

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H06689

研究課題名(和文) 新しい骨格筋グリコーゲン回復法の探索 -糖質のエネルギー利用に着目して

研究課題名(英文) New strategy for post-exercise skeletal muscle recovery -focusing on carbohydrate energy utilization-

研究代表者

高橋 祐美子 (Takahashi, Yumiko)

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号：60780608

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：運動時の骨格筋グリコーゲン回復の促進方法は、グリコーゲン合成に焦点を当てた検討はこれまで多くなされてきた。一方、運動後の骨格筋グリコーゲン濃度の上昇亢進には、糖質のエネルギー利用を抑えることも有効と考えられるが、これまで検証されていなかった。そこで、本研究では、水泳運動直後の雄性ICRマウスより滑車上筋を摘出し、生理的濃度のグルコースとインスリンを含む培養液に、糖質のエネルギー利用抑制に関わると予想される物質を添加し、添加効果を検証した。その結果、ケトン体の添加によって、骨格筋グリコーゲン回復が促進されるという結果を得た。

研究成果の概要(英文)：Many researchers and athletes have been interested to know how post-exercise glycogen resynthesis can be enhanced in skeletal muscle. However, it has been suggested that there is an upper limit of resynthesis rate of skeletal muscle glycogen. Meanwhile, recent studies suggested that reducing carbohydrate utilization as a fuel during post-exercise phase might enhance skeletal muscle glycogen repletion. In this study, we investigated using in vitro system whether treatment of the regent that is expected for attenuating carbohydrate utilization as an energy fuel stimulates glycogen repletion in skeletal muscle after exercise. We found a significant effect of ketone body, which is reported to reduce the activity of pyruvate dehydrogenase, on post-exercise glycogen repletion in skeletal muscle.

研究分野：運動生理生化学

キーワード：骨格筋 グリコーゲン 解糖系 ピルビン酸脱水素酵素 運動後

1. 研究開始当初の背景

運動時に最も重要な代謝基質は骨格筋グリコーゲンである。その根拠の一つは、運動時にエネルギー産生に最も多く使われる代謝基質が骨格筋のグリコーゲンであることが挙げられる(Romijn et al., 1993)。また、グリコーゲンは骨格筋が円滑に収縮を行う上で重要な役割を果たすことも示唆されている(Ortenblad et al., 2011)。運動で減った骨格筋グリコーゲンを回復させることは、次に運動を行うための準備として不可欠であり、運動習慣を継続することや、競技者が試合を連続してこなすために重要となる。

申請者は以前より、運動後の骨格筋グリコーゲン回復の促進方法を検討してきた。これまでの運動後の骨格筋グリコーゲン回復促進方法の検討は、グリコーゲン合成の亢進に焦点を当てたものが主であった。一方、申請者は、タウリン投与がマウスの骨格筋グリコーゲン回復を促進することを発見した際(Takahashi et al. 2014&2016)、タウリン投与群では解糖系の律速酵素ホスホフルクトキナーゼ(PFK)の代謝産物が低値であり、解糖系の抑制がみられた。あわせて、ピルビン酸をアセチル CoA へと不可逆的に変換し、糖質酸化利用の律速酵素と考えられているピルビン酸脱水素酵素(PDH)のリン酸化型(不活性化型)の割合がタウリン投与群の骨格筋で高値傾向を示した。さらに、PDH のリン酸化型の割合が高いほどグリコーゲン濃度が高い、正の相関関係がみられた。

これらの結果より、運動後の骨格筋での糖質のエネルギー利用の抑制はグリコーゲンの回復の促進に繋がる可能性を考えた。

2. 研究の目的

本研究では、運動後の骨格筋で糖質のエネルギー利用を抑えることがグリコーゲン回復の促進に繋がるかを明らかにすることを目的とした。特に、申請者の過去の研究で運動後の骨格筋グリコーゲン回復との関

係が示唆された、解糖系の律速酵素 PFK および 糖の酸化利用の律速酵素 PDH の活性制御に着目し、この 2 つの酵素を抑えることを期待される物質の添加によって、運動後のグリコーゲン回復を促進できるか、検証した。

3. 研究の方法

本研究では、運動後に動物より骨格筋を摘出し、*in vitro* で培養する実験モデルで、仮説の検証を行った。生体での骨格筋グリコーゲン回復は、例えば、摂取した糖質の消化管での吸収、血流量、インスリンをはじめとしたホルモンの血中濃度など、骨格筋以外で起こる生理的応答に大きく影響を受ける。したがって、骨格筋のグリコーゲン回復に対する、糖質のエネルギー利用の抑制をもたらすと予想される物質の添加効果は、骨格筋を摘出し、均一に保った条件で培養を行い、検証することが必要と考えた。

