームのリスクが低減される可能性が示唆された.



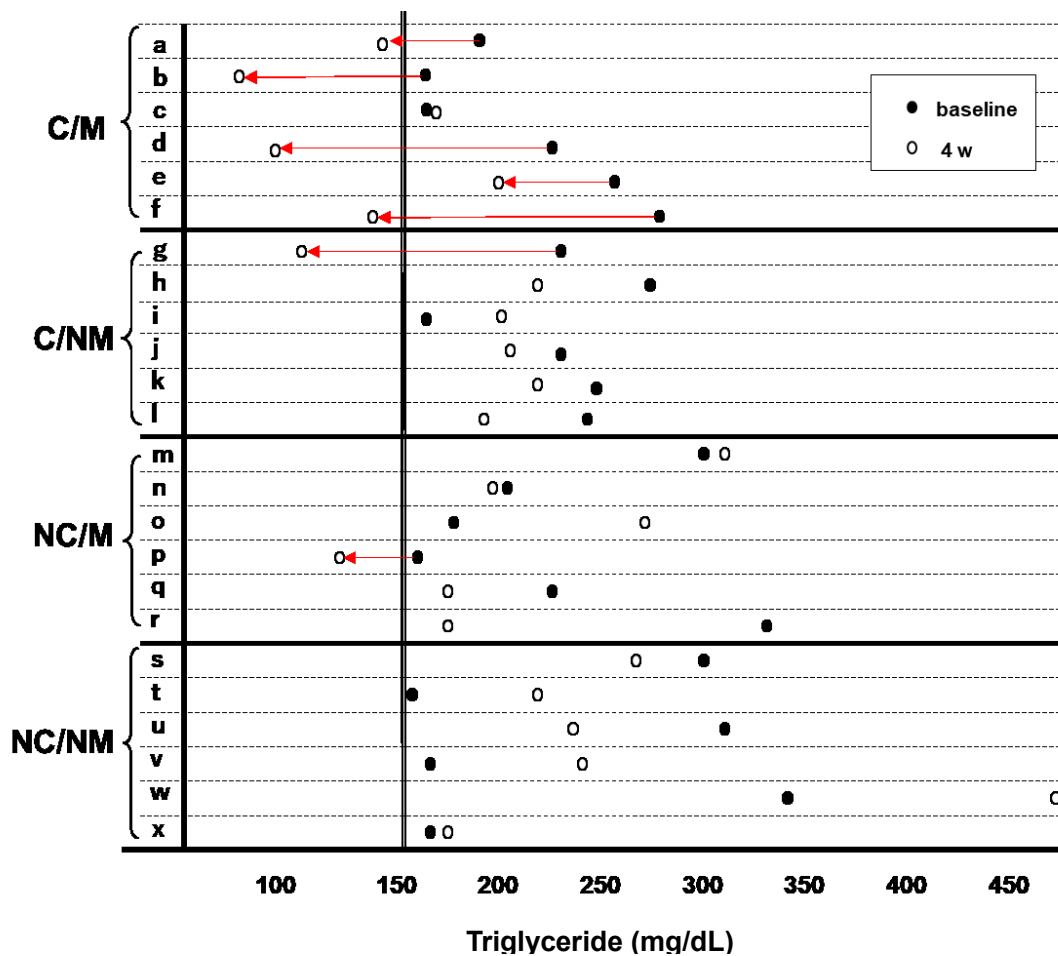
**Figure 1. Average body weight change between baseline and 4 weeks, C/M: L-carnitine/Motivated; C/NM: L-carnitine/Non-motivated; NC/M: Placebo/Motivated; NC/NM: Placebo/Non-motivated. Values are means  $\pm$  SD; n = 21**

各介入群における 4 週間での体重変化の平均値を示す。最も介入度の高い C/M 群は、最も介入度の低い NC/NM 群に対して有意な体重減少を示した。L-カルニチンを摂取していても動機付けが得られなかった群 (C/NM 群) では体重減少は見られなかった。



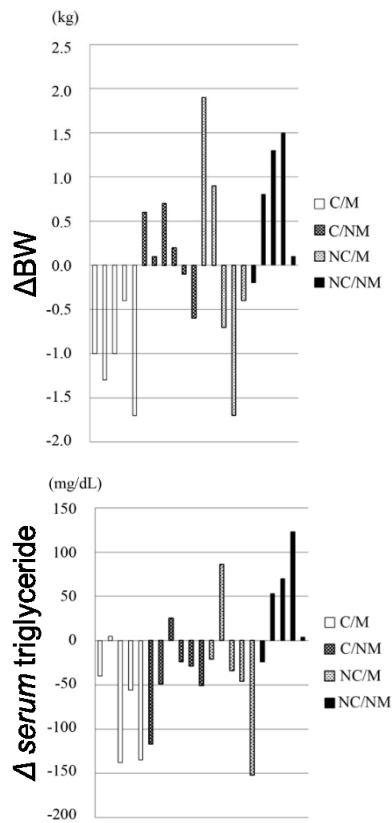
**Figure 2. Average changes in serum triglyceride levels between baseline and 4 weeks. C/M: L-carnitine/Motivated; C/NM: L-carnitine/Non-motivated; NC/M: Placebo/Motivated; NC/NM: Placebo/Non-motivated. Values are means  $\pm$  SD; n = 21**

各介入群における4週間での血中中性脂肪値変化の平均値を示す。最も介入度の高いC/M群は、最も介入度の低いNC/NM群に対して有意な中性脂肪値の低下を示した。また動機付けを得ずにL-カルニチンを摂取したC/NM群もNC/NM群に対して有意な低下を示した。

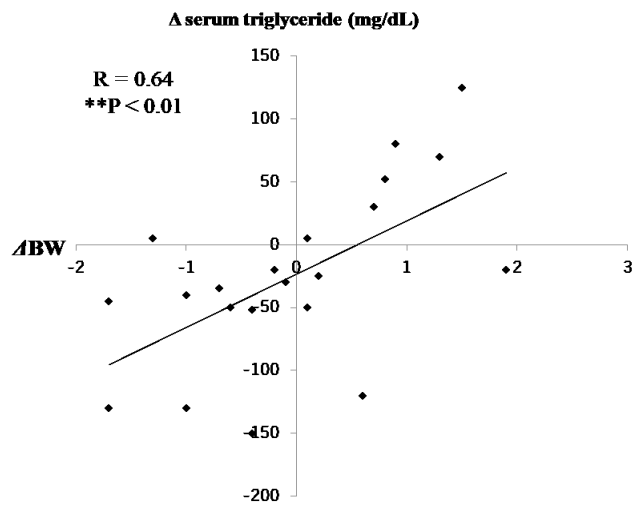


**Figure 3. Individual serum triglyceride level at 0 w (●) and 4 w (○)**  
**C/M: L-carnitine/Motivated; C/NM: L-carnitine/Non-motivated;**  
**NC/M: Placebo/Motivated; NC/NM: Placebo/Non-motivated. Values**  
**are means  $\pm$  SD; n = 21**

各被験者 (a ~ x) の中性脂肪値の変化を初期値 (●) と 4 週間後値 (○) で比較した。二重線で表した 150 mg/dL はメタボリックシンドロームの診断基準カットオフ値。被験者は初期値 150 ~ 350 mg/dL の範囲にあったが、赤い矢印で示した被験者では試験期間の 4 週間で正常値にまで変化したことを示す。最も介入度の高かった C/M 群では 5 名中 4 名が正常域に改善した。最も介入度の低かった NC/NM 群では正常域に達した被験者は全くみられなかった。



**Figure 4 (a)**



**Figure 4 (b)**

**Fig 4. Individual changes in body weight (BW) and serum triglyceride levels.**

Fig 4 (a): Individual changes between baseline in 4 weeks on body weight and serum triglyceride levels.

Fig 4 (b): Correlation between  $\Delta$  BW and  $\Delta$  serum triglyceride levels. R: correlation coefficient. **\*\*P < 0.01**

被験者ごとの試験期間（4 週間）での体重および中性脂肪の変化値を示す。Figure 4 (a)は各パラメータのベースライン値と4週間目の値との変化値を示す棒グラフ。Figure 4 (b)は縦軸に中性脂肪値の変化、横軸に体重の変化をとり散布図として表した。体重変化と中性脂肪値変化の間には有意な正の相関がみられた。血中中性脂肪の変化は体重変化を反映すると考えられるため、体重管理を行うことで中性脂肪値を管理できる可能性があることが示唆される。



## 引用文献

- (1) Villani RG, Gannon J, Self M, Rich PA. 2000. L-Carnitine supplementation combined with aerobic training does not promote weight loss in moderately obese women. *International JSport Nutr Exer Metabol*, 10, 199-207.
- (2) Malaguarnera M, Vacante M, Avitabile T, Cammalleri L, Motta M. 2009. L-carnitine supplementation reduces oxidized LDL cholesterol in patients with diabetes. *AmJ Clin Nutr*, 89, 71-76. doi:10.3945/ajcn.2008.26251
- (3) Ma Y, Olendzki BC, Li W, Hafner AR, Chiriboga D, Hebert JR, Campbell M, Sarnie M, Ockene IS. 2006. Seasonal variation in food intake, physical activity, and body weight in a predominantly overweight population. *Eur J Clin Nutr*, 60, 519-528. doi:10.1038/sj.ejcn.1602346
- (4) Wutzke KD, Lorenz H. 2004. The effect of l-carnitine on fat oxidation, protein turnover, and body composition in slightly overweight subjects. *Metabol* 53, 1002-1006.
- (5) Müller DM, Seim H, Kiess W, Löster H, Richter T. 2002. Effects of oral L-carnitine supplementation on in vivo long-chain fatty acid oxidation in healthy adults. *Metabol* 51 1389-1391.
- (6) Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Spertus JA, Costa F. 2005. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. *Circulation*, 112, e285-e290.
- (7) Sirtori CR, Calabresi L, Ferrara S, Pazzucconi F, Bondioli A, Baldassarre D, Birreci A, Koverech A. 2000. L- Carnitine reduces plasma lipoprotein levels in patients with hyperlipemia. *Nutr Metabol Card Diseas*, 10, 247-251.
- (8) メタボリックシンドローム診断基準検討委員会. 2005. メタボリックシンドロームの定義と診断基準、日本内科学会雑誌、94, 188-203
- (9) Stefan N, Stumvoll M. 2002. Adiponectin—Its Role in Metabolism and Beyond, *Horm Metabol Res*, 34, 469-474. doi:10.1055/s-2002-34785
- (10) Manigrasso MR, Ferroni P, Santilli F, Taraborelli T, Guagnano MT, Michetti N, Davi G. 2005. Association between circulating adiponectin and interleukin-10 levels in android obesity: Effects of weight loss, *J Clin Endocrinol Metab*, 90, 5876-5879. doi:10.1210/jc.2005-0281
- (11) Silva FM, de Almeida JC, Feoli AM. 2011. Effect of diet on adiponectin levels in blood, *Nutr Rev*, 69, 599-612. doi:10.1111/j.1753-4887.2011.00414.x
- (12) P. Ruggenenti, D. Cattaneo, G. Loriga, F. Ledda, N. Motterlini, G. Gherardi, S. Orisio and G. Remuzzi. 2009. Ameliorating hypertension and insulin resistance in subjects at increased cardiovascular risk: Effects of acetyl-L-carnitine Therapy, *Hypertension*, 54, 567-574. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.132522

- (13) Paniagua JA, de la Sacristana AG, Romero I, Vidal-Puig A, Latre JM, Sanchez E, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. 2007. Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects, *Diab Care*, 30, 1717-1723. doi:10.2337/dc06-2220
- (14) Unick JK, Jakicic JM, Marcus BH. 2010. contribution of behavior intervention components to 24-month weight loss, *Med Sci Spor Exer*, 4, 745-753. doi:10.1249/MSS.0b013e3181bd1a57
- (15) Boehm G, Bracharz N, Schoberberger R. 2011. Evaluation of the sustainability of the public health program slim without diet (Schlank Ohne Diat), *Wiener Klinische Wochenschrift*, 123, 415-421.
- (16) Swanson CM, Bersoux S, Larson MH, Aponte-Furlow RT, Flatten SS, Olsen L, Larosa CL, Verona PM, Jameson KA, Cook CB. 2012. An outpatient-based clinical program for diabetes prevention: An Update, *Endocr Pract*, 18, 200- 208.
- (17) Borzelleca JF, Munro IC, Thomas JA. 2011. Evaluation of L-carnitine for GRAS status, *Report for Lonza Inc.*, Switzerland.
- (18) Wall BT, Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Marimuthu K, Macdonald IA, Greenhaff PL. 2011. Chronic oral ingestion of L-carnitine and carbohydrate increases muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans. *J Physiol* 589, 963-973.

## 第3章 (試験2.) 脂肪動員条件下において低用量のL-カルニチン単回摂取がエネルギー代謝に及ぼす影響

### 3.1 緒言

#### 3.1.1 既往の研究と本研究のアプローチ

肥満の問題が世界的な健康課題として国内外で取り上げられて久しい<sup>1-2)</sup>。L-カルニチンの主作用が脂肪燃焼であることからこの成分を摂取することで体脂肪が減少するのではないかという考えは自然なものと思われる。しかしながら現在のところ肥満の緩和や治療という目的でL-カルニチンが医療現場で使用されている事実はない。一方、例えば膵臓ガン治療で行われる化学療法によって誘発されるガン悪液質では著しい体重の減少がみられるが、Kraftらは72人の被験者を対象に実施した臨床試験(ランダム化マルチセンター試験)で1日あたり4gのL-カルニチンを12週間摂取した場合にはBMIとともに体脂肪が有意に「増加した」ことを報告している<sup>3)</sup>。このような観察は摂取されたL-カルニチンが単に脂肪を一方向に消費するのではないことを示している。基本的には長期間の摂取が行われるL-カルニチンであるが、これは摂取によって体内(とくに筋肉)にこの成分が備蓄されることが前提となっていることが多い。ここには例えば体内への備蓄が徐々に積みあがって来、ある閾値を超えた段階で作用が現れるというような発想があるのかもしれない。しかしながら、そのような閾値の存在を示した研究は今のところ知られていない。われわれは、逆にこのような「物質積分的な考え方(摂取したものが物質として積みあがった結果効果が現れるという考え方)」を見直し、逆に「微分的な解析(毎回の摂取に際してどのような応答があるのかを解析)」を行い「応答積分的(個々には微細な応答が継続した時にあらわれる効果)」について検討することとした。前章で述べた臨床試験では、健康な生活習

慣に関する動機付けを伴った状態でL-カルニチンを摂取する場合、少なくとも「500 mg相当の摂取量」で「4週間後に」有意な体重や血中脂質の減少を検出することができた。この間、都合28回のL-カルニチンが体内に取り込まれたわけである。本章ではこのような観点をふまえて行った試験結果について報告する。それに先立って、これまでに比較的精度の高い方法で行われたヒト試験について以下に概観する。

$^{13}\text{C}$  標識長鎖脂肪酸プローブを用いた  $^{13}\text{CO}_2$  呼気ガス分析を使用した試験では、3 g/日のL-カルニチンを10日間補給することによって経口摂取した脂肪酸の $\beta$ -酸化が有意に促進されることが2度にわたる健常人被験者試験によって証明された<sup>4,5)</sup>。ここで示されたことは「その日に摂取した脂肪の燃焼」であるため内因性の脂肪の消費については知ることができない。少なくとも10日間の著量摂取によって「脂肪燃焼型の体質」のようなものが得られたことは確からしく思われる。

Pooyandjoo はL-カルニチンの摂取が体重管理に及ぼす影響について9件の研究を対象としたメタアナリシスをもとにシステマティックレビューを実施し、摂取によって有意な体重減少がもたらされるとの結論を得ている<sup>6)</sup>。このシステマティックレビューで評価対象とされた臨床試験における摂取期間は30~360日、また摂取量は1.8~4 g/日であった。

L-カルニチンは、肝臓、腎臓、脳などで生合成を受ける<sup>7)</sup>ほか、日常食として摂取される赤身肉や栄養補助食品からも補給される<sup>8)</sup>。経口摂取されたL-カルニチンは小腸でナトリウム依存性の能動輸送体である有機カチオン輸送体2 (OCTN2) を介して吸収を受けたのち全身の標的器官に到達し、各臓器に固有のturn overで保持される<sup>11)</sup>。L-カルニチンの90%以上が筋肉組織に貯蔵され、そこで脂肪酸の異化代謝に必須の役割を果たしている<sup>12)</sup>。L-カルニチンの効果をえるために長期間の継続摂取が必要と考えられる背景にはこのような知見の存在がある。Wallらはこの観点から筋生体組織試験(muscle biopsy)を伴うヒト試験を実施した。L-カルニチン(2.7 g/日を2

