

令和元年9月9日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H03244

研究課題名(和文) 骨格筋糖取り込みを高める栄養・運動処方に関する基礎研究 - ビタミンDに着目して -

研究課題名(英文) Effects of vitamin D on skeletal muscle glucose metabolism

研究代表者

川中 健太郎 (Kawanaka, Kentaro)

福岡大学・スポーツ科学部・教授

研究者番号：80339960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：実験動物を用いて、ビタミンD摂取量が骨格筋量や糖代謝機能に及ぼす影響について検討した。その結果、ビタミンD欠乏は速筋線維の萎縮を引き起こす可能性が示された。さらに、速筋線維の萎縮にはAkt活性の低下が関与している可能性が示された。また、ビタミンD欠乏は遅筋線維におけるPGC-1の減少を引き起こし、この線維でミトコンドリアが減少している可能性が示された。筋量やミトコンドリアの減少が、ビタミンD欠乏による耐糖能力低下に関与しているかもしれない。なお、正常な血中ビタミンDレベルを維持することは筋量維持に重要であるものの、トレーニングなどの過負荷による筋肥大には関係ない可能性も示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、ビタミンDの摂取不足とそれともなった血中ビタミンDレベルの低下が骨格筋の量とミトコンドリアを減少させる可能性が示された。高齢者の多くがビタミンD不足状態にあることが知られており、十分なビタミンD摂取量によって血中ビタミンDレベルを維持することによって高齢者の骨格筋機能を維持できる可能性が明らかになった。血糖の80%を取り込んで代謝しているのは骨格筋であり、骨格筋機能の維持は糖尿病の予防にもつながる。

研究成果の概要(英文)：Vitamin D deficiency is common among the elderly. However, little is known about how vitamin D affects skeletal muscle mass and glucose metabolism. We modeled human serum vitamin D levels ranging from deficient to excess and examined whether increasing dietary vitamin D could maintain or improve rat skeletal muscle mass and metabolism. In our study, vitamin D deficiency caused fast-twitch plantaris muscle atrophy. This atrophy of plantaris muscle may be explained by decreased Akt kinase activation. In addition, vitamin D deficiency reduced peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 (PGC-1) protein expression in slow-twitch soleus muscle, showing reduced mitochondrial biogenesis in this muscle. These changes in vitamin D deficient rats are possibly associated with impaired glucose tolerance. These results suggest that preventing dietary vitamin D deficiency could maintain skeletal muscle mass and glucose metabolism.

研究分野：スポーツ栄養学

キーワード：ビタミンD 骨格筋 糖代謝 筋量 ミトコンドリア PGC-1 Akt ラット

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ビタミン D の骨形成を高める働きがよく知られている。一方、ビタミン D 過不足の指標となる血清 25(OH)D 濃度とインスリン抵抗性、空腹時血糖、HbA1c に負の相関があることが報告されている(Scragg et al. 2004)。すなわち、ビタミン D 不足は 2 型糖尿病発症のリスク因子となる可能性が示唆されている(Deleskog et al. 2012, Afzal et al. 2013)。さらに、糖尿病患者へのビタミン D 投与が血糖降下作用をもたらすことも報告されている(Schwalfenberg 2008)。しかし、ビタミン D 不足がどのような仕組みで糖代謝に影響を及ぼすかは明らかでない。また、ビタミン D は脂溶性ビタミンであり過剰摂取が健康被害をもたらす可能性も示されている(Ross et al. 2011)。しかし、ビタミン D 過剰が糖代謝に及ぼす影響については不明である。

ところで、骨格筋にもビタミン D 受容体が発現していることが知られている(Bischoff et al. 2001)。つまり、ビタミン D は骨格筋に作用して様々な生理効果を引き起こす可能性がある。また、全身の血糖の 80% は骨格筋が取り込み代謝しているので、骨格筋の血糖代謝能力の減退は 2 型糖尿病の発症につながる。

