

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：34315

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19963

研究課題名(和文)筋タンパク質合成シグナルの応答性に着目した、新たなトレーニング効率化手段の開発

研究課題名(英文)The mechanism for attenuation of anabolic responses in skeletal muscle per exercise sessions in continuous resistance training

研究代表者

竹垣 淳也 (Takegaki, Junya)

立命館大学・総合科学技術研究機構・特別研究員

研究者番号：10824055

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、レジスタンストレーニングを行う中で経過に伴い筋肥大効果が減弱するメカニズムを明らかにすることを主たる目的とした。SDラットを対象に、電気刺激による他動的な筋収縮を用いたレジスタンス運動を48時間毎に実施させた。その結果、10セッション目にレジスタンス運動応答(mTORC1の活性化応答)は低減していた。さらに、1セッション目と10セッション目の機械的刺激のセンサーであるMAPKの応答を比較検討したところ、10セッション目で顕著な応答低減が認められ、トレーニングの経過に伴う筋肥大効果の減弱には細胞外マトリクスの適応変化によるMAPKの応答減弱が関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

レジスタンストレーニングの経過に伴う筋肥大効果の減弱は、定められた期間内に目標としていた筋肥大効果を得るための障壁となる。しかし、この現象のメカニズムはほとんど明らかとなっていなかった。本研究により、このメカニズムに機会的刺激のストレスセンサーであるMAPKの応答鈍化が関与する可能性が示された。本知見は、未だ不明な点が多いレジスタンス運動応答の分子メカニズムの全容解明に貢献するものである。また、この応答鈍化を解消するような介入を付加することで、効果を維持したレジスタンストレーニングが実現し、将来的に効率的な筋肥大効果を誘導する手段として、医療・スポーツの現場へと応用されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Resistance exercise training induces skeletal muscle hypertrophy, but repeated bouts gradually attenuate this effect. Attenuation of mTORC1 activation is suggested to be involved in this process, but the mechanism has not been clarified. The purpose of this study was to elucidate the mechanism for the attenuation of mTORC1 activation in continuous resistance exercise training. Here, we showed that resistance exercise activated mTORC1, but its magnitude was decreased with repeated bouts (10 bouts) in rat skeletal muscle. At the same time, the phosphorylation of ERK1/2 and p38 MAPK were also decreased. These observations indicate that repeated bouts of resistance exercise desensitized MAPKs, which may have been partly responsible for the blunting of muscle hypertrophic effect in continuous resistance exercise training.

研究分野：運動生理学

キーワード：レジスタンス運動 筋同化応答 mTORC1 MAPK IRS 機械的刺激 筋タンパク質合成

1. 研究開始当初の背景

レジスタンストレーニング(いわゆる筋力トレーニング)は、骨格筋量を維持・増大させる手段の一つとして、医療・スポーツの現場で広く用いられている。一方で、レジスタンストレーニングは、継続に伴って次第に筋肥大効果が減弱するため、定められた期間内に目標としていた筋肥大効果が得られないケースがある。このような状況を打破するためにも、この現象のメカニズムを解明し、筋肥大効果の低減を生じないレジスタンストレーニング法を開発することが望まれる。

このようなレジスタンストレーニングの経過に伴う効果の減弱には、筋タンパク質合成の活性化を担う mTOR 複合体 (mTORC) の応答減弱が関与することが知られている。レジスタンス運動に伴う p70S6K は mTORC1 の下流に存在し、そのリン酸化応答は mTORC1 の活性化指標としてよく用いられる。単回のレジスタンス運動は筋タンパク質合成を活性化させ、トレーニングとして長期的に繰り返し行うことで筋肥大が生じるとされているが、一方で p70S6K のリン酸化応答はレジスタンストレーニングの経過に伴い低減することが示されている。しかしながら、その詳細な機構は明らかとなっておらず、具体的な解決手段が見出されていない。