度に分けて摂取)と炭水化物(160 g/日を2回に分けて摂取)を同時に組み合わせて24週間継続摂取することによって、筋中のカルニチンが効率的に蓄積されることを報告している<sup>13)</sup>。ここでは遺伝子機能解析によりこの作用機序が「インスリンシグナル伝達」、「ペルオキシソーム増殖因子活性化および受容体シグナル伝達」「脂肪酸代謝」の3つの主要な経路の亢進を介すること、その結果インスリン依存的に筋肉へのL-カルニチン輸送が活性化されることが明らかにされている<sup>14)</sup>。

序章で述べたように日本では厚生労働省によりL-カルニチンは2002年から食品成分としての使用が認められるようになった。当該認可に際し、当局は最終消費者による無用の過剰摂取を防ぐ趣旨から食品用途の当局から一日摂取上限目安として1,000 mgを提示している。一方、L-カルニチンに関連する臨床試験の大部分は、既述のように、2,000 mg以上の1日摂取量で行われてきた<sup>4-6)13-14)</sup>。これは既往研究をそのまま実応用面に展開することをむつかしいものになっている。

この点に鑑み、第2章に記したようにわれわれは低用量(500 mg/日)のL-カルニチンを生活習慣における行動変容を伴いながら4週間継続摂取することによって体重や中性脂肪、アディポネクチンなどメタボリックシンドローム関連リスクを低減させられる可能性について検討した<sup>15)</sup>。

### 3.1.2 本研究の目的と留意点、試験の構成

前章の結果をふまえ第3章(試験2)では間接熱量計を用い、エネルギー代謝の観点からL-カルニチンの摂取に即効的な効果が認められるかどうかについて22歳の健常被験者を擁して検証することにした。この際、吸収に一定の時間を要する外因性脂肪の影響を避け内因性脂肪利用に焦点を絞ることに留意した。そのための試験基礎条件として、一晩の絶食とそれに続く適度な有酸素運動で脂肪動員を誘導する試験デザインを確立した。これを標準条件とし、以下に示す2系列の独立した試験を実

施した (Study 1、Study 2)。Study 1 では、糖質炭素源が存在するケースとしないケースを設定し L-カルニチンの摂取効果にどのような差異が生じるかを比較検討した。摂取量は 750 mg とした。Study 2 では別の被験者群について Study 1 と同じ試験プロトコルを適用し、摂取量を 500 mg として試験を実施するとともにミトコンドリアでのエネルギー代謝に関与する成分である CoQ10 を共存させたケースについて検討した<sup>16)</sup>。また今回得られたアセチルカルニチン濃度の血中変動については中枢機能との関係から付加的な考察を加えた。

## 3.2 試験方法

### 3.2.1 被験者

運動経験のない 22 歳の健常人を被験者とした。被験者の内訳は Study1：男性 1 名、女性 4 名の計 5 名、Study2：女性 6 名とした。すべての被験者について試験の前後に生化学検査 (株)エスアールエル、愛知県小牧元町) を実施し健康状態に問題のないことを確認した。試験に先立つ 3 か月間および試験期間中は健康食品、機能的食品の摂取を避けるよう指示した。体格組成として体重と身長を測定し、BMI (Body Mass Index) を求めた。Study1 および Study2 を実施する各々の第 1 回目の試験日に際し、被験者は試験場所に到着後 30 分の休息をとった後、間接熱量計 (AERO : MONITOR AE-300S : ミナトメディカルサイエンス株式会社) を用いて安静時のエネルギー代謝量 (REE : Resting Energy Expenditure) を 10 分間測定した。本試験は愛知学泉大学の倫理委員会によって承認されヘルシンキ宣言に則って実施した (承認番号 : Study1 (2015004) および Study2 (2018025))。

### 3.2.2 試験デザイン

試験手順 (Study protocol) を Fig 1 に示す。

## 運動および採血、採尿

Study1 および Study2 の共通プロトコールは以下の通り設定した。被験者は試験実施 12～15 時間絶食（前夜から絶食）の状態です。午前 7～10 時に愛知学泉大学（愛知県岡崎市）の試験室に来場した。これを 1st visit とし、以下の visit では被験者ごとに 1st visit と同じ時刻に来場した。被験者は健康食品、機能性食品の摂取を控えるほかは通常の食事習慣を維持した。ただし各 visit の前 24 時間にアルコールの摂取および激しい身体活動をとることは避けるように指示した。試験室到着後には以下の手順を設定した。

- ① 30 分間の休憩の後、3 km/h でトレッドミル（オートランナー AR-100、ミナトメディカルサイエンス株式会社）で 30 分間歩行、その後 30 分間の休息（以上を「平準化（normalization）」プロセスとした。
- ② その後サイクルエルゴメーターを負荷量 60 W で 30 分間行った。これは最大出力の約 50～60% に相当する。
- ③ 続く 3.5 時間は、水以外のものを摂取することなく座位で安静状態を保持（回復期間）。

採血（6 ml）および採尿（10 ml）を、Study1 および Study2 各々の最初の休憩期間（サプリメント摂取の 1 時間前）およびサプリメント摂取の 4 時間後に行った。Study2 では上記に加え、運動直後に採血・採尿を行った。血液サンプルは 4 °C で遠心分離し、血清を他の容器に収集した後分析に供するまで -20 °C で保存した。尿サンプルは、分析に供するまで -20 °C で保存した。血清サンプルは、NADH 依存カルニチンデヒドロゲナーゼを使用した酵素サイクリング法による総カルニチンおよび遊離カルニチン濃度の分析に供した<sup>17)</sup>（株カイノス、東京都文京区本郷）。アシルカルニチン濃度は、

総カルニチン濃度から遊離カルニチン濃度を差し引いて求めた<sup>\*</sup>。尿中クレアチニン濃度を測定し、間接熱量計によって得られた呼吸商<sup>\*</sup> (RQ) 値を非タンパク質呼吸商 (npRQ) 値に変換した。Study2 では、血清中の 3-ヒドロキシ酪酸とアセト酢酸の濃度を測定した。以後本研究では両者の合計値をもって「総ケトン体」と記述する。

※註：当該の定量方法はアシルカルニチン濃度を測定するものであり必ずしも「アセチルカルニチン」濃度を与えるものではないが、血清アシルカルニチンの大部分は「アセチル体」であることが知られてい<sup>18)</sup>。従って、本研究では、得られたアシル体の値はアセチル体の値とみなして論を進めた。

---

※呼吸商について：呼吸商 (RQ: Respiratory Quotient) は単位時間内に呼吸で発生した炭酸ガスと消費酸素体積の比で表される数値であり、どのようなエネルギー源が生体で利用されたかを推定するために用いられる。グルコースのみが完全燃焼した場合 RQ は理論的に 1.0 に近づき、長鎖脂肪酸 (例えば代表的な脂肪酸であるパルミチン酸) が完全燃焼した場合には 0.703 に近い値をとる。

## 被験品の摂取

L-カルニチン：

250 mg の L-カルニチンを 50 w/w %水溶液 (合計液量で約 0.5 ml) として難消化性のヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) に封入した製剤 (Licaps<sup>®</sup>、ロンザジャパン/カプスゲルジャパン(株)) を使用した。

Study1 において供試した炭水化物：

レトルト白米 147g (佐藤食品(株)) を 5 分以内に 180 ml の水で摂取した。当該サンプルに含有される栄養組成は、炭水化物 50 g、タンパク質 3.1 g であった。炭水化物摂取による血糖値の上昇効果については以下の方法により試験開始の 2~3 か月前に Study1 の被験者全員について確認した。一夜絶食の後、白米摂取直前、30 分後、60 分、90 分、120 分の 5 点において血中グルコース測定キット Glutest Sensor Neo $\alpha$  (株三和化学



研究所) を用いて測定した。

CoQ10 :

ソフトゼラチンカプセル製剤として供試した (「コーキューテン」日清ファーマ(株))。

CoQ10 カプセルは CoQ10 (30 mg)、タンパク質 (120 mg)、脂肪 (290 mg)、炭水化物 (30 mg) からなり熱量は 3.2 kcal /カプセルであった。カプセルはいずれも水 100 ml とともに摂取した。

対照 :

対照とした Session では水 100 ml のみを摂取した。。

### 試験プロトコール

Study1 : 被験品の摂取パターンに基づいて以下に示す 3 通りの試験

(Session1A~1C) を実施した。Session1A (visit 1) : 非摂取、Session1B (visit 2) : 750 mg の LC (L-カルニチン)、Session 1C (visit 3) : 750 mg の LC + CHO (炭水化物)。

Session 1B および Session 1C ではサイクルエルゴメーターによる運動負荷をかける直前に被験品を摂取した。EE および npRQ は運動の開始時を起点とし、そこから-1 時間、-0.5 時間、2 時間、3 時間、および 4 時間目の各時点で測定した。各 Session で運動の開始から-1 時間 (ベースライン値) および 4 時間 (回復期の終点) に採尿・採血を合計 2 回行った。被験品の摂取によるキャリアオーバーを防ぐため、各 Session の間には 1 週間の間隔を設けた。

Study 2 : 被験品の摂取パターンに基づいて以下に示す 4 通りの試験

(Session2A~2D) を実施した。Session2A (visit 1) : 非摂取、Session2B (visit 2) : 500 mg の LC、Session2C (visit 3) : 30 mg の CoQ10、Session2D (visit 4) : 500 mg の LC + 30 mg の CoQ10。Session2B、2C、および 2D ではサイクルエルゴメーターの運動負荷の直前に被験品を摂取した。EE および npRQ は運動の開始時を起点とし、そこから-1

時間、-0.5時間、0.5時間、2時間、3時間、および4時間の時点で測定した。各 Session で運動の開始から-1時間（ベースライン値）、0.5時間（運動直後）および4時間（回復期間の終点）に採尿・採血を合計3回行った。被験品の摂取によるキャリーオーバーを防ぐため、各 Session の間には1週間の間隔を設けた。

### 3.2.3 ベースライン値の比較

Study1 と Study2 の間での被験者特性の比較可能性について、試験開始直時（Session1A および Session2A）時点で得られた血中 L-カルニチン、アセチルカルニチン、総カルニチン類の濃度、身長、体重、BMI、npRQ、REE を比較して評価した。また Study1 の各 Session、Study 2 の各 Session におけるの最初の休息時（Fig 1 参照）時点での L-カルニチン、アセチルカルニチン、総カルニチン類の濃度および npRQ、REE 値を比較することによって、Session 間での摂取被験品によるキャリーオーバーおよび試験間の相互作用（順序効果）の有無について評価した。

### 3.2.4 生化学パラメータの分析

試験の安全性評価のために、Study2（Session2 A および Session2 B）のベースライン値および4時間目で行った採血サンプルを使用して以下の生化学的パラメータを分析した。血清アルブミン、総タンパク質、腎機能（血中尿素窒素、尿酸、クレアチニン）、肝機能（Asp アミノトランスアミナーゼ、Ala アミノトランスアミナーゼ、トリグリセリド、総コレステロール、高密度リポタンパク質、および低密度リポタンパク質）。当該分析は、SRL(株)（愛知県小牧元町）にて実施した。

### 3.2.5 統計処理

以下本文、表、図に示されているデータは「平均値 ± 標準偏差」として記述

した。体組成に関する Study1 および Study2 間の被験者特性のベースライン値比較は REE、RQ、L-カルニチン、アセチルカルニチン、総カルニチンの血中濃度を、パラメトリック法 (unpaired t 検定) およびノンパラメトリック法 (Mann-Whitney's U 検定<sup>19)</sup>) によって評価した。順序効果とウォッシュアウト評価のために行った Session 間の各パラメータの差異についてはパラメトリック法 (Tukey-Kramer 検定) とノンパラメトリック法 (Steel-Dwass 検定<sup>20)</sup>) によって評価した。炭水化物摂取後の血糖応答についてはベースライン値を基準として 30 分、60 分、90 分、120 分時点での血糖値をパラメトリック法 (Dunnett 検定<sup>21)</sup>) およびノンパラメトリック法 (Steel 検定<sup>22)</sup>) で評価した。各 Session (Study1 : Session1A~1C、Study2 : Session2A~2D の各測定時点内での npRQ と EE の多重比較分析はパラメトリック法 (Tukey-Kramer 検定) およびノンパラメトリック法 (Steel-Dwass 検定<sup>20)</sup>) を用いて行った。npRQ と血液パラメータ (総ケトン体とカルニチン類) 間の相関関係および総ケトン体類とカルニチン類ケトン体の相関関係の評価については総ケトン体の分布が非正規であったため、Spearman's rank 検定<sup>23)</sup> から求めた相関係数によって評価した。すべての統計分析には、BelleCurve for Excel ソフトウェア (ver. 3. 209) (Social Survey Research Information Co., Ltd.) を用いた。P < 0.05 を統計的有意差ありとみなした。

### 3.3 結果

#### 3.3.1 ベースラインの評価

被験者の特性と各試験のベースライン比較を Table 1. に記した。Study 1 と Study2 の体格組成および基礎代謝 (身長、BW、BMI、npRQ、REE) および血中カルニチン類のベースライン値を比較したところ、各パラメータ間における差異はパラメトリック検定およびノンパラメトリック検定のいずれにおいても有意差は検出されなかった (Table 1 (i))。従って Study1 と Study2 の事象を比較することは可能であると

判断された。visit 毎、パラメータ毎のベースライン値 (Study1 の Session1A~1C、研究 2 の Session2A~2D) を Table 1 (ii) に示す。同一パラメータ内における visit 間を 2 標本ごとにパラメトリックテストとノンパラメトリックテストにかけて行った多重比較分析では有意差は認められなかった。従って各試験の Session 間で順序効果またはキャリーオーバー効果はないものと判断された。

### 3.3.2 L-カルニチンの摂取が npRQ および REE に与える影響

Table 2 に L-カルニチンを 750 mg および 500 mg 単回摂取したケースにおける npRQ と EE に対する影響を示す。摂取量 750 mg (Session 1 B) では運動後の回復期間 (摂取後 2 時間、3 時間、4 時間および平均 2-4 時間) において Session1A の npRQ が有意に減少した ( $p < 0.05$ ) (Fig 2)。一方 EE レベルは影響を受けなかった (Fig 3)。

50 g の炭水化物の摂取が L-カルニチンのエネルギー代謝に及ぼす影響を検討するため、それに先立って Study1 の全被験者を対象として血糖値の変化パターンを確認した。その結果ベースライン値、30 分、60 分、90、120 分における血中グルコース濃度はそれぞれ  $80.2 \pm 8.1$  mg / dL、 $140.8 \pm 4.3$  mg / dL、 $115.6 \pm 17.5$  mg / dL、 $116.2 \pm 14.1$  mg / dL および  $107.8 \pm 13.5$  mg / dL であり、摂取後 30~120 分のいずれの時点でもベースライン値に対して有意に上昇することが確認された ( $P < 0.05$ )。750 mg の L-カルニチンをこの炭水化物と一緒に摂取した Session1C の試験では Session1B (L-カルニチン 750 mg 摂取) でみられた npRQ の減少効果は完全に消失した (Fig 2)。

Study2 の Session2B (L-カルニチン 500 mg 摂取) においては Session 2 A (無摂取時) に比較して運動直後の脂肪利用が有意に亢進したが、このとき逆に平均のエネルギー産生量は 17 %低下していた ( $p < 0.05$ ) (Fig 4)。

Study2 では 30 mg の CoQ10 を 500 mg の L-カルニチンとともに摂取したケースでのエネルギー代謝の変化についても検討した (Session2B、Session2D)。いずれにおいても運動直後の脂肪利用は、非摂取 (Session2A) に比較して有意に亢進

**Table 1. Summary of the subject characteristics and baseline comparison**

**(i) Comparison of subjects characteristics enrolled in Study 1 and Study 2 at the time of entry into the studies**

	age (y)	height (cm)	BW (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	npRQ	REE (kcal/kg BW/day)	FC (μM)	ALC (μM)	TC (μM)
Study 1 (n = 5) 1 male, 4 females	22	160.2 ± 2.9	53.3 ± 6.7	20.8 ± 2.3	0.84 ± 0.02	27.8 ± 2.5	37.9 ± 5.9	8.44 ± 1.8	46.3 ± 8.0
Study 2 (n = 6) 6 females	22	163.4 ± 5.7	52.4 ± 4.7	19.6 ± 1.0	0.84 ± 0.06	28.0 ± 2.8	37.2 ± 6.8	10.8 ± 6.3	48.0 ± 11.9
differences Study 1 vs. 2	ND	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

(mean ± SD)

Baseline comparabilities of the subject characteristics between Study 1 and Study 2 on height, body weight, BMI, REE and RQ were statistically estimated by parametric method (unpaired *t*-test) and non-parametric method (Mann-Whitney's U test<sup>19</sup>). Differences resulting in P-values less than 0.05 were considered statistically significant.