2. 研究の目的

本研究では、実験動物を用いて、ビタミン D の不足・過剰が糖代謝機能に及ぼす影響と仕組みについて、特に骨格筋の量的・質的(代謝的)な変化に着目して検討する。

3. 研究の方法

(1) 研究 1: VitD の欠乏と過剰が骨格筋代謝状態に及ぼす影響

7 週齢の Wistar 系雄性ラットを VitD 欠乏食群(Low 群、VitD 0IU/kg 飼料)、VitD 通常食群(Moderate 群、VitD 2,000IU/kg 飼料)、および VitD 過剰食群(High 群、VitD 10,000IU/kg 飼料)の 3 群に分けて合計 9 週間飼育した。飼育開始から 8 週間後に腹腔内糖負荷試験(体重 1kg あたり 2g のグルコース投与)を行った。さらに、飼育開始から 9 週間後に採血ならびに骨格筋の摘出を行った(6 時間絶食)。骨格筋としては速筋型の足底筋(速筋線維の割合が 94%)と遅筋型のヒラメ筋(遅筋線維の割合が 84%)を摘出した。血糖の測定には簡易血糖測定装置(グルテストエース)を用いた。血中インスリンならびに 25(OH)D 濃度の測定には ELISA キットを用いた。骨格筋における GLUT4, cytochrome c oxidase, Akt, Akt リン酸化, Foxo1, Foxo1 リン酸化, VitD 受容体については特異的抗体を用いたウエスタンブロッティング法で測定した

(2) 研究 2: VitD 欠乏が骨格筋の代償性肥大に及ぼす影響

3 週齢の Wistar 系雄性ラットを VitD 通常食群(VitD 2,000IU/kg 飼料)ならびに VitD 欠乏食群(VitD 0IU/kg 飼料)に分けて合計 6 週間飼育した。飼育開始から 4 週間後に両群のラットの左下肢における腓腹筋とヒラメ筋の腱を切除し、共働筋である足底筋にレジスタンス運動様の過負荷を与えて 2 週間飼育した。飼育開始から 6 週間後に足底筋を摘出して重量測定を行った。

4. 研究成果

(1) 研究 1

1) VitD の欠乏と過剰が血中 25(OH)D に及ぼす影響

VitD の過不足の指標となる血清 25(OH)D 濃度を測定したところ、VitD 通常食群では 218.3 ± 30.5 nmol/L であった。一方、9 週間の VitD 欠乏食摂取によって 23.2 ± 4.8 nmol/L にまで低下した($p < 0.05$)。このレベルは、厚生労働省研究班の指針によると(血清 25(OH)D 濃度が 50 ~ 75 nmol/L でビタミン D 不足、50 nmol/L で欠乏と判定)、顕著な VitD 欠乏状態と判定される。

一方、VitD 過剰食摂取によって血清 25(OH)D 濃度は $766.3 \pm 120.8\text{nmol/L}$ へと上昇した ($p < 0.05$)。これは正常な血清 25(OH)D 濃度 ($75 \sim 125\text{nmol/L}$) の範囲を大きく逸脱しており VitD 過剰状態と判定される。

2) VitD の欠乏と過剰が耐糖能力に及ぼす影響(図 1)

VitD 欠乏や過剰によって血清インスリン値は変化しなかった。一方、VitD 欠乏によって VitD 通常食に比べて糖負荷試験の際の最高血糖値が上昇した ($p < 0.05$)。さらに、VitD 過剰は有意ではないものの最高血糖値を上昇させる傾向がみられた ($p = 0.06$)。この結果は、VitD の欠乏や過剰が耐糖能力を低下させる可能性を示す。

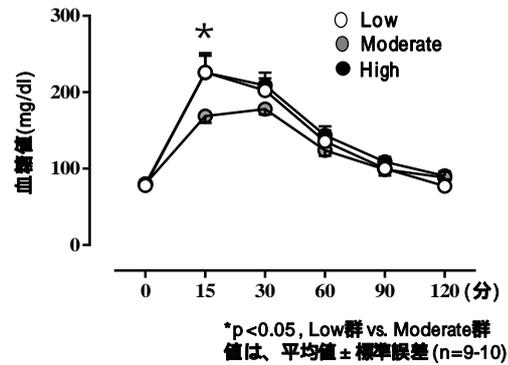


図1. 腹腔内糖負荷試験における血糖値の変動

3) VitD の欠乏と過剰が骨格筋 GLUT4 に及ぼす影響(図 2)

VitD 欠乏や過剰によって、足底筋やヒラメ筋の GLUT4 タンパク質発現量に変化はなかった。また、摘出した滑車筋におけるインスリン刺激時の糖取り込み速度にも影響はなかった。これらから、VitD 欠乏や過剰による耐糖能力低下に骨格筋 GLUT4 の発現量や働きへの低下は関与しないと考えられる。