2. 研究の目的

本研究では、レジスタンス運動の反復に伴う筋肥大効果の減弱メカニズムを、p70S6K のリン酸化応答減弱の観点から検討し、そこで得られた知見から、筋肥大効果を維持したトレーニング法の基礎を構築することを目的とした。また、p70S6K の応答減弱メカニズムについては、レジスタンス運動によるインスリン受容体基質へのネガティブ・フィードバック機構と、細胞外マトリクス適応に着目した。

レジスタンス運動による p70S6K のリン酸化応答には、PI3K-Akt-mTORC1 シグナルの活性化が関与する。一方で p70S6K は、リン酸化が生じた際にこのシグナルの上流に位置するインスリン受容体基質 (IRS) 1/2 に対してネガティブ・フィードバックを生じることが示されている。従って、レジスタンス運動を繰り返し実施した場合、p70S6K の活性化自体が上流に位置する IRS1/2 に抑制を生じ、応答を減弱させている可能性が考えられる。

また、レジスタンス運動により生じた機械的ストレスは、ストレスセンサーである Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) を活性化させる。さらに MAPK は、p90RSK の活性化を通じて p70S6K のリン酸化を生じることが報告されている。一方で、高負荷でレジスタンス運動を行った場合、骨格筋の細部外マトリクスにコラーゲンを蓄積させ、その後の MAPK 応答が減弱することが示唆されている。これらの知見から、レジスタンス運動を反復して行う事により、細胞外マトリクスの適応変化が生じ、MAPK 適応が減弱することで、p70S6K のリン酸化応答が減弱される可能性が考えられる。

以上のことから、本研究ではレジスタンス運動の繰り返しの伴う IRS1/2 の応答変化と、MAPK の応答変化を検討した。

3. 研究の方法

11~13 週齢の SD ラットを対象に、右腓腹筋に対してレジスタンス運動を 48 時間毎に実施させた。レジスタンス運動は、電気刺激を行い、他動的な筋収縮を惹起させることで行った。なお、収縮様式は等尺性収縮とし、3 秒間の最大収縮 10 回 5 セットを 1 回の運動とした。左腓腹筋は刺激を行わず、同一個体内の対照として用いた。また、運動中は発揮トルクを常時測定し、ピークトルク並びに各運動セッションにおける力積を算出した。運動終了後、ラットを安楽死させた後に両腓腹筋を摘出した。得られた組織からタンパク質を抽出し、ウエスタンブロット法を用いてタンパク質発現を解析した。なお、本研究に関わる動物実験については、立命館大学の動物実験倫理委員会の承認を得て実施した。

4. 研究成果

(1) レジスタンス運動に対する p70S6K のリン酸化応答が減弱するセッション数の検討

先ず初めに、p70S6K のリン酸化応答の減弱が生じるセッション数の検討を行った。ラットに対してレジスタンス運動を繰り返し実施させ、1・5・10 回目の運動終了から 3 時間後の p70S6K のリン酸化応答を検討した。その結果、p70S6K のリン酸化型タンパク質 (Thr389 残基) はいずれのセッションにおいても非運動脚と比較して運動脚の発現が増加していたものの、その程度はセッション数を重ねることで減弱しており、1 回目と比較して 10 回目の運動後の応答は有意に低かった (図 1A)。また、p70S6K の総タンパク質発現量には顕著な変化は認められなかった (図 1B)。同時に、1・5・10 セッション目における運動内での力積・ピークトルクの比較検討も行ったが、有意な差は認められなかった (図 1C・D)。このことから、10 セッション目で p70S6K のリン酸化応答は減弱しており、さらにその応答変化は仕事量や発揮筋力の差異によらないことが示唆された。また、この結果を踏まえ、以降の検討では 1 セッション目と 10 セッション目