Abbreviations; BMI: body mass index, BW: body weight, REE: resting energy expenditure, npRQ: non-protein respiratory quotient, ND: not different, NS: not significant between Study 1 and Study 2

**(ii) Baseline value comparisons of npRQ, REE and serum carnitines on every visit**

Study 1	baseline values			Difference <sup>a)</sup>	Difference <sup>b)</sup>
	visit 1 (Session 1A)	visit 2 (Session 1B)	visit 3 (Session 1C)		
npRQ	0.84 ± 0.02	0.84 ± 0.02	0.81 ± 0.08	NS	NS
REE (kcal/kg BW/day)	27.8 ± 2.5	29.3 ± 3.6	27.8 ± 3.9	NS	NS
LC (μM)	37.9 ± 5.9	33.7 ± 7.3	35.8 ± 4.7	NS	NS
ALC (μM)	8.44 ± 1.8	8.14 ± 2.4	9.56 ± 4.1	NS	NS
TC (μM)	46.3 ± 8.0	41.9 ± 9.2	45.4 ± 8.2	NS	NS

Study 2	baseline values				Difference <sup>a)</sup>	Difference <sup>b)</sup>
	visit 1 (Session 2A)	visit 2 (Session 2B)	visit 3 (Session 2C)	visit 4 (Session 2D)		
npRQ	0.84 ± 0.06	0.83 ± 0.04	0.79 ± 0.05	0.77 ± 0.03	NS	NS
REE (kcal/kg BW/day)	28.0 ± 2.8	27.2 ± 1.9	28.0 ± 1.9	27.5 ± 1.9	NS	NS
LC (μM)	37.2 ± 6.8	37.7 ± 9.3	41.7 ± 2.9	37.0 ± 8.1	NS	NS
ALC (μM)	10.8 ± 6.3	8.3 ± 1.8	10.6 ± 1.7	9.4 ± 3.4	NS	NS
TC (μM)	48.0 ± 11.9	46.0 ± 9.9	52.3 ± 3.8	46.4 ± 10.1	NS	NS

(mean ± SD)

Statistical analyses were made on each parameter among the values of every paired visit by multiple comparisons with parametric test: Tukey-Kramer method (Difference<sup>a)</sup>) and non-parametric test: Steel-Dwass method<sup>20</sup>) (Difference<sup>b)</sup>). Differences resulting in P-values less than 0.05 were considered statistically significant.

Abbreviations: npRQ (non-protein respiratory quotient); REE (resting energy expenditure); BW (body weight); LC (free L-carnitine); ALC (acetyl carnitine); TC (total carnitine); NS (not significant among the visits)

Table 1. 被験者属性の初期値の比較。上表(i)は Study 1,2 間の被験者の体格組成、基礎代謝、血中カルニチン類の濃度平均値を比較し、両試験の被験者属性に有意な差がないことを対応のある *t*-検定で確認した。下表(ii)は Study 1,2 各々の visit 間 (1 週間の washout 期間を設定) において順序効果や摂取サンプルのキャリーオーバー効果がないことを確認した。すべての visit どうしで Study 毎にすべての 2 群間の比較を Tukey-Kramer 法、Steel-Dwass 法で検定した。

**Table 2. Effect of L-carnitine ingestion on npRQ and REE on recovery process**

(Study 1)

Session	time after ingestion	npRQ			
		2 h	3 h	4 h	mean 2 - 4 h
1A	non-ingestion	0.79 ± 0.05	0.81 ± 0.03 <sup>b, x</sup>	0.80 ± 0.01 <sup>x</sup>	0.80 ± 0.03 <sup>b, y</sup>
1B	LC 750 mg	0.73 ± 0.02 <sup>a*</sup>	0.74 ± 0.02 <sup>a*, y†</sup>	0.74 ± 0.03 <sup>a*, y†</sup>	0.74 ± 0.02 <sup>a*, x†</sup>
1C	LC 750 mg + CHO	0.82 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.04 <sup>b, x</sup>	0.82 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.83 ± 0.04 <sup>b, y</sup>
(mean ± SD)					

Session	time after ingestion	REE (kcal/day/kgBW)			
		2 h	3 h	4 h	mean 2 - 4 h
1A	non-ingestion	30.7 ± 2.6	27.9 ± 3.0	29.8 ± 4.4	29.5 ± 3.2
1B	LC 750 mg	30.3 ± 4.4	28.7 ± 2.9	31.0 ± 3.2	30.0 ± 3.3
1C	LC 750 mg + CHO	32.8 ± 3.4	31.6 ± 2.7	30.5 ± 3.7	31.6 ± 2.9
(mean ± SD)					

Statistical analyses were performed by Tukey-Kramer test and Steel-Dwass test<sup>20)</sup> among Session 1A, 1B and 1C within each time slot. \*p < 0.05: detected by Tukey-Kramer test; †p < 0.05: detected by Steel-Dwass test. Means at each time slot containing different letters (a vs. b for Tukey-Kramer test; x vs. y for Steel-Dwass test) within the superscripts differ significantly. Abbreviations; LC: L-carnitine, CHO: 50 g of available carbohydrate, npRQ: non-protein respiratory quotient, REE: resting energy expenditure, BW: body weight

(Study 2)

Session	time after ingestion	npRQ				mean 2-4 h
		0.5 h※	2 h	3 h	4 h	
2A	non-ingestion	0.90 ± 0.03 <sup>b, y</sup>	0.78 ± 0.03	0.77 ± 0.04	0.77 ± 0.03	0.77 ± 0.03
2B	LC 500 mg	0.83 ± 0.03 <sup>a*, x†</sup>	0.77 ± 0.03	0.77 ± 0.03	0.76 ± 0.03	0.76 ± 0.03
2C	CoQ <sub>10</sub>	0.90 ± 0.03 <sup>b, y</sup>	0.79 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.78 ± 0.02
2D	LC 500 mg + CoQ <sub>10</sub>	0.83 ± 0.04 <sup>a*</sup>	0.75 ± 0.02	0.74 ± 0.02	0.75 ± 0.03	0.75 ± 0.02
(mean ± SD)						

Session	time after ingestion	REE (kcal/day/kgBW)				mean 2-4 h
		0.5 h※	2 h	3 h	4 h	
2A	non-ingestion	37.6 ± 4.0 <sup>a**</sup>	27.5 ± 1.3	27.4 ± 2.4	28.5 ± 3.0	27.8 ± 1.8
2B	LC 500 mg	31.3 ± 1.6 <sup>b</sup>	28.1 ± 1.7	27.9 ± 1.8	27.7 ± 2.0	27.9 ± 1.7
2C	CoQ <sub>10</sub>	33.9 ± 3.2	28.4 ± 1.9	28.5 ± 2.1	29.1 ± 2.9	28.7 ± 2.2
2D	LC 500 mg + CoQ <sub>10</sub>	30.8 ± 1.3 <sup>b</sup>	27.3 ± 1.7	27.8 ± 1.7	27.6 ± 1.2	27.6 ± 1.2
(mean ± SD)						

Statistical analyses were performed by Tukey-Kramer test and Steel-Dwass test<sup>20)</sup> among Session 2A, 2B, 2C and 2D within each time slot. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01: detected by Tukey-Kramer test; †p < 0.05: detected by Steel-Dwass test. Means at the same time slot containing different letters (a vs. b for Tukey-Kramer test; x vs. y for Steel-Dwass test) within the superscripts differ significantly. ※: immediately after exercise. Abbreviations; LC: L-carnitine, CoQ<sub>10</sub>: coenzyme Q<sub>10</sub>, npRQ: non-protein respiratory quotient, REE: resting energy expenditure, BW: body weight

Table 2. 被験品摂取パターンの違いによる運動後安静時の呼吸商 (npRQ)、エネルギー産生量 (REE) の変化を測定時間ごとに比較した。Study1(上表) : LC 750 mg を摂取したとき non-ingestion と比較して運動後の安静時に脂肪利用が有意に促進した。このときエネルギー産生量には変化がなかった。CHO(炭水化物)摂取によって脂肪利用の促進効果は消失した。Study 2 (下表) : LC 500 mg を摂取したとき運動直後(0.5 h)での脂肪利用が有意に促進した。このときエネルギー産生量は逆に有意に低下した。CoQ<sub>10</sub> の摂取はこの試験条件下ではエネルギー代謝にまったく影響を与えなかった。

した ( $p < 0.05$ )。一方、CoQ10 の単独摂取 (Session2C) では本試験で測定した時間範囲内 (4 時間まで) において npRQ や EE に何ら影響は見られなかった。

### 3.3.3 npRQ と血中アセチルカルニチン濃度、npRQ と血中総ケトン体濃度の間における相関

npRQ と血清アセチルカルニチン濃度との相関関係について検討した。

Session1A および Session1B で得られたデータセットから作成した散布図 (Fig 5.) および Session2A および Session2B で得られたデータセットから作成した散布図 (Fig 6 (a)) における相関係数 (R) は各々 -0.70 ( $P < 0.001$ ) および -0.61 ( $P < 0.001$ ) であった。Study2 の npRQ と総ケトン体の相関関係についても調べたところ、Figure 6 (b) に示す有意な相関が確認された ( $R = -0.68$ ,  $P < 0.001$ )。

### 3.3.4 血中総ケトン体濃度と血中カルニチン類濃度の間における相関

前項で npRQ は血中のアセチルカルニチンおよび総ケトン体濃度と有意な相関を示したことから npRQ を中間媒介パラメータと仮定し、血清アセチルカルニチンとケトン体との相関関係を Session2A と Session2B の双方で調べた。その結果を Fig 7 に示す。Study2 での採血は安静状態 (Fig 1 における 1 h と 4 h) および運動直後 (0.5 h) で行っている。-1 h および 4 h 時点における EE はそれぞれ  $27.6 \pm 2.5$  kcal/kgBW/day および  $28.1 \pm 2.5$  kcal/kgBW/day であり、0.5 h 時点との値 ( $34.4 \pm 4.4$  kcal/kgBW/day) とは有意に異なっていた ( $P < 0.01$ )。このことから運動直後 (0.5 h) でのアセチルカルニチンに関するデータセットは、Fig 7 (a) および Fig 7 (b) に示す安静時 (-1 時間および 4 時間) のデータと区別して評価することにした。総ケトン体とアセチルカルニチンとの相関は運動直後および安静時において各々  $R : 0.85$  ( $P < 0.001$ ) および  $R : 0.78$  ( $P < 0.001$ ) であった。これら運動直後および安静時の 3 時点

ですべてのデータセットを対象としたケースにおける相関は  $R : 0.77$  ( $P < 0.001$ ) であった (**Fig 7 (c)**)。一方、総ケトン体と総カルニチンの間には有意であるもののアセチルカルニチンとの相関と比較してはるかに弱かった ( $R = 0.38$ ,  $P < 0.05$ )。また総ケトン体と遊離カルニチンとの間には全く相関はみられなかった ( $R = -0.034$ ,  $P = 0.85$ ) (**Fig 8**)。

### 3.3.5 選択エネルギーが異なる状況下での血中カルニチン類の変化

Table 3 に遊離カルニチン、アセチルカルニチン、総カルニチン各々についてベースライン値と 4 時間後値の血清濃度を比較した結果を示す。非摂取 4 時間後における遊離カルニチンの値はベースラインから  $4.4 \mu\text{M}$  (Study1) および  $3.1 \mu\text{M}$  (Study2) 減少していたのに対し、アセチルカルニチン濃度は  $5.0 \mu\text{M}$  (Study1) および  $3.0 \mu\text{M}$  (Study2) 増加していた。その結果として総カルニチンはほとんど変化せず、 $+0.6 \mu\text{M}$  (Study1) および  $-0.1 \mu\text{M}$  (Study2) であった。L-カルニチン摂取時にはその dosage とは無関係に、4 時間後のアセチルカルニチン濃度は 230 % ( $+10.9 \mu\text{M}$ ) 増加した。それとは対照的に、遊離カルニチンは 750 mg 摂取時 ( $+17.9 \mu\text{M}$ ) および 500 mg 摂取時 ( $+9.9 \mu\text{M}$ ) であり用量依存的な増加がみられた。また炭水化物と L-カルニチンを同時に摂取したケースでは、アセチルカルニチンの増加 ( $+1.8 \mu\text{M}$ ,  $+19.2\%$ ) はわずかであったのに対し遊離カルニチンの増加はより顕著であった ( $+15.3 \mu\text{M}$ ,  $+42.7\%$ )。



**Table 3. Serum level of free-, acetyl- and total carnitine**

(Study 1)	free carnitine ( $\mu\text{M}$ )		acetylcarnitine ( $\mu\text{M}$ )		total carnitine ( $\mu\text{M}$ )	
	baseline	4 h	baseline	4 h	baseline	4 h
noningestion (Session 1A)	37.9 $\pm$ 5.9	33.5 $\pm$ 4.9	8.44 $\pm$ 1.8	13.4 $\pm$ 2.6	46.3 $\pm$ 8.0	46.9 $\pm$ 7.1
$\Delta$ : baseline vs. 4h	◀ - 4.4 ▶		◀ + 5.0 ▶		◀ + 0.6 ▶	
LC (750 mg) (Session 1B)	33.7 $\pm$ 7.3	51.6 $\pm$ 15.3	8.14 $\pm$ 2.4	19.0 $\pm$ 6.0	41.9 $\pm$ 9.2	70.6 $\pm$ 20.4
$\Delta$ baseline vs. 4h	◀ + 17.9 ▶		◀ + 10.9 ▶		◀ + 28.7 ▶	
LC (750 mg) + CHO (Session 1C)	35.8 $\pm$ 4.7	51.1 $\pm$ 3.6	9.56 $\pm$ 4.1	11.4 $\pm$ 2.3	45.4 $\pm$ 8.2	62.5 $\pm$ 3.4
$\Delta$ : baseline vs. 4h	◀ + 15.3 ▶		◀ + 1.8 ▶		◀ + 17.1 ▶	
abbreviations: LC: L-carnitine, CHO: 50 g of available carbohydrate						(mean $\pm$ SD)
(Study 2)	free carnitine ( $\mu\text{M}$ )		acetylcarnitine ( $\mu\text{M}$ )		total carnitine ( $\mu\text{M}$ )	
	baseline	4 h	baseline	4 h	baseline	4 h
noningestion (Session 2A)	37.2 $\pm$ 6.8	34.1 $\pm$ 4.5	10.8 $\pm$ 6.3	13.8 $\pm$ 6.7	48.0 $\pm$ 11.9	47.9 $\pm$ 8.1
$\Delta$ : baseline vs. 4h	◀ - 3.1 ▶		◀ + 3.0 ▶		◀ - 0.1 ▶	
LC (500 mg) (Session 2B)	37.7 $\pm$ 9.3	47.6 $\pm$ 14.8	8.3 $\pm$ 1.8	19.2 $\pm$ 4.0	46.0 $\pm$ 9.9	66.8 $\pm$ 14.7
$\Delta$ : baseline vs. 4h	◀ + 9.9 ▶		◀ + 10.9 ▶		◀ + 20.8 ▶	
abbreviation: LC: L-carnitine						(mean $\pm$ SD)

Table 3. エネルギー源が異なる条件下での血中遊離カルニチン、アセチルカルニチン、総カルニチン濃度の初期値から4時間後への変化量の比較を行った。Study 1、2とも非摂取時には遊離カルニチンの減少量にほぼ等しいアセチルカルニチンの増加が認められ、その結果として総カルニチンは変化しなかった。LCを摂取した場合、doseによらずStudy 1、2ともにアセチルカルニチンの上昇値で等しい値が得られた。Study 1で炭水化物(CHO)摂取時には専ら遊離カルニチンのみ濃度が高まり、アセチルカルニチンの変化は微小なレベルにとどまった。

### 3.3.6 安全性に関する評価

Study2における生化学的検査の結果をTable 4に示す。無摂取時およびL-カルニチン500mg摂取時の総ケトン体平均値は各々220.3  $\pm$  201.1 (mg/dL) および297.3  $\pm$  222.6 (mg/dL)であった。本試験で得られた総ケトン体濃度の最大値は687 (mg/dl)であった。ただしStudy1、Study2を通じて心身いずれにおいても体調不良を訴えた被験者はいなかった。