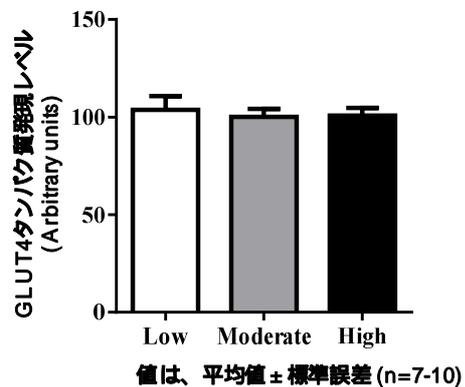


図2. 足底筋におけるGLUT4タンパク質発現

4) VitD の欠乏と過剰が骨格筋ミトコンドリアに及ぼす影響

VitD 欠乏は足底筋の PGC-1 発現量に影響を及ぼさなかったが、VitD 通常食と比較するとヒラメ筋の PGC-1 発現量が 23%減少した ($p < 0.05$)。VitD 過剰の影響は認められなかった。PGC-1 はミトコンドリアタンパク質の転写に不可欠な転写補助因子であり、この結果は、VitD 欠乏による耐糖能力低下に骨格筋、特に遅筋のミトコンドリア減少が関与する可能性を示唆する。

5) VitD の欠乏と過剰が骨格筋量に及ぼす影響(図 3)

VitD 欠乏によって、VitD 通常食と比較すると足底筋重量が 11%減少した ($p < 0.05$)。一方、ヒラメ筋重量への影響は認められなかった。VitD 過剰は足底筋ならびにヒラメ筋の重量に影響を及ぼさなかった。この結果は、VitD 欠乏による耐糖能力低下に骨格筋、特に速筋の量的減少が関与している可能性を示唆する。

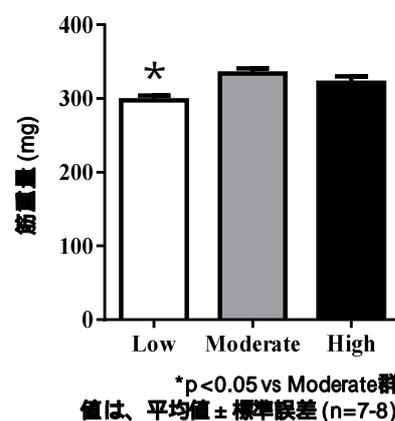


図3. 足底筋重量

6) VitD の欠乏と過剰が骨格筋 Akt キナーゼに及ぼす影響(図 4)

VitD 欠乏によって足底筋やヒラメ筋の Akt リン酸化 (Ser 残基) レベルが、VitD 通常食に比べて 19%ならびに 29%減少した ($p < 0.05$, 図 4)。一方、VitD 過剰は足底筋ならびにヒラメ筋の Akt リン酸化レベルに影響を及ぼさなかった(図 4)。

Akt キナーゼは筋タンパク質合成促進や分解抑制作用を介して骨格筋量を調整する。したが

って、VitD 欠乏による Akt キナーゼ活性レベルの低下が足底筋量の減少をもたらす可能性が示唆される。なお、Akt キナーゼの下流に位置してタンパク質分解に働く Foxo1 のリン酸化レベルには、VitD 不足の影響は認められなかった。Akt キナーゼ活性レベルの低下は筋タンパク質合成の減少を介して筋量減少を引き起こしているのかもしれない。

(2) 研究 2

1) VitD の欠乏が血中 25(OH)D に及ぼす影響

VitD 通常食群の血清 25(OH)D 濃度は $78.5 \pm 0.0\text{nmol/L}$ であったが、6 週間の VitD 欠乏食摂取によって $29.8 \pm 0.0\text{nmol/L}$ に低下した ($p < 0.05$)。

2) VitD の欠乏が過負荷にともなう骨格筋肥大に及ぼす影響

腓腹筋・ヒラメ筋の腱切除にともなう足底筋重量における 10% の増加がみられたが ($p < 0.05$)、VitD 欠乏は足底筋重量の増加率に影響を及ぼさなかった。研究 1 の結果と考えあわせると、正常な血中 VitD レベルを維持することは、筋量の維持に必要であるが、レジスタントトレーニングなどの過負荷による筋量増加に必須ではない可能性が示唆される。

5 . まとめ

本研究から、ビタミン D 欠乏は遅筋線維におけるミトコンドリア量の減少、また、速筋線維の萎縮を引き起こす可能性が示唆される。速筋線維の萎縮には Akt キナーゼ活性の低下が関与しているのかもしれない。これらが、ビタミン D 欠乏による糖代謝能力低下に関与している可能性がある。

なお、正常な血中ビタミン D レベルを維持することは速筋線維の維持に重要であるものの、トレーニングなどの過負荷による筋線維肥大には関係ないかもしれない。

多くの高齢者がビタミン D 不足状態にある。したがって、十分なビタミン D 摂取量によって血中ビタミン D レベルを維持することによって、高齢者の骨格筋機能を維持できる可能性が明らかになった。血糖の 80% を取り込んで代謝しているのは骨格筋であり、骨格筋機能の維持は糖尿病の予防にもつながる。現在、地域在住の日本人高齢者を対象として、血中ビタミン D レベルと骨格筋機能(体力)の関連性について検討している。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