雄性の ICR マウスに、一晩絶食後 1 時間の水泳運動を行わせた後、運動終了直後に滑車筋を摘出した。この運動プロトコルにて、滑車筋の近くに存在する上腕三頭筋の骨格筋グリコーゲン濃度が低下することを確認した。摘出した滑車筋は、KHB バッファーに生理的範囲内のグルコースとインスリンを添加した条件で、35 にて 2 時間培養した。この時、片腕の滑車筋には糖質エネルギー利用を抑える可能性を持つ物質を添加し、もう片腕の滑車筋は対照として、それぞれ培養した。培養終了後、速やかに液体窒素にて骨格筋を凍結保存し、グリコーゲン濃度を測定した。

4. 研究成果

解糖系律速酵素ホスホフルクトキナーゼ(PFK)阻害剤の添加実験

PFK 阻害剤としてしられる物質は複数存在する。その中で、クロトリマゾールの使用を考えたが、KHB バッファー中に溶

解しないという問題点が生じた。そのため、KHB バッファーに可溶性サリチル酸ナトリウム(Spitz et al., 2009)を 1 mM 添加し、グリコーゲン濃度の回復を検討した。

その結果、予想に反して、運動終了から 2 時間培養後のグリコーゲン濃度はサリチル酸ナトリウム添加条件で有意に低値を示した。

詳細な機序は不明であるが、高濃度の糖系律速酵素の阻害剤の添加により、グルコースの中間代謝物グルコース 6 リン酸(G6P)の蓄積、G6P 濃度上昇による糖取り込みの律速酵素ヘキソキナーゼの抑制が起こった可能性が考えられる。それに伴い、糖の取り込みが低下し、グリコーゲン回復が抑制された可能性が考えられる。

糖酸化律速酵素ピルビン酸脱水素酵素(PDH)活性抑制効果が期待される物質の添加実験

糖の酸化利用を抑えることが期待される栄養物質として、ケトン体が挙げられる(Wieland et al., 1971; Maizels et al., 1977; Berger et al., 1976; Hagg et al., 1976)。生理的範囲内のケトン体の添加が、運動後の骨格筋グリコーゲン回復に与える効果を検討した。

その結果、ケトン体の添加によって、骨格筋グリコーゲン回復が促進されるという結果が得られた。

現在は運動後の骨格筋でケトン体が糖質のエネルギー利用をもたらしたのか、検討を行っている。

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 5 件)

高橋祐美子. 2017. 運動後の骨格筋グリコーゲン回復を促進させる栄養素. FOOD Style 21, 21(7): 66-69. (査読有)

Takahashi Y, Matsunaga Y., Tamura Y., Terada S., Hatta H. Pre-Exercise High-Fat Diet for 3 Days Affects Post-Exercise Skeletal Muscle Glycogen Repletion. J Nutr Sci Vitaminol., 63: 323-330. (査読有)

Takahashi Y, Hatta H. 2017. Effects of taurine administration on exercise-induced fatigue and recovery. J Phys Fitness Sports Med 6: 33-39. (査読有)

Takahashi Y, Tamura Y, Matsunaga Y, Kitaoka Y, Terada S, Hatta H. 2016. Effects of taurine administration on carbohydrate metabolism in skeletal muscle during the post-exercise phase. J Nutr Sci Vitaminol. 62(4):257-264. (査読有)

八田秀雄, 高橋祐美子. 2016. タウリンによる運動後における筋グリコーゲン再合成の促進. タウリンリサーチ 2, 37-39. (査読有)

[学会発表](計 5 件)

高橋祐美子, 北岡祐, 萬城麻衣, 佐藤洋介, 高橋謙也, 竹井尚也, 八田秀雄. 持久的運動後の糖質・タンパク質摂取時の骨格筋タンパク質合成系のシグナル経路の応答. 第 72 回日本体力医学会大会, 2017 年, 愛媛県

高橋祐美子, 北岡祐, 八田秀雄. 持久的運動後のタンパク質・糖質摂取のタイミングと骨格筋タンパク質合成系のシグナル経路の応答. 第 4 回日本スポーツ栄養学会大会, 2017, 東京都

Takahashi Y, Matsunaga Y, Tamura Y,

Hatta H.

Pre-exercise fasting attenuates post-exercise skeletal muscle glycogen repletion in mice. Cell symposia: Exercise Metabolism, 2017, Gothenburg, Sweden.

Takahashi Y, Matsunaga Y, Tamura Y, Terada S, Hatta H. Pre-exercise fasting attenuates post-exercise skeletal muscle glycogen repletion in mice. APS Intersociety Meeting The Integrative Biology of Exercise VII, 2016, Phoenix, AZ, USA.

高橋祐美子, 松永裕, 田村優樹, 八田秀雄. 運動前の絶食で運動後の骨格筋グリコーゲン回復は抑制される. 第71回日本体力医学会大会, 2016年, 岩手県

6 . 研究組織

(1)研究代表者

高橋 祐美子 (TAKAHASHI, Yumiko)
東京大学・大学院総合文化研究科・助教
研究者番号：60780608