**Table 4. Blood biochemical parameters on Study 2 (Session 2A and Session 2B)**

blood parameters	standard values <sup>51)</sup>	non-ingestion (Session 2A)		L-carnitine 500 mg (Session 2B)	
		0 h	4 h	0 h	4 h
acetoacetate (μM)	5.5 >	2 >	2.0 ± 2.4	7.2 ± 3.5	35.5 ± 23.8※
3-hydroxy butyric acid (μM)	85 >	48.0 ± 45.3	218.8 ± 198.6※	40.2 ± 18.8	261.8 ± 199.3※
total ketone body (μM)	130 >	48.3 ± 45.2	220.8 ± 201.1※	47.4 ± 22.5	297.3 ± 222.6※
triglyceride (mg/dl)	30 ~ 117	54.5 ± 10.3	52.7 ± 16.4	68.3 ± 30.8	46.0 ± 13.9
total cholesterol (mg/dl)	142 ~ 248	187.7 ± 21.8	182.5 ± 20.0	178.2 ± 27.6	172.7 ± 28.8
high-density lipoprotein (mg/dl)	48 ~ 103	76.5 ± 12.2	74.2 ± 10.4	71.7 ± 15.9	70.2 ± 16.6
low-density lipoprotein (mg/dl)	65 ~ 163	98.3 ± 12.8	94.5 ± 11.3	95.0 ± 13.4	92.8 ± 13.7
total protein (g/dl)	6.6 ~ 8.1	7.2 ± 0.3	7.2 ± 0.2	7.3 ± 0.4	7.2 ± 0.3
albumin (g/dl)	4.1 ~ 5.1	4.6 ± 0.2	5.0 ± 1.0	4.6 ± 0.4	4.7 ± 0.3
Asp aminotransaminase (U/l)	13 ~ 30	14.5 ± 3.1	14.2 ± 2.5	15.3 ± 2.5	16.0 ± 2.8
Ala aminotransaminase (U/l)	7 ~ 23	6.5 ± 2.8	4.8 ± 1.7	6.2 ± 1.8	6.8 ± 0.8
blood urea nitrogen (mg/dl)	8 ~ 20	11.7 ± 1.7	11.5 ± 2.2	10.3 ± 1.8	10.2 ± 0.9
creatinine (U/l)	0.46 ~ 0.79	0.66 ± 0.1	0.64 ± 0.1	0.64 ± 0.1	0.62 ± 0.1
uric acid (mg/dl)	2.6 ~ 5.5	4.2 ± 0.8	4.3 ± 0.9	4.2 ± 0.7	4.3 ± 0.7

※: values higher than the standard criteria

(means ± SD)

### 3.4 考察

試験 2. では 1,000 mg/day 以下の L-カルニチン摂取がヒトのエネルギー代謝に対し即効的におよぼす影響について検討した。L-カルニチンの最も基本的な働きが長鎖脂肪酸をミトコンドリアマトリクス内に運搬してβ-酸化を促す作用であること、また体内の L-カルニチンのうち 90 %以上が骨格筋に蓄積されること<sup>11)</sup>、これらの基本的な事実から従来 L-カルニチンの摂取効果に関する研究は専ら筋肉を作用の場とみなして行われたものが多い。経口摂取した L-カルニチンをいかに効率よく筋肉に蓄えるかという観点では Wall らによる方法が知られている<sup>13-14)</sup>。すなわち L-カルニチン 1.36 g と炭水化物 80 g を 1 日に 2 回 24 週間にわたって摂取することによって、L-カルニチンの筋肉内濃度と全身のエネルギー産生が各々 20 % と 6 % 高まったというものである。また彼らはこの筋への吸収が、インスリン依存的に高められたことを遺伝子発現解析の結果から推定している<sup>13-14)</sup>。

しかしながら L-カルニチンの組織への分布を薬動学的にみれば筋肉は平衡化速度が比較的遅いコンパートメントであり、その代謝回転には 105 h を要する

という報告もある<sup>12)</sup>。この観点から L-カルニチンを単回摂取したときに何らかの即効的な応答が検出されるとすれば、そのイベントの場となる臓器が筋肉であるとは想定し難い。

一方ヒト試験で L-カルニチンの経口摂取に即効的な効果が見られたとする報告もいくつか出されている<sup>24-27)</sup>。しかしながら被験者に特別な運動経験があるか否か、摂取量、他のエネルギー源成分の有無、摂取のタイミングの差異など試験デザインの多様性に基づく影響もあり、現段階では確固たる結論が得られている状況にはない。また即効性が認められたとしている論文報告においてもその作用機序にまで踏み込んだ考察に至っているものは見あたらない。既往研究はこの点に課題を残すものであった。

このような状況の下、本試験では 500~750 mg の L-カルニチンを単回投与することにより、再現性よく脂肪の利用が促進されることを示す結果が得られた。経口摂取した L-カルニチンは、この分子に特異的なナトリウム依存性有機カチオン輸送体である OCTN2 を介して小腸から吸収される<sup>9-10)</sup>。その後 L-カルニチンは門脈循環を介して肝臓に至る。一方、L-カルニチンは早くも摂取後 30 分には静脈血中に出現し、2~4 時間でなだらかなピークに達した後数時間以上かかって徐々に低下してゆく<sup>28)</sup>。筋肉とは異なり肝臓の代謝回転は 1.3 h と短いことから<sup>11)</sup>、2~4 時間以内になんらかの応答が得られる可能性があるものと想定された。Study2 では L-カルニチン摂取後 30 分にあたる運動終了の直後に 17~18 % の有意なエネルギー産生の低下がみられた。エネルギー産生の低下は、npRQ の減少を伴った変化であった。このことは脂肪の利用が促進されることが結果としてエネルギーの節約につながったことを意味している。L-カルニチンの即効性に関する既往研究においても酸素消費量、肺換気量、血中乳酸<sup>24)</sup>、心拍数および血中乳酸<sup>25)</sup> が有意に減少したとの報告がある。これらの試験ではいずれも、運動の 1 時間前に L-カルニチン摂取が行われている。著者のひとは、L-カ

ルニチンを摂取することによって同じ総量の仕事を達成するために必要とされる酸素消費量が少なくて済む、もしくは同じ酸素消費によって得られる作業出力が増加すると表現している<sup>24)</sup>。われわれの行った試験でL-カルニチン補給によってもたらされたエネルギー産生の減少はこの点で既往の報告と整合していた。前述のように Stephens らは、炭水化物とともにL-カルニチンを継続的に摂取することによってこの成分の筋肉への蓄積を促すことによってエネルギー産生が増大することを示した<sup>13) 14)</sup>。ここで同著者らは筋生体組織検査 (muscle biopsy) を実施し、筋肉中濃度の増加を確認しているため、そのアウトカム (エネルギー産生の増大) が惹起された理由はほぼ明解である。一方前述のように即効性関連の試験<sup>24-27)</sup> については関連臓器については全く考察されていない。ケトン体が専ら肝臓で生成される成分であるという点で、ケトン体は肝マーカーのひとつとみなすことができる。本章ではこの点に着目し、肝での脂質代謝に焦点を絞ってL-カルニチンの即効性を考えることとした。いずれにせよエネルギー代謝ひとつをとっても多臓器でユニークな役割りを演じているL-カルニチンの試験についてはいかにして標的臓器を明確に区別できるかが試験デザインを固めて行く上におけるポイントであると考えられる。

CoQ<sub>10</sub> はミトコンドリアの電子伝達系の主要構成要素のひとつであるほか、例えば3T3-L1 前脂肪細胞においてAMP kinase を介したPPAR $\alpha$  の誘導により脂肪酸の $\beta$ -酸化を亢進させる機能を有することが報告されている<sup>16)</sup>。Enami らは競泳選手を被験者としてCoQ<sub>10</sub> を短期間 (2週間) 摂取させる試験を行い<sup>29)</sup>、酸化ストレスの予防効果を得ている。作用標的であるオルガネラがミトコンドリアであり、この点でL-カルニチンと共通であることから本試験 (Study2) では両成分を同時に摂取することで何らかの相乗的もしくは相補的な応答が得られるのではないかと予想した。しかしながら結果的にはCoQ<sub>10</sub> は呼吸商、エネルギー産生いずれに対しても無反応であり、同時摂取で得られた変化は専らL-カルニチンに起因するものと考えられた。つまり同時に

摂取した L-カルニチンと CoQ10 は独立の挙動を示したものと思われる。CoQ10 は吸収率が低い上、親油性であるため門脈系ではなく腹部リンパ管から吸収され、全身に分布するまで数時間以上を要する。今回の試験で CoQ10 の機能が検出できなかったことはこれらの点に起因している可能性がある。今後この点を勘案の上、水溶化された製剤を用いることや摂取時間を数時間早めた試験デザインとする等の方法で検討する必要がある。

本試験の試験デザイン上の工夫点のひとつは、一夜絶食したあと、30 分間の有酸素運動を行うことで軽度の飢餓状態をつくりだすことであった。軽度の飢餓状態におくことによって肝グリコーゲンは枯渇状態に近づく。かかる状況にあってはホルモン感受性リパーゼが作動し脂肪組織から遊離脂肪酸 (NEFA) が放出される (「脂肪動員」の惹起)。最近の研究では、肝グリコーゲンの枯渇により、「肝臓-脳-脂肪神経軸」と呼ばれる肝臓特異的神経系から信号が発信されることが明らかにされている<sup>30)</sup>。別のヒト試験によれば、一夜の絶食を行うことにより肝グリコーゲンレベルは食後の状態 (360 mM/kg 肝重量) から 16 時間で 215 ミリモル/kg 肝重量にまで減少したことが報告されているが、ここでの減少率は 40 %に及ぶ<sup>31)</sup>。これに続けて有酸素運動を行うことによりその運動中あるいはその後のリカバリ期間における減少はさらに顕著なものとなることが想像される。他方、肝臓灌流に関するラット *in vitro* 試験では、飢餓条件下において肝臓のケトン体産生能が上昇することが実証されている<sup>32)</sup>。またケトン体の形成は、L-カルニチンによって促進されたともいう<sup>33)</sup>。本試験ではこれと同様の現象がヒト肝で惹起されることが確認されたものと考えられる。

ミトコンドリアマトリックスでは、長鎖脂肪酸は  $\beta$ -酸化により分解されアセチル CoA が生成する。絶食条件下ではとくに  $\beta$ -酸化が亢進しやすいため NADH および FADH<sub>2</sub> が大量に生成する。これが肝ミトコンドリアの電子伝達系の処理余力を上回るとアセチル CoA がとくに大量に蓄積する。この状態では TCA 回路が停滞を来し、

それに呼応してケトン体、3-ヒドロキシ酪酸、アセト酢酸、およびアセトンが生成する<sup>34)</sup>。とくに3-ヒドロキシ酪酸とアセト酢酸は血中に分泌されグルコース欠乏条件下でエネルギー需要の高まった骨格筋、心臓、脳などの重要な燃料として機能する。

前述のようにミトコンドリア内での $\beta$ -酸化（あるいは急激な解糖）などのエネルギー産生が亢進するとアセチル CoA が蓄積する。ここに遊離カルニチンが共存するとき L-カルニチンのアセチルエステルであるアセチルカルニチンが生成する。アセチルカルニチンの生成反応はカルニチンアセチルトランスフェラーゼ（CrAT：caritineacetyltransferase）によって触媒される。CrAT の反応は可逆的でありアセチル CoA /遊離 CoA 比の緩衝にも重要な役割を果たしている。L-カルニチンのアセチルバッファー作用として知られるこの反応は、急激な $\beta$ -酸化の亢進から生じるアセチル CoA の生成がおこった末に枯渇を来す遊離 CoA を確保する上においても重要である<sup>35)</sup>。アセチルカルニチンはミトコンドリアから全身血流に移動し脳を含むさまざまな標的器官に到達する。また余剰分は尿中に排泄される。本研究では、npRQ、総ケトン体、アセチルカルニチンの3つのパラメータの間に有意な相関関係が確認された

（**Figure 5~7**）。最も強い相関（ $R = 0.85$ 、 $P < 0.001$ ）は運動直後時点での総ケトン体とアセチルカルニチンの間で認められた（**Fig 7 (a)**）。この相関は脂肪利用が進むほど血中のアセチルカルニチン濃度が高くなることを示しており、本試験で観察された諸現象は「肝ミトコンドリア主導型」のエネルギー代謝の結果として説明される。

一方、総ケトン体と遊離カルニチンの間には全く相関関係が見出されなかった（**Fig 8 (b)**）。遊離カルニチンの一部が肝臓での脂肪燃焼に応じてアセチルカルニチンに一定量転換されるものと仮定すると、その結果あとに残された遊離カルニチンの量は本来存在したカルニチンプールからアセチル体への転換分（即ち脂肪燃焼で生じた総ケトン体の生成量に対応するアセチルカルニチン量）を差し引いた残りになるはずである。このように「最終的に未反応のまま残された遊離カルニチン」と「一定の

エネルギー出力の結果定量的に生じた総ケトン体」の間に全く相関がないことは、本来各被験者が保有していた遊離カルニチンプールの容量に大きな個人差があったことに起因するのではないかと推察される。

Table3 は摂取開始時から 4 時間目におけるカルニチン類の血清濃度の変化をみたものであるが、ここには以下に示すいくつかの特徴が指摘される。第一に、L-カルニチンを摂取しなかったケース (Session1A および Session2A) において、遊離カルニチンの減少量とアセチルカルニチンの増加量に正確なマテリアルバランスがみられることである。この点に関しては Study1 と Study2 で異なる被験者が異なっているにもかかわらずでほぼ同じ現象が認められた。すなわち遊離カルニチンの減少分 (-4.4 ~ -3.1  $\mu\text{M}$ ) は、アセチルカルニチンの増加分 (+3.0 ~ +5.0  $\mu\text{M}$ ) によって見かけ上相殺され、総カルニチンは実質的に変化しなかった (-0.1 ~ +0.6  $\mu\text{M}$ )。このことから (i) 血中の遊離カルニチンが脂肪燃焼量に応じて肝臓に流入し、(ii) その一部が CrAT によってアセチルカルニチンに転換され、(iii) その転換量に見合う分だけアセチルカルニチンが再び血中に分泌される、この一連の流れが化学量論的に進行したことが示唆される。肝における  $\beta$ -酸化の度合いと血中アセチルカルニチン濃度が対応していることを考慮に入れると「血中の遊離カルニチンとアセチルカルニチン間の物質収支」が肝ミトコンドリア内で進行する脂質代謝の状態を精確に反映している可能性が考えられ、非常に興味深い。第二に、L-カルニチンを摂取したケース (Session1B および Session2B) では運動後の回復期におけるアセチルカルニチンの増加レベルは L-カルニチンの摂取量 (500 mg、750 mg) によらず、+10.9 $\mu\text{M}$  と等しい値を示した。このことは、今回の試験デザインに関する限り、少なくとも 500 mg の L-カルニチンを事前補給しておくことによって運動後の回復期の代謝需要を十分満たせた可能性があることを示唆している。逆に 500 mg の摂取が運動直後の呼吸商やエネルギー消費に影響を及ぼしたことから、本来内在しているカルニチンレベルでは肝臓内は (カルニチン量に

関して) 飽和しておらず、摂取によって脂肪動員条件下で過剰蓄積したアセチル CoA のボトルネックが緩和されたとも考えられる。第三に、Study1(Session1C)でみられたように炭水化物が共存するケースでは 750 mg の L-カルニチンを補給してもアセチルカルニチンは高々 1.8  $\mu\text{M}$  の増加に留まった。これは炭水化物の補給によってアセチル CoA の蓄積が起こらなかったこと、すなわち「糖利用優先、脂質利用抑制」がクリアに行われていることに起因するものと説明される (carbon surplus condition)。

以上述べたふたつのエネルギー条件すなわち炭素欠乏状態・脂肪動員状態 (carbon deficit condition) および炭素余剰状態 (carbon surplus condition) における関連代謝の全体像を Fig 10 示した。Fig 10 (a)は、炭素欠乏、脂肪動員状態の下での代謝フローを示す<sup>30-32) 35)</sup>。Fig 6に見られるように脂肪動員下ではアセチルカルニチンとケトン体が血中で増加する。一方 Fig 10 (b)は炭素余剰状態での代謝フローを示す。Table 3 (Session1C) でみられたように炭水化物が燃料源として利用できる場合には解糖 (glycolysis) が優先的に選択される<sup>30) 35)</sup>。さらにこの条件下では脂肪合成 (lipogenesis) も誘導される<sup>36)</sup>。炭素過剰状態では余剰となったクエン酸がミトコンドリアから流出して脂肪酸合成系の主要中間体であるマロニル-CoA が生成する。マロニル-CoA は脂肪酸酸化の調節酵素である carnitinepalmitoyl transferase-1 (CPT-1) を阻害する<sup>37)</sup>。この状況で L-カルニチンを補給した場合、L-カルニチンは肝臓中に対応すべき基質 (上流側にあっては遊離脂肪酸、下流側にあってはアセチル CoA) を欠いて余剰となり速やかに血中に移動する。またその結果としてアセチルカルニチン濃度も低レベルとなる。Table 2 (Study1) および Table3 に示す結果 (遊離カルニチンの上昇およびアセチルカルニチンの低下、npQR 値の上昇) はこのような一連の理論的な予測と整合している。