- 1) 川中健太郎：骨格筋の糖代謝からみた低強度身体活動 - 動物実験による解析 - 体育の科学 . 第 68 巻、179 ~ 185 頁、2018 年
- 2) 川中健太郎：スポーツ選手のための糖質摂取の考え方 . 臨床栄養 . 第 134 巻、166 ~ 173 頁、2019 年
- 3) Kawamoto E, Koshinaka K, Yoshimura T, Masuda H, Kawanaka K. Immobilization rapidly induces muscle insulin resistance together with the activation of MAPKs (JNK

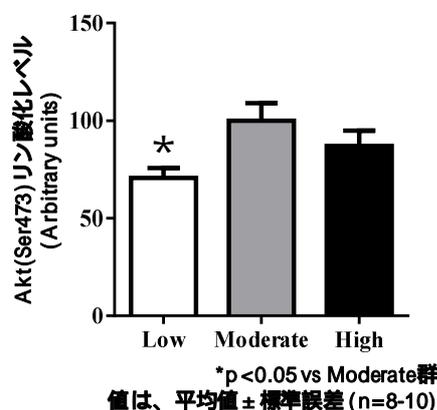


図4. 足底筋におけるAkt(Ser473)リン酸化

- and p38) and impairment of AS160 phosphorylation. *Physiol. Rep.* 4: e12876, 2016. Doi: 10.14814/phy2.12876.
- 4) Tamakoshi K, Kawanaka K, Onishi H, Takamatsu Y, Ishida K. Motor Skills Training Improves Sensorimotor Dysfunction and Increases Microtubule-Associated Protein 2 mRNA Expression in Rats with Intracerebral Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 25: 2071-2077, 2016.
 - 5) Tomiga Y, Ito A, Sudo M, Ando S, Maruyama A, Nakashima S, Kawanaka K, Uehara Y, Kiyonaga A, Tanaka H, Higaki Y. Effects of environmental enrichment in aged mice on anxiety-like behaviors and neuronal nitric oxide synthase expression in the brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 476: 635-640, 2016. Doi: 10.1016/j.bbrc.2016.06.010
 - 6) Tomiga, Y. Yoshimura S, Ito A, Nakashima S, Kawanaka K, Uehara Y, Tanaka H, Higaki Y. Exercise training rescues high fat diet-induced neuronal nitric oxide synthase expression in the hippocampus and cerebral cortex of mice. *Nitric. Oxide.* 66: 71-77, 2017. Doi: 10.1016/j.niox.2017.03.002
 - 7) Ra SG, Miyazaki T, Kojima R, Komine S, Ishikura K, Kawanaka K, Honda A, Matsuzaki Y, Ohmori H. Effect of BCAA supplement timing on exercise-induced muscle soreness and damage: a pilot placebo-controlled double-blind study. *J Sports Med Phys Fitness.* 58: 1582-1591, 2018. Doi: 10.23736/S0022-4707.17.07638-1
 - 8) Kawamoto E, Tamakoshi K, Ra SG, Masuda H, Kawanaka K. Immobilization rapidly induces thioredoxin-interacting protein (TXNIP) gene expression together with insulin resistance in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 125: 596-604, 2018. Doi: 10.1152/jappphysiol.00951.2017

〔学会発表〕(計 17 件)

- 1) 河本絵美、川中健太郎．軽運動が不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性の改善に及ぼす影響．第 71 回日本体力医学会大会（盛岡），2016.9.23-25.
- 2) 川中健太郎．身体活動・不活動と骨格筋インスリン感受性の最新知見．九州大学リサーチコア（福岡・九州大学）、2017.1.28
- 3) 中川洋成、羅成圭、富賀裕貴、中島志穂子、田中宏暎、檜垣靖樹、川中健太郎．食餌中のビタミン D 欠乏がラットの耐糖能力に及ぼす影響．第 71 回日本栄養・食糧学会大会（沖縄），2017 年 5 月
- 4) 川中健太郎．身体活動・不活動と骨格筋インスリン感受性 - その最新知見 - 高知臨床糖尿病シンポジウム(高知)、2017 年 6 月 8 日
- 5) 中川洋成、羅成圭、富賀裕貴、中島志穂子、田中宏暎、檜垣靖樹、川中健太郎．食餌中のビタミン D 欠乏がラットの骨格筋量とインスリン情報伝達に及ぼす影響．第 72 回日本体力医学会大会（松山），2017.9.16-18.
- 6) 越中敬一、尾東太樹、安藤理恵、川中健太郎、佐藤晶子．間欠的な高強度水泳運動中の水温の違い骨格筋の AMPK に与える影響 第 72 回日本体力医学会大会(松山) 2017.9.16-18.
- 7) 羅成圭、河本絵美、中川洋成、富賀裕貴、中島志穂子、田中宏暎、檜垣靖樹、川中健太郎．筋線維タイプおよび運動トレーニングが骨格筋ビタミン D 受容体発現量に及ぼす影響．第 72 回日本体力医学会大会（松山），2017.9.16-18.
- 8) 富賀裕貴、吉村咲紀、伊藤愛、中島志穂子、川中健太郎、上原吉就、田中宏暎、檜垣靖樹．高脂肪食摂取及び運動が脳のインスリン経路を介した nNOS 調節機構に及ぼす影響 第 72