の比較検討を行うこととした。

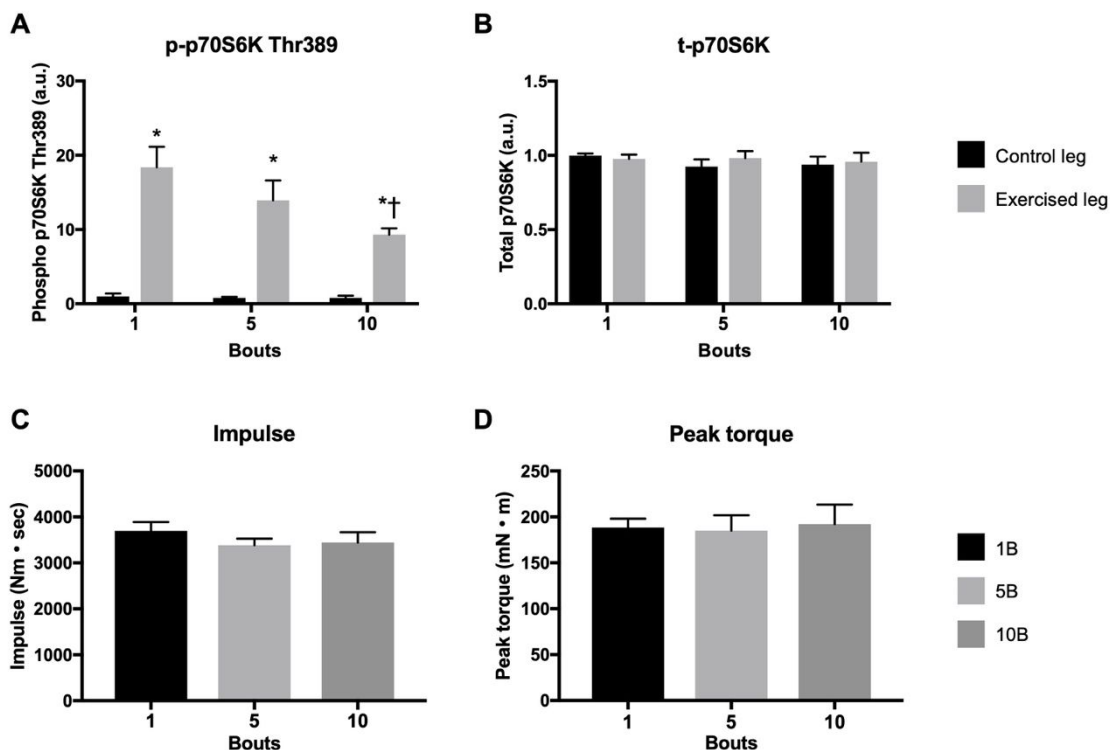


図1 . レジスタンス運動の繰り返しに伴う p70S6K 応答の変化
 A : p70S6K のリン酸化型タンパク質発現量 , B : p70S6K の総タンパク質発現量 , C : 力積 , D : ピークトルク。データは平均値 ± 標準誤差で示している。* : P < 0.05 vs Control , † : P < 0.05 vs 1B。

(2) レジスタンス運動に対する IRS1/2 の応答変化の検討

上記検討を踏まえ、1セッション目と10セッション目の終了3時間後のIRSの発現並びにリン酸化応答の変化を検討した。その結果、IRS-1の総タンパク質発現量はいずれのセッションにおいても変化が認められなかった(図2A)。一方で、IRS-2の総タンパク質発現量は、セッション数に関わらず運動によって増加していた(図2B)。また、IRS-1のリン酸化型タンパク質(Ser636/639残基, Ser612残基, Ser1101残基)の発現量はいずれも、セッション数に関わらず運動によって増加していた(図2C-E)。以上のことから、レジスタンス運動に対するIRS1/2の応答はセッション数に応じた変化は生じず、p70S6Kのリン酸化応答の減弱に関与しない可能性が示唆された。