肝臓の L-カルニチン含有量は、500 ~ 1,000  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  肝湿重量<sup>12) 38)</sup> と報告されている。いま、本研究の被験者の肝臓重量 (約 50 kg 体重) が 1 kg であると仮定する



と、そこでの内因性 L-カルニチン含有量は 500 ~ 1,000  $\mu\text{mol}$  (80 ~ 160 mg) と見積もられる。経口摂取された L-カルニチンの生物学的利用能は少なくとも 16 %<sup>39)</sup> であるので、500 mg の摂取分からは 80 mg 以上の L-カルニチンが肝臓に移送されるものと推定できる。この量的関係に加え肝臓での L-カルニチンの滞留時間 (turn over) が 1.3 h であることを考慮に入れると、今回の試験系で用いた摂取量 (500 ~ 750 mg) やデータ採取の時間枠 (~ 4 時間) は量的にも時間的にも必要十分に代謝応答を検出できる条件範囲にあったものと考えられる<sup>12)</sup>。

**Fig 9** に示すように、総ケトン体の血清濃度の分布幅は  $134.1 \pm 155.9 \mu\text{M}$  であったが、これはアセチルカルニチンの分布幅 ( $13.5 \pm 5.8 \mu\text{M}$ ) のおよそ 10 倍にもあたると。このようにふたつの血中成分の間には大きな変動幅のちがいがみられるにもかかわらず、両者間には強い相関が認められた ( $R = 0.77 \sim 0.85$ ) (Fig 4)。ケトン体自体がグリコーゲン枯渇状態下における重要な燃料そのものであることを考えると<sup>40)</sup>、血中に出現するケトン体の絶対量は血糖の濃度レベル (数百  $\mu\text{M}$ ) に見合うものである必要があるが、本試験で得られた総ケトン量のオーダーはその理論幅におよそ整合する。一方アセチルカルニチンもまた、酵素的にアセチル CoA に変換されるので、TCA 回路の一環に組み入れられてエネルギーに転換される可能性がある<sup>35)</sup>。しかしながら、本試験でみられた血中アセチルカルニチンの濃度は高々 20  $\mu\text{M}$  程度に過ぎず、そのような低い濃度レベルでは実用的な燃料として寄与できるとは考え難い。それでいてアセチルカルニチンの血中への移行は高精度に行われている。この点について以下に追加の考察を加えてみたい。

アセチルカルニチンの一部は血液脳関門を通過し中枢神経機能に関与した機能を有することが報告されている<sup>41)</sup>。ヒト被験者を対象としたポジトロン放出断層撮影法 (PET : positron emission computerized-tomography) 研究によれば血中アセチルカルニチンは脳内に移行したのち複数の脳領域 (前頭前野および側頭皮質、前帯状回、

小脳) に到達して滞留する。またアセチルカルニチンのアセチル部分は GABA ( $\gamma$ -アミノ酪酸) 等に転換され脳代謝に関与する<sup>42) 43)</sup>。Kuratsune らは慢性疲労症候群 (CFS) 患者の血中アセチルカルニチン濃度が健康人のそれよりも有意に低いことを報告している<sup>44)</sup>。CFS 患者と健常人との間の血中アセチルカルニチン濃度の差は  $\Delta 3.7 \mu\text{M}$  (男性) および  $\Delta 6.1 \mu\text{M}$  (女性) と微小ではあったが、疾病の有無に関しこの差は統計的に有意なものであった ( $P < 0.001$ )<sup>44)</sup>。血中アセチルカルニチン濃度の一見小さな差が重大な疲労感をもたらすとすれば、この分子はつねに数  $\mu\text{M}$  の範囲内で精密な制御を受けている可能性が示唆される。ここでふたたび本研究で認められた血清アセチルカルニチン濃度の変動に着目すると、グリコーゲン枯渇条件下での変化幅は  $\Delta 3.0 \sim \Delta 5.0 \mu\text{M}$  (**Table 3**) であり、CFS 研究のケースで報告されている変化幅 ( $\Delta 3.7 \sim \Delta 6.1 \mu\text{M}$ ) と非常に近い水準であった。また CFS 研究者らは脳の主要エネルギー源であるグルコースを静脈内投与することによって、脳へのアセチルカルニチンの取り込みが逆相関的に抑制されることを示している<sup>41)</sup>。これらを考慮すると、本試験でグリコーゲン欠乏時にみられた肝ミトコンドリアから血液への厳密なアセチルカルニチンの移行は、脳内のエネルギー代謝機能に何らかの関連をもっている可能性が考えられる。

Ando らはアセチルコリン代謝に注目したアセチルカルニチンの動物実験例を報告している<sup>45)</sup>。ここでは脳シナプスにおけるコリンの取り込み $\rightarrow$ アセチルコリンの合成 $\rightarrow$ アセチルコリンのシナプスからの放出という一連のプロセス (代謝回転) がアセチルカルニチンの投与により促進されることが認知症モデルラットで示され、Hebb-Williams 課題迷路を用いた学習能力の向上が 19 月齢のラットで確認されている。図 12 に示す通り、もともとアセチルカルニチンとアセチルコリンは非常に近い化学構造をもっており、分子進化的には同根の化学種である可能性もあり、この点大いに想像をかきたてられるところである。

中枢作用についてはその他、睡眠障害の一種であるナルコレプシーに対する L-カルニチン摂取試験が日本で実施されている（L-カルニチン 510 mg/日を 8 週間摂取：男性 15 名女性 13 名を被験者とした交叉二重盲検試験）<sup>46)</sup>。その結果 L-カルニチンを摂取した場合にまどろみの回数が有意に低下することが示された。作用機序は明らかではないが、当該研究では被験者の約半数が肥満であったことから脂質代謝と睡眠の関係が考察されている。

OCTN2 を介した血液から細胞へのカルニチンの取り込みメカニズムはよく解明されている<sup>9-10)</sup>。一方これとは対照的に、細胞内から血中への「流出のメカニズム」はほとんど知られていない。この点に関して、Suhre らは、アフリカツメガエル卵母細胞 (*Xenopus oocyte*) の上皮細胞基底膜に L-カルニチン排出トランスポーターが存在することを明らかにした<sup>47)</sup>。この研究はゲノムワイド関連研究 (Genome-wide association study: GWAS) のひとつとして行われたものである。データベースからメタ解析によって絞り込まれた代謝産物濃度に関与する 37 の遺伝子座位のうち、機能未知のモノカルボン酸トランスポーター：SL16A9 (MCT9) に着目し、その遺伝子産物が L-カルニチンの「細胞 ⇒ 血中」への運び出しを pH 非依存的に担っている輸送体タンパクであることを実験的に検証したのである。

前述の CFS 研究や本研究で見られた血清アセチルカルニチンレベルの高精度（とみえる）調節は、細胞内から血流へのアセチルカルニチンの移動が単純な受動拡散ではなく何らかの アセチルカルニチン排出トランスポーター等によって媒介されていることを想起させる。そのような仕組みが存在する可能性を L-カルニチンについて示した前述の GWAS 関連報告はこの文脈において示唆的である。

過剰な内臓脂肪を低減させることはメタボリックシンドロームを緩解して行く上において重要である。本研究からは、そのための方策として朝食前の 30 分間に 500 ~ 750 mg の L-カルニチンを摂取し、有酸素運動を行うことが脂肪誘導を行う上に

において実用的かつ有効な手法であると考えられる。Iwayamaらは朝食前に運動を行うことが比較した他のどのタイミングで行うよりも体脂肪の酸化に効果的であるということ報告している<sup>48)</sup>。一方空腹時にあまりに激しい運動を行うことは遊離脂肪酸の過剰な産生を招く可能性があるため、安全性の観点から留意する必要がある。Lemaitreらは横断的疫学研究の中で、急性心停止のリスクファクター分子としてパルミチン酸、オレイン酸、パルミトオレイン酸の3種を挙げている<sup>49)</sup>。遊離長鎖脂肪酸は界面活性をもつことから、これが繊細なミトコンドリアの脂質二重膜に不用意に接触すると膜透過性遷移誘導のリスクファクターとなる可能性をはらんでいる。とくに膜透過性遷移孔(permeability transition pore: PTP)と呼ばれるミトコンドリア膜に生じる「穴構造」が開放されるとチトクロームCの流出がおこりエネルギー代謝の停止はもとよりシリアスなアポトーシスを招くことにつながる。この点についてOyanagiらは遊離脂肪酸とL-カルニチンが共存することによって脂肪毒性による膜損傷が防がれβ-酸化能も維持されることをラット心筋のミトコンドリアを用いた*in vitro*実験によって示している<sup>50)</sup>。Table 4に示すように、本研究(Study2)ではケトン体以外の血液生化学的パラメータは試験終了時(摂取後4時間目 = 運動終了後3.5時間目)においてすべて基準以内に<sup>51)</sup>収まっていることが確認された。なお最近1,422人を被験対象とした短期的絶食プログラムに関するコホート研究が報告されており<sup>52)</sup>、その中では絶食によりケトン体の血中濃度が上昇することも示されているが、それを含むパラメータの変化が健康状態の改善にはむしろ安全かつ有益である示されている。われわれの今回の試験においても被験者の体調には心身とも特段の問題は見られなかった。

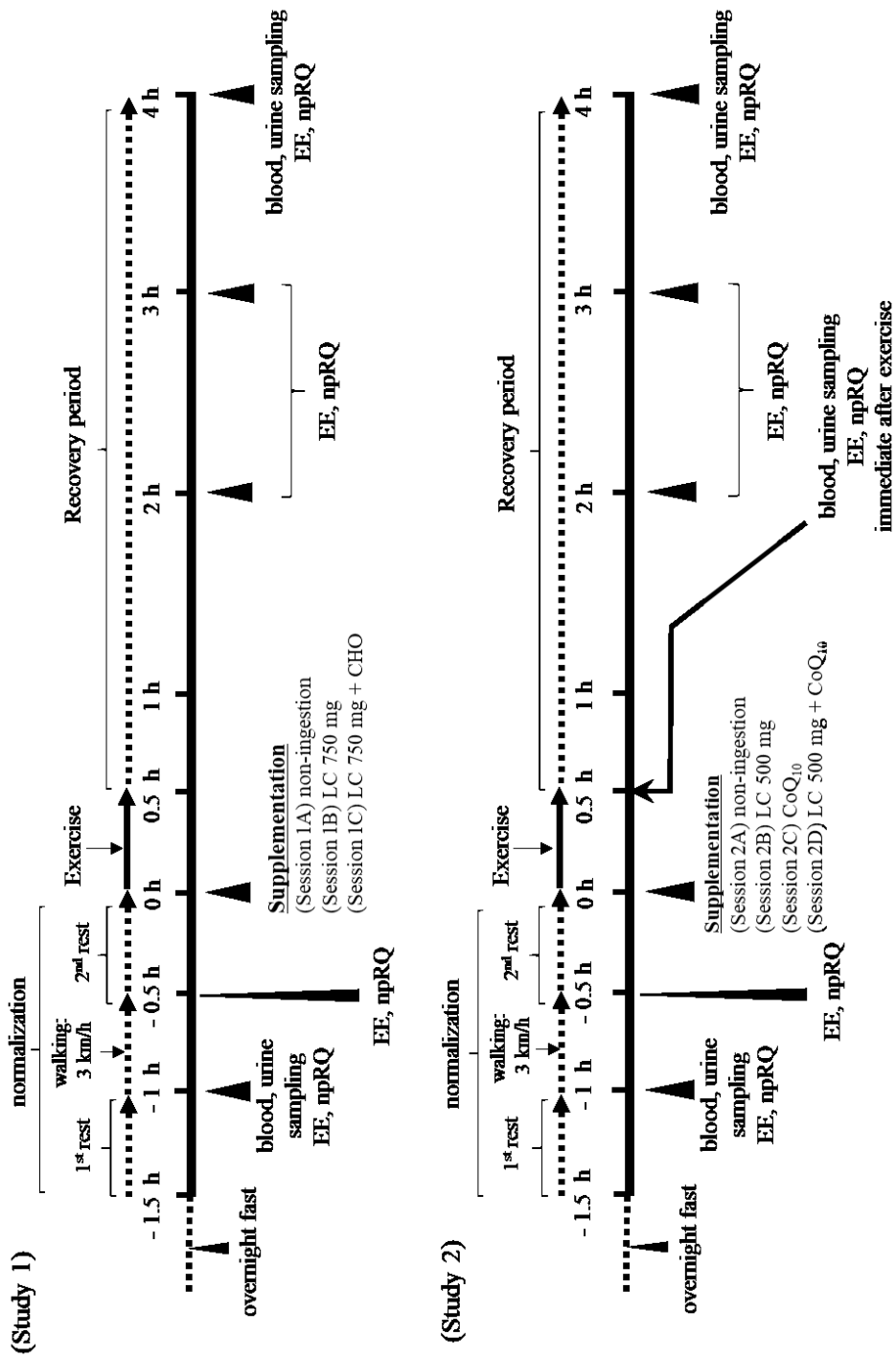
最後にこの研究における限界について記す。まず、ここで実施した試験はいずれも一群5~6名の若年健常女性を主体とした小規模試験であった。若年の完全健常者を被験者とした場合には夾雑要因が少ない分、体内で起こる基本的な現象が明解に見いだされると思われ、この点での一定のメリットがあるものとは考えるところであ

る。しかしながら L-カルニチンの効果を実践的に期待したいのはむしろ性別を問わない中高年層あるいはメタボリックシンドロームに罹患している被験者（またはその予備軍）である。この点において今回の結果の普遍性を検証する為、今後より大きな被験者規模ならびに被験者属性を擁した並行群間 RCT（ランダム化比較試験）によって効果を検証することが必要である。第二に、今回行ったカルニチン類およびケトン体の濃度は血中のみで測定し尿中の値を得ていない。それらを測定することによってより詳細な物質収支について知見が得られることが期待される。第三に、本試験で示されたことはあくまでも若年健常者に対する短期即効的な効果である。脂肪動員条件をより実践的なライフスタイルにまで拡張できるプログラムを用意した上でメタボリックシンドロームに関するより長期的なメリットが得られるかどうかについて検証して行く必要がある。第四に、本試験で行った CoQ10 の経口摂取では体内吸収率あるいは吸収後の分布速度に関連すると思われる要因により応答をえることができなかった。この点、水溶化した CoQ10 を用いるなどして再検討することが必要である。第五に、ケトジェニックな状態に代謝を誘導した後、そこから生じるケトン体やアセチルカルニチンの筋肉や脳における利用の状況もしくは排泄の動態については検討が及ばず部分的な仮説の提示に留まっている。とくに筋肉や脳への取り込みがどのようにおこり、どのようなアウトカムが得られるのか、またその過程で L-カルニチンの摂取（長期摂取を含む）がいかに関与するかについて明らかにして行く必要がある。

以上のような限界を認めつつも、今回若年の健常被験者において 1,000 mg 以下の L-カルニチンを用いて短時間内に観察された現象はエネルギー代謝のパラメータや遊離カルニチンやアセチルカルニチンの血中濃度の変動などにみられるように相応に高い再現性が得られるものであったことから、今後行われるべき拡張研究のための基礎的な知見としてはいくぶんかの参考に耐えうるものと思量するところである。

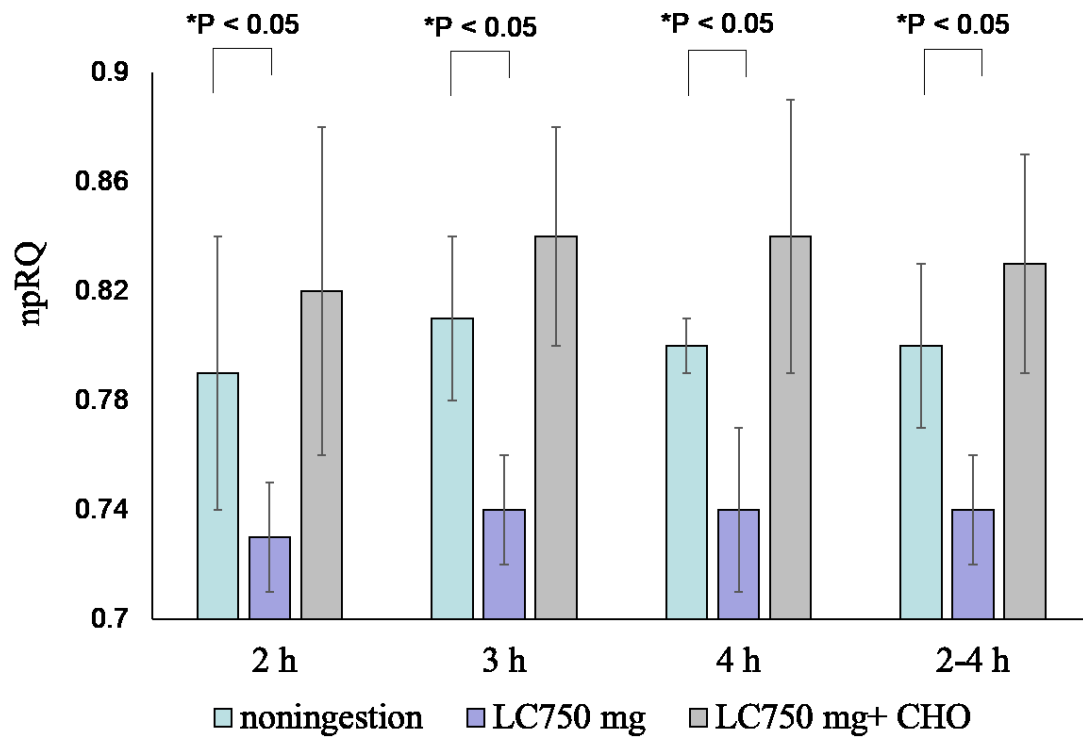
### 3.5 結論

- ① 脂肪動員条件下において、L-カルニチンの 500～750 mg 摂取により内因性の脂肪燃焼が即効的に促進された。
- ② 糖質が利用できる場合にはそれが優先的に利用され、脂質利用に関する L-カルニチンの効果は抑制される。
- ③ 血中ケトン体とアセチルカルニチン間には有意な相関が認められた。
- ④ L-カルニチンからアセチルカルニチンへの変化は化学量論的な挙動を示した。
- ⑤ 血中アセチルカルニチンの運動前後での変化量は微小ではあるが、脳と疲労の研究から得られている変化量と類似の幅であった。
- ⑥ アセチルカルニチンの肝臓から血液への流出は受動拡散ではなく何らかの厳密な制御システムが存在する可能性を示唆せるものであった。
- ⑦ 本試験で実施した脂肪動員条件ならびにそれに低用量（1,000 mg 以下）の L-カルニチン摂取を組み合わせる手法はメタボリックシンドローム対策への実践的なプロトコルの基礎となしえる可能性が考えられる。



**Fig. 1. Study protocol**

Abbreviations, EE: energy expenditure, npRQ: non-protein respiratory quotient.