回日本体力医学会大会 (松山), 2017.9.16-18.

- 9) 川中健太郎 . 運動・食事・骨格筋 全国体育連合 中四国支部講演会 (山口大学), 2017年9月22日
- 10) 川中健太郎 . 運動栄養学と糖質 - 身体活動・不活動と骨格筋インスリン感受性 日本応用糖質科学会東日本支部シンポジウム(東京)、2018年7月27日
- 11) 羅成圭, 河本絵美、飯澤拓樹、檜垣靖樹, 川中健太郎 . 運動トレーニングが骨格筋 TXNIP 発現量に及ぼす影響 . 第 26 回日本運動生理学会大会 (大阪体育大学), 2018年7月29日
- 12) 羅成圭, 中川洋成、飯澤拓樹、宗まりこ、田中宏暁, 檜垣靖樹, 川中健太郎 . 老化にともなう骨格筋 TXNIP 発現量と運動トレーニングの効果 . 第 73 回日本体力医学会大会 (福井), 2018年9月7日
- 13) 越中敬一、川中健太郎、飯澤拓樹、佐藤晶子 . 卵タンパク質の摂取がデキサメタゾン誘発の骨格筋委縮に与える影響 . 第 73 回日本体力医学会大会 (福井), 2018年9月7日
- 14) 河本絵美、玉越敬悟、羅成圭、増田紘之、川中健太郎 . 不活動はヒラメ筋の TXNIP 発現とインスリン抵抗性を誘導する . 第 73 回日本体力医学会大会 (福井), 2018年9月7日
- 15) 増田紘之、吉村達彦、飯澤拓樹、越中敬一、川中健太郎 . ラット骨格筋における AMPK ならびに Akt キナーゼは LT 強度の運動から活性化させる . 第 73 回日本体力医学会大会 (福井), 2018年9月7日
- 16) 飯澤拓樹、羅成圭、安方惇、本田紘基、中川洋成、西村恒星、富賀祐基、中島志穂子、宗まりこ、檜垣靖樹, 越中敬一、川中健太郎 . 摂取するタンパク質の種類の違いがラットの耐糖能力に及ぼす影響 . 第 73 回日本体力医学会大会 (福井), 2018年9月7日
- 17) 佐藤峻登、丸山裕輝、川中健太郎、河本絵美 . ルチンが水泳運動後のラット骨格筋グリコーゲン含量に及ぼす影響 . 第 73 回日本体力医学会大会 (福井), 2018年9月8日

[図書] (計 3 件)

- 1) 川中健太郎 (他 21 名、分担執筆): 運動と疲労の科学(下光輝一・八田秀雄編集) . 東京 : 大修館書店 ; 2018 年 .
- 2) 川中健太郎 (他 11 名、分担翻訳): トレーニングのための生理学的知識(Zsolt Radak 著、樋口満監訳) . 東京 : 市村出版 ; 2018 年 .
- 3) 川中健太郎 (他 13 名、編集、分担執筆): 栄養科学イラストレイテッド 運動生理学 . 東京 : 羊土社 ; 2019 年 .

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

檜垣 靖樹 (HIGAKI Yasuki)
福岡大学・スポーツ科学部・教授
研究者番号 : 10228702

上原吉就 (UEHARA Yoshinari)
福岡大学・スポーツ科学部・教授
研究者番号 : 70373149

羅 成圭 (RA Songyu)
福岡大学・スポーツ科学部・助教
研究者番号 : 60741999

増田 紘之 (MASUDA Hiroyuki)
新潟医療福祉大学・健康科学部・助手
研究者番号 : 10738561