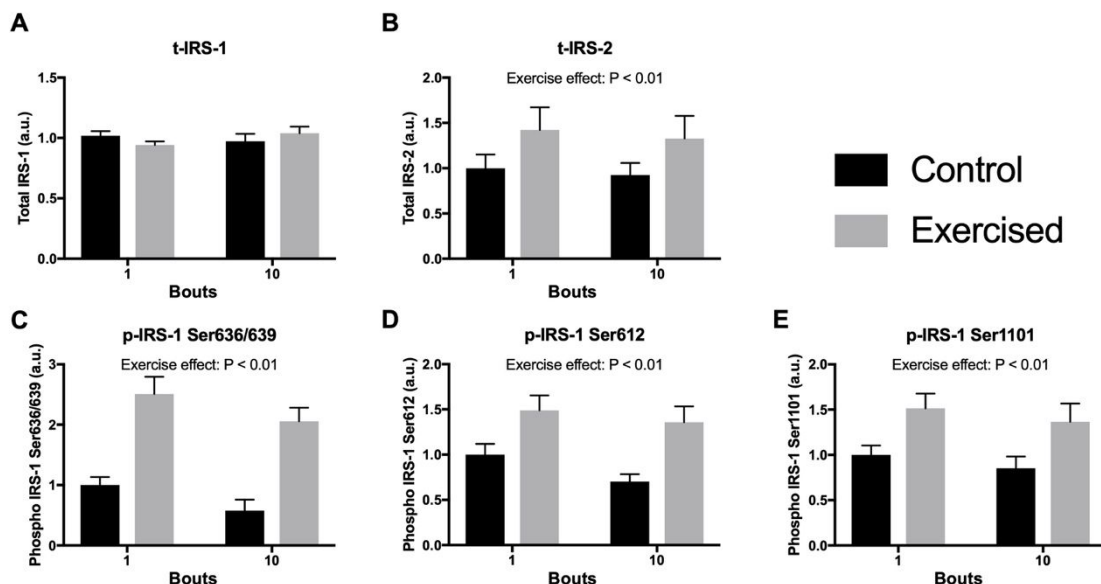


図2 . レジスタンス運動の繰り返しに伴う IRS 応答の変化
 A : IRS1 の総タンパク質発現量 , B : IRS2 の総タンパク質発現量 , C : IRS1 のリン酸化型タンパク質発現量 (Ser636/639 残基) , D : IRS1 のリン酸化型タンパク質発現量 (Ser612 残基) , E : IRS1

のリン酸化型タンパク質発現量 (Ser1101 残基)。データは平均値 ± 標準誤差で示している。

(3) レジスタンス運動に対する MAPK の応答変化の検討

実験 (1) の結果を踏まえ、1 セッション目と 10 セッション目の終了直後の MAPK の発現並びにリン酸化応答の変化を検討した。その結果、ERK1/2 のリン酸化型タンパク質 (Thr202/Tyr204 残基) の発現量は、ERK1/2 の総タンパク質発現量は、いずれの運動脚でも有意に増加していたが、1 セッション目と比較して 10 セッション目でその程度は有意に低かった (図 3A)。また、p38 MAPK のリン酸化型タンパク質 (Thr180/Tyr182 残基) の発現量も同様に、いずれの運動脚でも有意に増加していたが、1 セッション目と比較して 10 セッション目でその程度は有意に低かった (図 3B)。ERK1/2・p38MAPK の総タンパク質発現量はいずれも、1 セッション目では変化が認められなかったものの、10 セッション目では運動脚でわずかに増加していた (図 3C・D)。一方で、以上のことから、レジスタンス運動に対する MAPK の応答はセッション数の増加に伴い低減し、p70S6K のリン酸化応答の減弱に關与する可能性が示唆された。