**Fig 2. L-カルニチン 750 mg 摂取による運動後回復時におけるエネルギー源選の変化 (Study 1)**

Abbreviations, npRQ: non protein respiratory quotient, LC: L-carnitine, CHO: carbohydrate

L-カルニチン 750 mg 摂取後 30 分安静を保ち、その後 30 分間の有酸素運動を行った。その結果、運動後の回復期に呼吸商の有意な低下即ち即効的な脂肪利用の促進が見られた。この脂肪利用の促進効果は炭水化物の共存によって完全に消失した。



(kcal/day/kg BW)

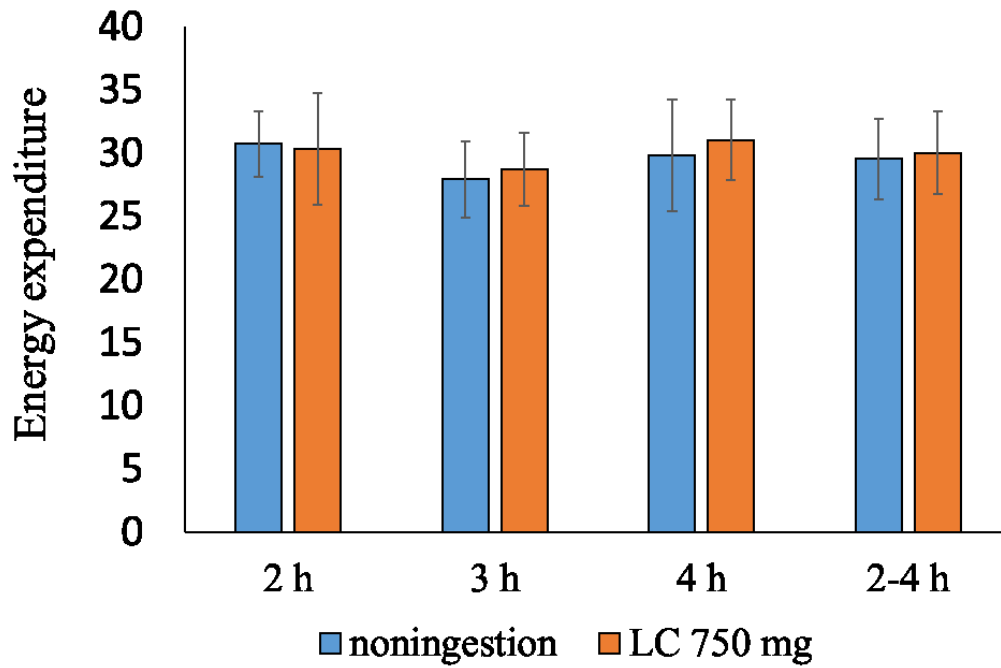
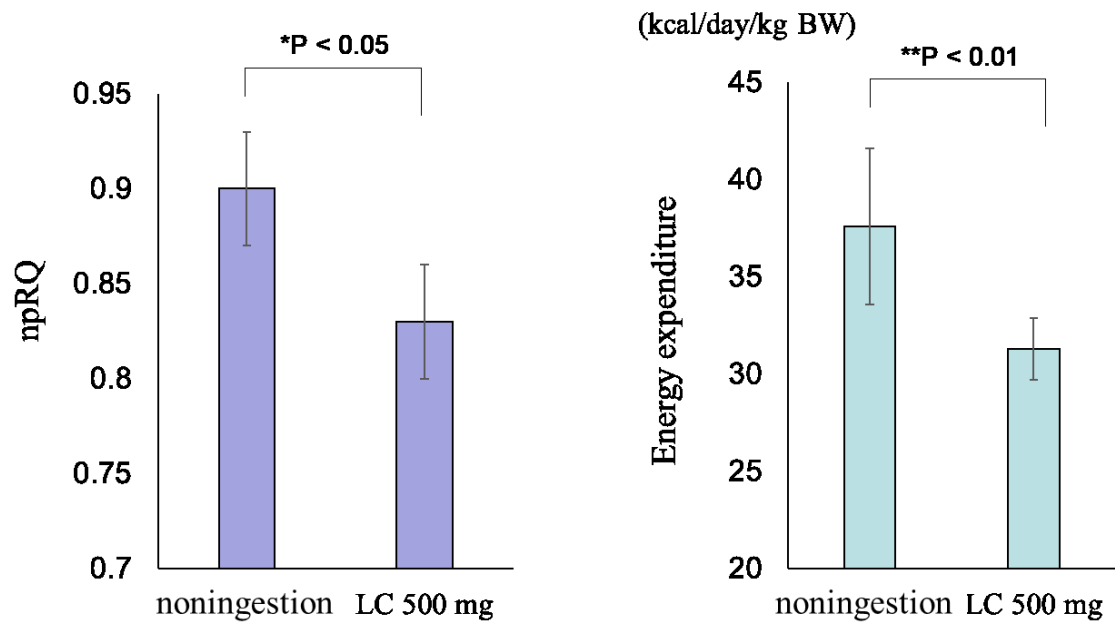


Fig 3. L-カルニチン 750 mg 摂取による運動後安静時のエネルギー産生量の変化 (Study 1)

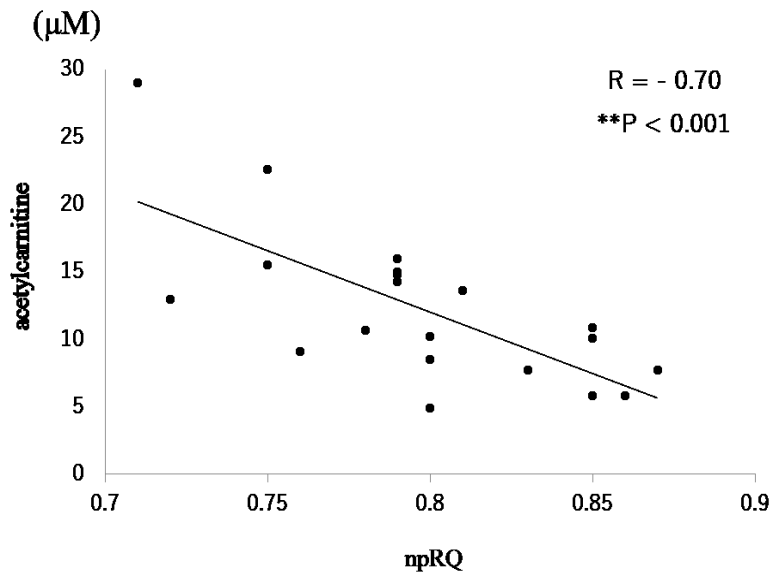
L-カルニチン 750 mg 摂取後 30 分安静を保ち、その後 30 分間の有酸素運動を行った。その結果、L-カルニチンを摂取した場合にも運動後の回復期においてエネルギー産生に変化は見られなかった。Fig2の結果を踏まえ、L-カルニチンの摂取はエネルギー産生量を変化させることなくエネルギー源としての脂肪の優先的な利用を促進したと考えられる。



**Fig 4. L-カルニチン 500 mg 摂取後運動直後のエネルギー源選択及びエネルギー産生量の変化 (Study 2)**

Abbreviations, npRQ: non protein respiratory quotient, LC: L-carnitine, CHO: carbohydrate

L-カルニチン 500 mg 摂取後 30 分安静を保ち、その後 30 分間の有酸素運動を行った。運動直後の呼吸商(npRQ)測定の結果、L-カルニチン摂取による有意な脂肪エネルギーの利用促進 (npRQ 値の低下) 並びにエネルギー産生量の低下 (17%) が認められた。このことから L-カルニチン 500 mg の摂取によりエネルギー源としての脂肪の利用が即効的に促進されるとともに、より少ないエネルギー消費量で同じ仕事量が達成されたものと考えられた。



**Fig 5. 呼吸商と血中アセチルカルニチンの相関関係 (Study 1)**

データセットは Session1A (非摂取) および Session 1 B (L-カルニチン 750 mg 摂取) の各ケースにおいて、運動開始前 1 時間 (ベースライン) および 4 時間目 (回復プロセスの終了点) で得たデータを用いた。有意差の検定は Speaman 法によった。npRQ：非タンパク質呼吸商。呼吸商と血中アセチルカルニチン濃度との間には有意な負の相関が認められた。

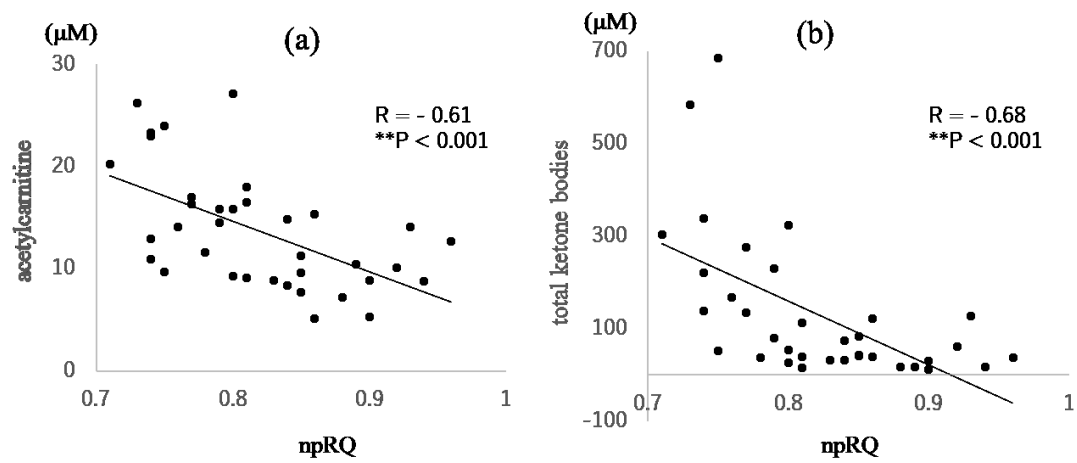
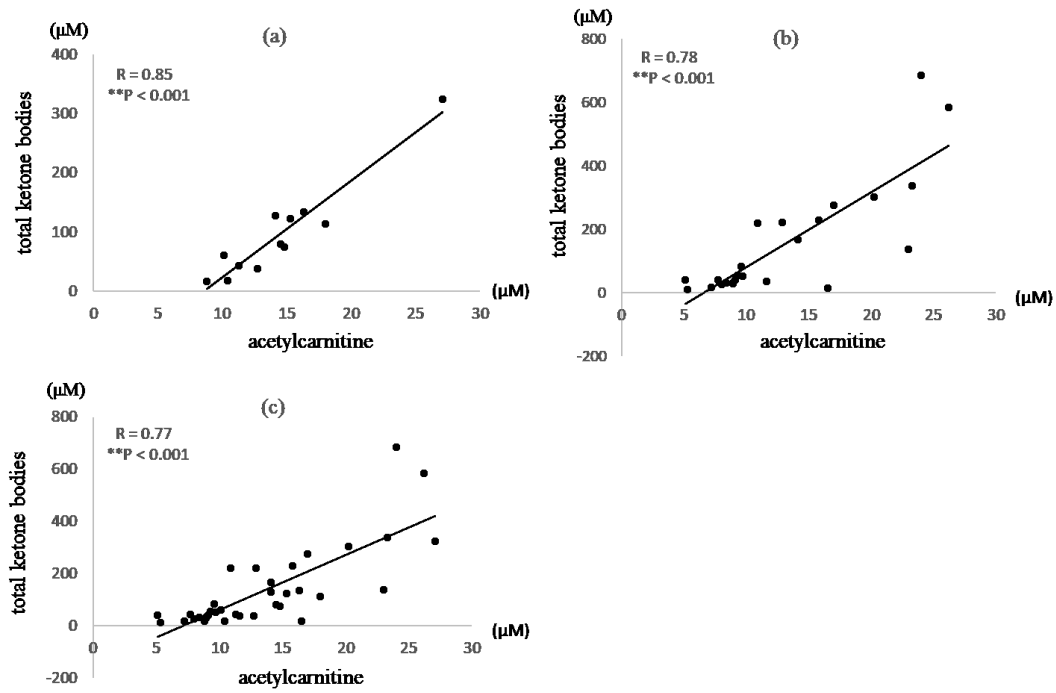


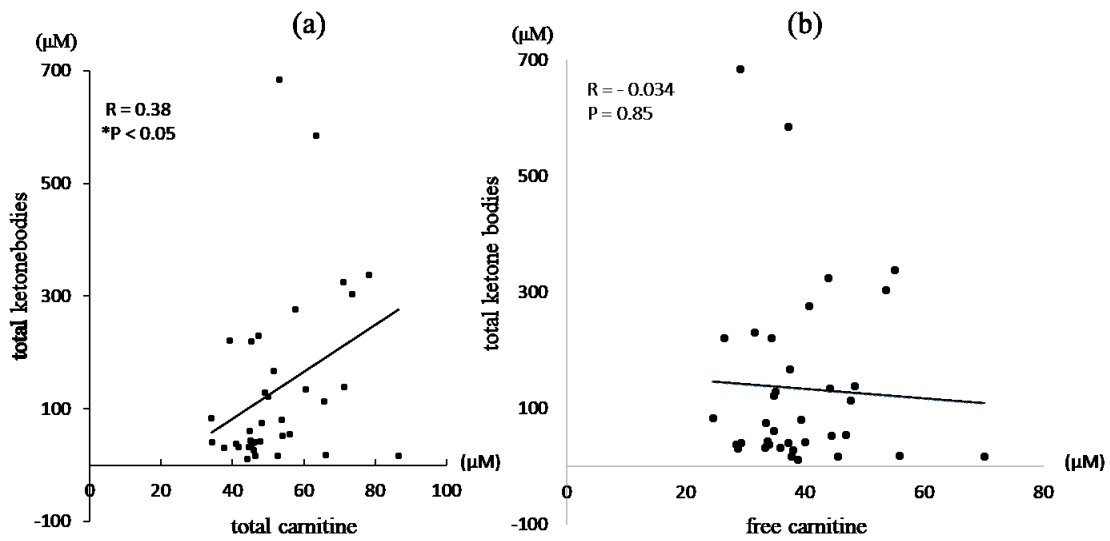
Fig 6. 「npRQ vs.アセチルカルニチン」及び「npRQ vs.総ケトン体」の相関 (Study 2)

(a) npRQ とアセチルカルニチンの相関関係; (b) npRQ と総ケトン体の相関関係。有意差の検定は Spearman 法によった。npRQ: 非タンパク質呼吸商。呼吸商と血中アセチルカルニチン、および総ケトン体との間には有意な負の相関が認められた。



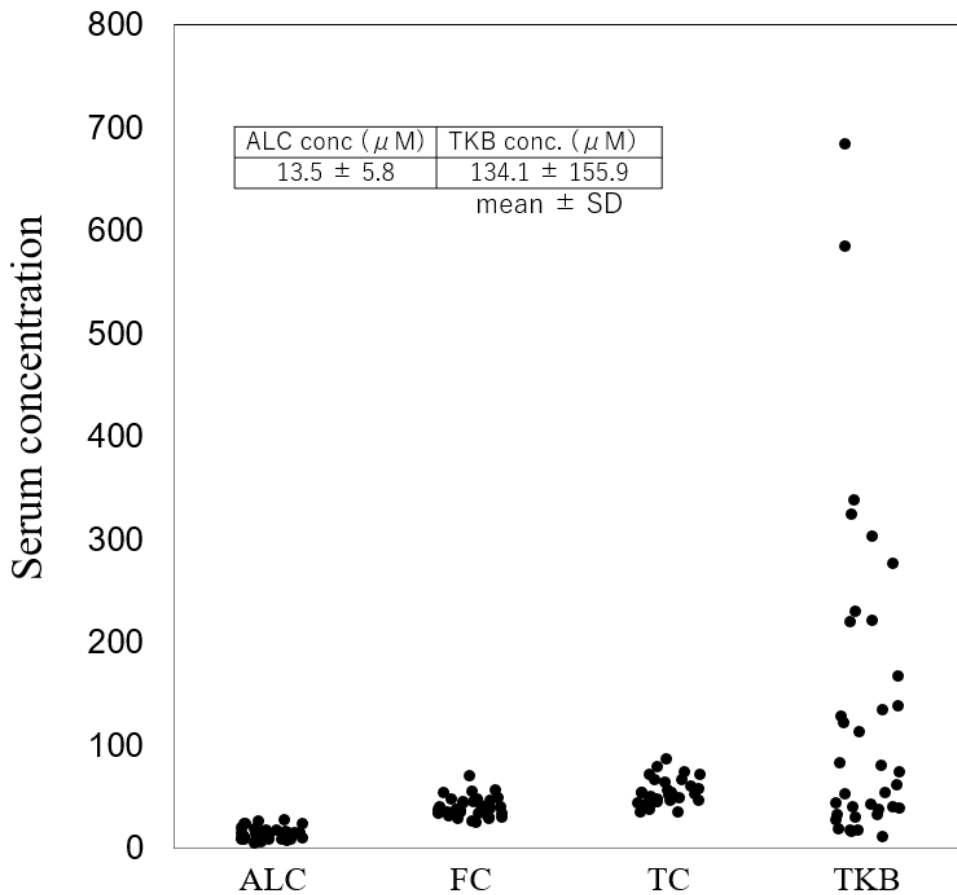
**Fig 7. 血中アセチルカルニチンのレベルと総ケトン体の相関 (Study2)**

(a) 運動直後 (b) 安静時; (c) 全期間 ((a) + (b))。有意差の検定は Spearman 法によった。血中のアセチルカルニチン濃度と総ケトン体量との間には有意な正の相関が認められた。特に運動直後には最も強い相関が現れた。



**Fig 8. 「総ケトン体 vs. 総カルニチン」及び「総ケトン体 vs. 遊離カルニチン」の相関 (Study2)**

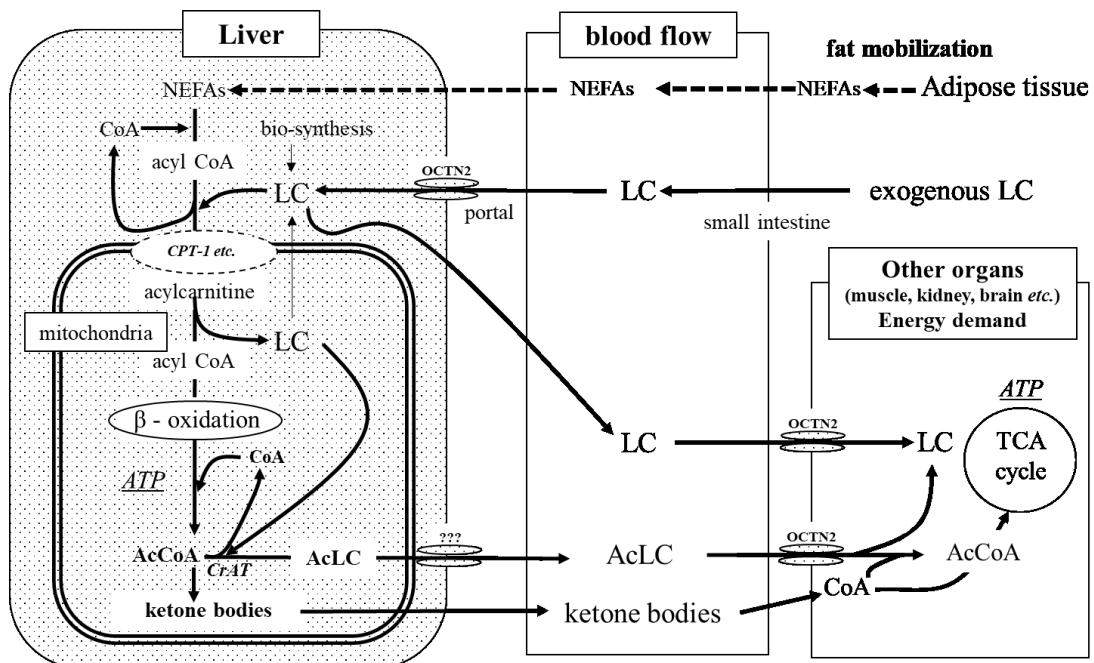
(a) 血中総ケトン体と総カルニチン (b) 血清総ケトン体と遊離カルニチン  
 有意差の検定は Spearman 法によった。血中遊離カルニチン濃度と総ケトン体の間には有意な関係性の相関が認められたがアセチルカルニチンとの相関 (Fig 7) よりも弱かった。また血中遊離カルニチンと総ケトン体の間には全く相関が見られなかった。



**Fig 9. 血中カルニチン類及び総ケトン体の濃度分布範囲の比較**

Study2 で採取した血清サンプル中のカルニチン類と総ケトン体濃度にみられる数値分布の範囲をプロットで表した。分布範囲において ALC と TKB の間には 10 倍の開きがあるが、Fig4 で見られたとおり、両成分間には強い有意な相関が存在する。ALC: アセチルカルニチン (acetylcarnitine) , FC: 遊離カルニチン (free carnitine) , TC: 総カルニチン (total carnitine) , TKB: 総ケトン体

(a) 脂肪動員条件下



(b) 炭水化物共存時

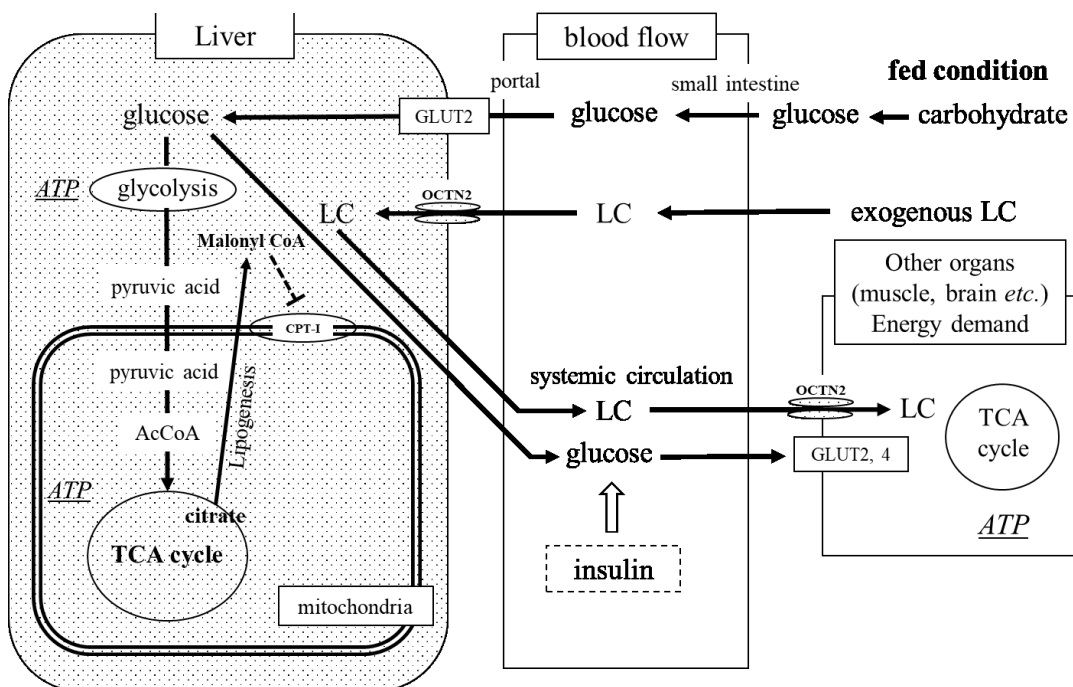


Fig 10. 脂肪動員条件下及び炭水化物共存時におけるエネルギー代謝と L-カルニチン  
L-カルニチンを摂取した際のエネルギー代謝のフローを脂肪動員条件下：(a) 及び炭水化物共存時：(b)に分けて示す。脂肪動員条件下(a)では図中破線で示すように脂肪組織から肝臓に向かって遊離脂肪酸（NEFAs: non esterified fatty acid）が動員される。ここに L-カルニチン



が補給されるとトランスポーター (OCTN2: organic cation transporter) を通じて肝臓に到達し、即座に NEFAs をミトコンドリア内に輸送する。輸送された脂肪酸は $\beta$ -酸化を受けてアセチル CoA (AcCoA) を大量に生じる。同時に AcCoA とミトコンドリア内の L-カルニチンからはアセチルカルニチン転移酵素 (CrAT) に触媒されてアセチルカルニチン (AcLC) が生成する。さらに AcCoA からケトン体が生じる。肝ミトコンドリアで生成した AcLC とケトン体は血中に移行して肝臓以外の種々な組織に移動する。このとき血中に移行する AcLC とケトン体および呼吸商低下の間には有意な相関が認められる (Fig2~4)。一方、炭水化物が共存するとき(b)には解糖が優先的に進み TCA 回路で大量に生成するクエン酸から MalonylCoA がサイトゾルで合成され脂肪合成 (lipogenesis) の方向に代謝が進む。MalonylCoA はまた脂肪燃焼の律速酵素である CPT-1 (carnitinepalmitlyl transferasse) を抑制するため $\beta$ -酸化は抑制される。この場合には肝中には L-カルニチンの稼働は不要となるためそのまま大半は血中に分泌される。この状態のときには遊離カルニチン (LC) の上昇、呼吸商値の上昇 (Table 2~3) がみられる。

## 引用文献

- 1) Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, Gortmaker SL. 2011. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet* **378**, 804-814, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60813-1.
- 2) World Health Organization. 2010. *Global Recommendations on Physical Activity for Health*. WHO.
- 3) Kraft M, Kraft K, Gärtner S, Mayerle J, Simon P, Weber E, Schütte K, Stieler J, Koula-Jenik H, Holzhauser P, Gröber U, Engel G, Müller C, Feng YS, Aghdassi A, Nitsche C, Malfertheiner P, Patrzyk M, Kohlmann T, Lerch MM. 2012. L-Carnitine-supplementation in advanced pancreatic cancer (CARPAN) - a randomized multicentre trial. *Nutr J* **23**; 11:52. doi: 10.1186/1475-2891-11-52.
- 4) Müller DM, Seim H, Kiess W, Löster H, Richter T. 2002. Effects of oral L-carnitine supplementation on in vivo long-chain fatty acid oxidation in healthy adults. *Metabol* **51** 1389-1391.
- 5) Wutzke KD, Lorenz H. 2004. The effect of l-carnitine on fat oxidation, protein turnover, and body composition in slightly overweight subjects. *Metabol* **53**, 1002-1006.
- 6) Pooyandjoo M, Nouhi M, Shab-Bidar S, Djafarian K, Olyaeemanesh A. 2016. The effect of (L-)carnitine on weight loss in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev* **17**, 10, 970-976. doi: 10.1111/obr.12436.
- 7) Vaz FM, Wanders RJ. 2002. Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem J* **361**, 417-429, doi: 10.1042/0264-6021:3610417.
- 8) Demaquoy J, Georges B, Rigault C, Royer MC, Clairet A, Soty M, Lekounoungou S, Borgne FL. 2004. Radioisotopic determination of l-carnitine content in foods commonly eaten in Western countries. *Food Chem* **86**, 137-142. doi.org/10.1016/j.
- 9) Tamai I, Ohashi R, Nezu JI, Sai Y, Kobayashi D, Oku A, Shimane M, Tsuji A. 2000. Molecular and functional characterization of organic cation/carnitine transporter family in mice. *J Biol Chem* **275**, 40064-72 doi: 10.1074/jbc.M005340200
- 10) Furuichi Y, Sugiura T, Kato Y, Takakura H, Hanai Y, Hashimoto T, Masuda K. 2012. Muscle contraction increases carnitine uptake via translocation of OCTN2. *Biochem Biophys Res Comm* **418**, 774-779, doi: 10.1016/j.bbrc.2012.01.101
- 11) Rebouche CJ, Engel AG. 1984. Kinetic compartmental analysis of carnitine metabolism in the human carnitine deficiency syndrome: evidence for alteration in tissue carnitine transport. *J Clin Invest* **73**, 857-867.
- 12) Brass RP. 1995. Pharmacokinetic consideration for the therapeutic use of carnitine in hemodialysis patients. *Clin Ther* **17**, 176-185.

- 13) Wall BT, Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Marimuthu K, Macdonald IA, Greenhaff PL. 2011. Chronic oral ingestion of L-carnitine and carbohydrate increases muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans. *J Physiol* **589**, 963-973.
- 14) Stephens FB, Wall BT, Marimuthu K, Shannon CE, Constantin-Teodosiu D, Macdonald IA, Greenhaff PL. 2013. Skeletal muscle carnitine loading increases energy expenditure, modulates fuel metabolism gene networks and prevents body fat accumulation in humans. *J Physiol* **591**, 4655-4666.
- 15) Odo S, Tanabe K, Yamauchi M. 2013. A pilot clinical trial on l-carnitine supplementation in combination with motivation training: effects on weight management in healthy volunteers. *Food Nutr Sci* **4**, 222-231. doi:10.4236/fns.2013.42030
- 16) Lee SK, Lee JO, Kim JH, Kim N, You GY, Moon JW, Sha J, Kim SJ, Lee YW, Kang HJ, Park SH, Kim HS. 2012. Coenzyme Q<sub>10</sub> increases the fatty acid oxidation through AMPK-mediated PPAR $\alpha$  induction in 3T3-L1 preadipocytes. *Cell Signal* **24**, 2329-2336. Doi: 0.1016/j.cellisig.2012.07.022.
- 17) Takahashi M, Ueda S, Misaki H, Sugiyama N, Matsumoto K, Matsuo N, Murao S. 1994. Carnitine determination by an enzymatic cycling method with carnitine dehydrogenase. *Clin Chem* **40**, 817-821.
- 18) Reuter SE, Evans AM, Chace DH, Fornasini G. 2008. Determination of the reference range of endogenous plasma carnitines in healthy adults. *Ann Clin Biochem* **45**, 585-592, doi: 10.1258/acb.
- 19) Mann HB, Whitney D. R. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Annal Mathem Stat.* **18**, 50-60.
- 20) Steel RGD. 1961. Some rank sum multiple comparison tests. *Biometrics* **17**, 539-552.
- 21) Dunnett CW. 1964. New tables for multiple comparisons with a control. *Biometrics* **20**, 482-491.
- 22) Steel RGD. 1959 A multiple comparison rank sum test: treatments versus control *Biometrics* **15**, 560-572.
- 23) Speaman C. 2010. The proof and measurement of association between two things. *Int J Epidemiol* **39**, 1137-1150. doi: 10.1093/ije/dyq191.
- 24) Vecchiet L, Lisa FD, Pieralisi G, Ripari P, Menabo R, Gamberadino MA, Siliprandi N. 1990. Influence of L-carnitine administration on maximal physical exercise. *Eur J Appl Physiol* **61**, 486-490.
- 25) Orer GE, Guzel NA. 2014. The effects of acute L-carnitine supplementation on endurance performance of athletes. *J Strength Cond Res* **28**, 514-519. doi: 10.1519/JSC.0b013e3182a76790.

- 26) Sili prandi N, Lisa Fabio Di, Pieralisi G, Ripari P, Maccari F, Menabo R, Gimberardino MA, Vecchit L. 1990 Metabolic changes induced by maximal exercise in human subjects following L-carnitine administration. *Biochim Biophys Acta*. **1034**, 17-21
- 27) Colombani P, Wenk C, Kunz I, Krahenbuhl S, Kuhnt M, Amold M, Frey-Rindova P, Frey W, Langhans W. 1996. Effects of L-carnitine supplementation on physical performance and energy metabolism of endurance-trained athletes: a double-blind crossover field study. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. **75**, 434-439
- 28) Rizza V, Lorefice R, Rizza N, Calabrese V. 1992. Pharmacokinetics of L-carnitine in human subjects. *In: L-carnitine and its role in medicine: From function to therapy* (Ferrari R, Di Mauro S, Sherwood G. eds). P 63-77. Academic Press. San Diego. USA.
- 29) Emami A, Tofighi A, Asri-Rezaei S, Bazargani-Gilani B. 2018. Effect of short term coenzyme Q<sub>10</sub> supplementation and precooling strategy on cardiac damage markers in elite swimmers. *J Streng Cond Res* **32**, 1431-1439.
- 30) Izumida Y, Yahagi N, Takeuchi Y, Nishi M, Shikama A, Takarada A, Masuda Y, Kubota M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Iizuka Y, Itaka K, Kataoka K, Shioda S, Nijima A, Yamada T, Katagiri H, Nagai R, Yamada N, Kadowaki T. *et al.* 2013. Glycogen shortage during fasting triggers liver-brain-adipose neurocircuitry to facilitate fat utilization. *Nat Commun* **4**, 2316, doi: 10.1038/ncomms3316.
- 31) Krssak M, Brehm A, Bernroider E, Anderwald C, Nowotny P, Dalla Man C, Cobelli C, Cline GW, Shulman GI, Waldhäusl W, Roden M. 2004. Alterations in postprandial hepatic glycogen metabolism in type 2 diabetes. *Diabetes* **53**, 3048-3056. doi: 10.2337
- 32) Robles-Valdes C, McGarry JD, Foster DW. 1976. Maternal-fetal carnitine relationships and neonatal ketosis in the rat. *J Biol Chem* **251**, 6007-6012.
- 33) McGarry JD, Robles-Valdes C, Foster DW. 1975. Role of carnitine in hepatic ketogenesis. *Proc Nat Acad Sci* **72**, 4385-4388.
- 34) Foster DW. 2004. The role of the carnitine system in human metabolism. *Ann. N Y Acad Sci* **1033**, 1-16. doi: 10.1196/annals.1320.001
- 35) Muoio DM, Noland RC, Kovalik JP, Seiler SE, Davies MN, DeBalsi KL, Ilkayeva OR, Stevens RD, Kheterpal I, Zhang J, Covington JD, Bajpeyi S, Ravussin E, Kraus W, Koves TR, Mynatt RL. 2012. Muscle-specific deletion of carnitine acetyltransferase compromises glucose tolerance and metabolic flexibility. *Cell Metab* **15**, 764-77. doi: 10.1016/j.cmet.
- 36) Ruderman NB, Saha AK, Vavvas D, Witters LA. 1999. Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. *Am J Physiol*. **276**, E1-E18
- 37) McGarry JD, Sen A, Esser V, Woeltje KF, Weis B, Foster DW. 1991. New insights into the mitochondrial carnitine palmitoyltransferase enzyme system. *Biochimie* **73**, 77-84.

- 38) Angelini C, Vergani L, Martinuzzi A. 1992. Clinical and biochemical aspects of carnitine deficiency and insufficiency: transport defects and inborn errors of beta-oxidation. *Crit Rev Clin Lab Sci.* **29**, 217-42.
- 39) Evans AM, Fornasini G. 2003. Pharmacokinetics of L-carnitine. *Clin Pharmacokinet* **42**, 941-967. doi: 10.2165/00003088-200342110-00002
- 40) VanItallie TB, Nufert TH. 2003. Ketones: metabolism's ugly duckling. *Nutr Rev.* **61**, 327-341. doi: 10.1301/nr.
- 41) Kuratsune H, Watanabe Y, Yamaguti K, Jacobsson G, Takahashi M, Machii T, Onoe H, Onoe K, Matsumura K, Valind S, Kitani T, Långström B. 1997. High uptake of [2-<sup>11</sup>C]acetyl-L-carnitine into the brain: a PET study. *Biochem Biophys Res Commun* **13**, 231, 488-493. doi: 10.1006/bbrc.
- 42) Kuratsune H, Yamaguti K, Lindh G, Evengård B, Hagberg G, Matsumura K, Iwase M, Onoe H, Takahashi M, Machii T, Kanakura Y, Kitani T, Långström B, Watanabe Y. 2002. Brain regions involved in fatigue sensation: reduced acetylcarnitine uptake into the brain. *Neuroimage* **17**, 1256-1265.
- 43) Kobayashi S, Iwamoto M, Kon K, Waki H, Ando S, Tanaka Y. 2010. Acetyl-L-carnitine improves aged brain function. *Geriatr Gerontol Int Uppl* **1**: S99-106, doi: 10.1111/j.1447-0594.2010.00595.x
- 44) Kuratsune H, Yamaguti K, Lindh G, Evengard B, Takahashi M, Machii T, Matsumura K, Takaishi J, Kawata S, Langström B, Kanakura Y, Kitani T, Watanabe Y. 1998. Low levels of serum acylcarnitine in chronic fatigue syndrome and chronic hepatitis type C, but not seen in other diseases. *Int J Mol Med* **2**, 51-56 doi: 10.3892/ijmm.2.1.51
- 45) Ando S, Tadenuma T, Tanaka Y, Fukui F, Kobayashi S, Ohashi Y, Kawabata T. 2001. Enhancement of learning capacity and cholinergic synaptic function by carnitine in aging rats. *J Neurosci Res*, **66**, 266-271
- 46) Miyagawa T, Kawamura H, Obuchi M, Ikesaki A, Ozaki A, Tokunaga K, Inoue Y, Honda M. 2013. *PLOS ONE*|[www.plosone.org](http://www.plosone.org). **8**, e53707
- 47) Suhre K, Shin SY, Petersen AK, Mohny RP, Meredith D, Wägele B, Altmaier E, CARDIoGRAM, Deloukas P., Erdmann J., Grundberg E., Hammond CJ., de Angelis MH., Kastenmüller G., Köttgen A., Kronenberg F., Mangino M., Meisinger C., Meitinger T, Mewes HW. *et al.* 2011. Human metabolic individuality in biomedical and pharmaceutical research. *Nature* **477**, 54-60. doi: 10.1038/nature10354.
- 48) Iwayama K, Kurihara R, Nabekura Y, Kawabuchi R, Park I, Kobayashi M, Ogata H, Kayaba M, Satoh M, Tokuyama K. 2015. Exercise increase 24-h fat oxidation only when it is performed before breakfast. *Ebio Med.* **2**, 2003-2009. doi: 10.1016/j.ebiom.

- 49) Lemaitre RN, King IB, Sotoodehnia N, Knopp RH, Mozaffarian D, McKnight B, Rea TD, Rice K, Friedlander Y, Lumley TS, Raghunathan TE, Copass MK. and Siscovick DS. 2010. Endogenous red blood cell membrane fatty acids and sudden cardiac arrest. *Metabolism*. **59**, 1029-1034. doi: 10.1016
- 50) Oyanagi E, Yano H, Uchida M, Utsumi K, Sasaki J. 2011. Protective action of L-carnitine on cardiac mitochondrial function and structure against fatty acid stress. *Biochem Biophys Res Commun* **412**, 61-67. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.07.039.
- 51) National Hospital Organization, Nagoya Medical Center/Clinical Research Center. 2018. *Clinical examination standard criteria*, [https://crc.nnh.go.jp/clinical\\_trial\\_services/drug\\_trials/spec/kensa\\_nmc/](https://crc.nnh.go.jp/clinical_trial_services/drug_trials/spec/kensa_nmc/)
- 52) Wihelmi de Toledo F, Grundler F, Bergouignan A, Drianda S, Michalsen A. 2019. Safety, health improvement and well-being during a 4 to 21-day fasting period in an observational study including 1422 subjects. *PLOS ONE* | 2, 14: e0209353. doi:10.1371/journal.pone.0209353. eCollection 2019.

## 第4章 結論と展望

### 4.1 結論

本研究では、第2章に述べた試験1において、動機付けを伴いながら1日あたり500 mgのL-カルニチンを4週間継続摂取することで体重や血清中性脂肪値を低減しえることが正常高値の中性脂肪値をもつ健常被験者において確認された。また第3章に述べた試験2において、一夜絶食の後L-カルニチンを事前摂取した後に30分間の有酸素運動を行うことによって内因性脂肪の利用促進を即効的に惹起できること、また安全な変化域でケトジェニックな血液組成を誘導しえることがわかった。

### 4.2 展望

本研究の試験2では「一夜絶食+有酸素運動」行うことにより被験者をして脂肪動員的な状態に向かわしめ、さらにL-カルニチンを運動前に少なくとも500 mg摂取する手法によって「肝臓を作用の場」としたL-カルニチンの摂取効果が即効的に得られることを示した。ここで炭水化物が共存する場合には脂肪利用は抑制される。一方別途WallやStephensらによって提唱された手法によれば逆に炭水化物とともにL-カルニチンを摂取することによって筋中に蓄積を促し「筋肉を作用の場」とすることができる。この双方の手法は一見相反するようにも思われるが、実際に日常の食や運動習慣の中でこの両方の性質をタイミングよく組み合わせて行くことができれば摂取の継続的效果と即効的效果のいずれをも享受できる可能性がある。本研究の試験1ではメタボリックシンドロームの状況を好転させる方向の動機付けを伴いながらL-カルニチンを摂取することによって体重のマネジメントや血中中性脂質の改善を導きえることが示唆された。このことは種々の動機付けが期せずして単回摂取と長期摂取の有意義な組み合わせに結びついていることを伺わせる。このような観点から今後、々人の身体状況に応じた食と運動のプログラムをL-カルニチンの摂取方法を踏まえてオー

ダーメイド的に構築することによってメタボリックシンドローム、あるいはさらに進んだ糖尿病や高脂血症の治療領域にも拡張できる可能性が考えられる。

#### 引用文献

- (1) Wall BT, Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Marimuthu K, Macdonald IA, Greenhaff PL. 2011. Chronic oral ingestion of L-carnitine and carbohydrate increases muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans. *J Physiol* **589**, 963-973.
- (2) Stephens FB, Wall BT, Marimuthu K, Shannon CE, Constantin-Teodosiu D, Macdonald IA, Greenhaff PL. 2013. Skeletal muscle carnitine loading increases energy expenditure, modulates fuel metabolism gene networks and prevents body fat accumulation in humans. *J Physiol* **591**, 4655-4666.



## 業績

- 原著論文（1<sup>st</sup> author 論文）

- (1) Odo S, Tanabe K, and Yamauchi M. 2013. A pilot clinical trial on l-carnitine supplementation in combination with motivation training: effects on weight management in healthy volunteers. *Food Nutr Sci* 4, 222-231. doi:10.4236/fns.2013.42030

⇒ 本論文の第 2 章

- (2) Odo S., Tanabe K., Yohda M., Yamauchi M. 2020 Liver-oriented acute metabolic effects of low dosage of L-carnitine under fat-mobilizing conditions: Pilot human clinical trials. *J Nutr Sci Vitaminol*, 66 in press

⇒ 本論文の第 3 章

- (3) 王堂哲、2019、L-カルニチンとセルフメディケーション、*New Food Indust* 61, 291-306

⇒ 本論文の第 1 章

- 原著論文（共同著者論文）

- (1) Sakurai Y, Hasegawa Y, Kurosaka Y, Nanba H, Odo S. 2018. Effect of L-carnitine and branched-chain amino acids on energy metabolism, body compositions, and delayed-onset muscle soreness after exercise in healthy subjects. *J Nutr Oncol*, 3, 25-33

- (2) 櫻井 洋一, 長谷川 由美, 難波 秀行, 王堂 哲 2018, 健常者における L-カルニチン + 分岐鎖アミノ酸投与後運動負荷のエネルギー代謝・体組成に対する効果に関する基礎的検討, *日本静脈経腸栄養学会雑誌*, 33, 753-762, DOI

<https://doi.org/10.11244/jspen.33.753>

- (3) 祐森 誠司, 王堂 哲, 池田 周平 2017, L-カルニチンの食餌性給与は歩行運動を付加したラットの エネルギー合成に対する長鎖脂肪酸の均等利用を誘起する、ビタミ

ン, 91, 430-432, DOI [https://doi.org/10.20632/vso.91.7\\_430](https://doi.org/10.20632/vso.91.7_430)

- (4) 祐森 誠司, 王堂 哲 2016. 養豚飼料の変遷と L-カルニチンの供給量推定、日本養豚学会誌, 53, 111-117, DOI [https://doi.org/10.5938/youton.53.3\\_111](https://doi.org/10.5938/youton.53.3_111)
- (5) 池田 周平, 佐藤 光夫, 渡辺 直久, 王堂 哲, 祐森 誠司 2012, 産歴の多い繁殖雌豚の分娩前後に L-カルニチンを短期給与することが母豚の体重変化および子豚の成長に及ぼす影響、日本養豚学会誌, 49, 31-37, DOI <https://doi.org/10.5938/youton.49.31>

● 総説

- (1) 王堂 哲 2019, L-カルニチンによるベストコンディショニング, *Food Style 21*, 23, 2-5
- (2) 王堂 哲 2014, L-カルニチンはエネルギー源を選び分けている, *Food Style 21*, 28, 1-3
- (3) 王堂 哲 2008, 『広がりつつあるサプリメントを理解するー腎不全患者に活用するためにー各論：L-カルニチン』臨床透析 24, 1758-1760

● 学会・シンポジウム発表

- (1) ビタミン B 研究委員会平成 29 年度シンポジウム、2018 年 3 月 9 日、於：京都大学 アンチエイジングのためのビタミン・場合オファクター、王堂 哲『アンチエイジングの側面からみたカルニチンについて』、
  - (2) The 11<sup>th</sup> Congress of the Pacific Society for Reproductive Medicine (PSRM 2017)  
October 14-15th 2017, Osaka, Odo S. L-carnitine; an overview of versatile novel functions on the traditional molecule
  - (3) 第 72 回 日本体力医学会 2017 年 9 月 18 日 於：松山大学 ワークショップ 1、  
『L-カルニチン』
- ※王堂 哲, 2018, ーカルニチン：ミトコンドリア・筋肉からトータルアウトカムへー 日本発のパラダイムー, 体力科学 67, 66, DOI <https://doi.org/10.7600/jspfsm.67.66>

※王堂 哲 2018, 日本人と L-カルニチン : Low dose に目を向けて, 体力科学 67, 67,  
DOI <https://doi.org/10.7600/jspfsm.67.67>

- (4) 第 3 回日本スポーツ栄養学会 2016 年 7 月 3 日, 於 : 松山市 シンポジウム 2、王堂 哲『L-カルニチン、日本発の新しいパラダイム』
- (5) 第 10 回臨床ストレス応答学会 2015 年 11 月 6-7 日、於 : 東京農工大学, 一般口演『単回摂取した L-カルニチンが運動ストレス付加後のエネルギー代謝に与える影響』王堂 哲、山内理充、養王田正文、
- (6) 臨床栄養学会大会 2010 年 8 月 28 日 於 : 名古屋, 一般口演, 王堂 哲, 中村 昌人, 田辺 康治, L-カルニチンヒト試験を例とした生体常在成分の摂取有効性評価法に関する検討

## 謝 辞

本研究の遂行ならびに論文執筆の機会を与えて頂き、総合的なご指導を賜りました東京農工大学 養王田正文教授に心より感謝いたします。長年にわたり貴重なヒト試験の実施につき精確無比なマネジメントを頂きました愛知学泉大学家政学部 山内正充教授に深謝いたします。

L-カルニチンに関する奥深い機能の追及に向かって高所大所より得がたいインスピレーションをお与えくださいました大阪市大医学部 井上正康名誉教授に感謝申し上げます。本論で重要な位置づけを占めるケトン体産生に関する貴重な洞察をお示し頂きました大阪歯科大学 志水秀郎教授に感謝申し上げます。首都大学東京 大学院人間健康科学研究科の古市泰郎先生にはL-カルニチントランスポーターに関する重要な情報をご提供頂きました。心より感謝いたします。また臺場昭人博士には統計処理についてことのほか専門的なご助言を賜りました。改めて深謝申し上げます。

本論の中核をなす第3章記載のヒト試験は、長期間にわたる試験期間中被験者として脱落なく試験を完遂頂きました愛知学泉大学家政学群山内研究室の学生の皆様方のご協力なくしては到底成し得なかったものであります。ここに謹んで感謝の意を表します。愛知学泉大学との最初の研究のきっかけを与えて頂きました川本（旧姓：内田）雅子さんにはこの場を借りて特に厚く御礼申し上げます。