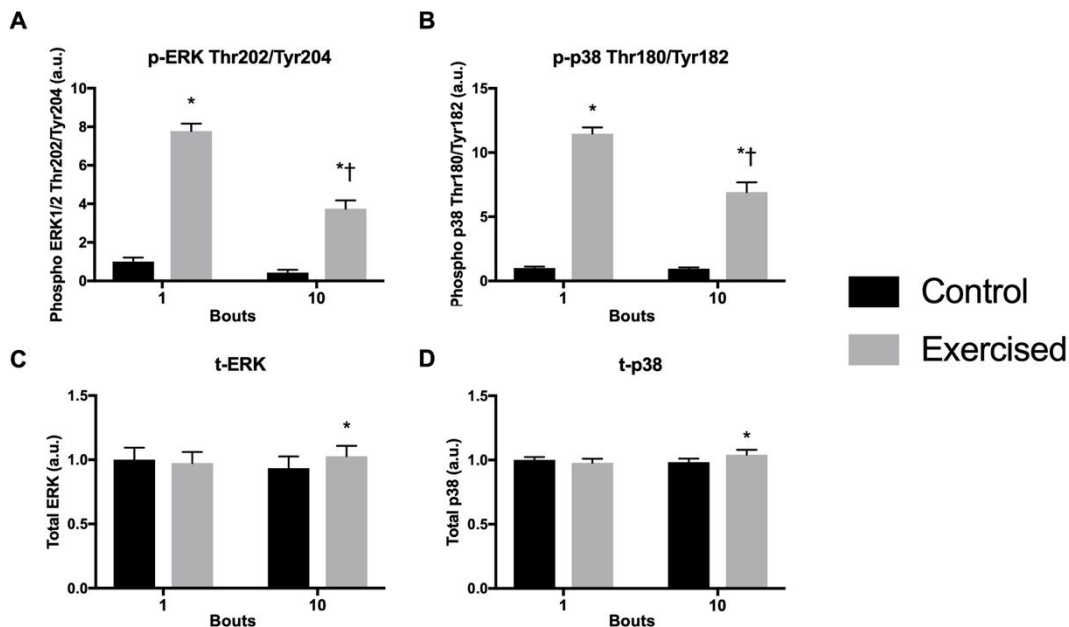


図 3 . レジスタンス運動の繰り返しの伴う MAPK 応答の変化

A : ERK1/2 のリン酸化型タンパク質発現量 (Thr202/Tyr204 残基), B : p38MAPK のリン酸化型タンパク質発現量 (Thr180/Tyr182 残基), C : ERK1/2 の総タンパク質発現量, D : p38MAPK の総タンパク質発現量。データは平均値 ± 標準誤差で示している。* : $P < 0.05$ vs Control, † : $P < 0.05$ vs 1B。

以上のように、レジスタンストレーニングの経過に伴う筋肥大応答の減弱には、機械的刺激による MAPK の応答低減が關与している可能性が示唆された。また実際に細胞外マトリクスに含まれるタンパク質の発現変化も一部検討を行ったところ、Integrin 1 の発現増加が生じていることが確認された。しかしながら、Integrin の直下のシグナルに関してはセッション数に応じた応答変化が認められなかったため、Integrin の発現変化が關与しているのか、また別の因子が關わるのか、などについては今後検討を行う必要がある。また、今回得られた成果から、MAPK の応答低減を抑制するような付加介入を行うことにより、効果を維持したレジスタンストレーニングを実現できる可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kono Yusuke, Takegaki Junya, Ohba Takeshi, Matsuda Koji, Negoro Ryouke, Fujita Satoshi, Fujita Takuya	4. 巻 596
2. 論文標題 Magnetization of mesenchymal stem cells using magnetic liposomes enhances their retention and immunomodulatory efficacy in mouse inflamed skeletal muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 120298-120298
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijpharm.2021.120298	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Junya Takegaki, Kohei Sase, Satoshi Fujita.	4. 巻 520(1)
2. 論文標題 Repeated bouts of resistance exercise attenuate mitogen-activated protein-kinase signal responses in rat skeletal muscle.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 73-78
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.09.050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Junya Takegaki, Kohei Sase, Satoshi Fujita.
2. 発表標題 The changes in the responses of autophagy-related factors with repeated bouts of resistance exercise.
3. 学会等名 Integrative Physiology of Exercise 2020 Conference（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Junya Takegaki, Kohei Sase, Yusuke Kono, Takuya Fujita, Satoshi Konishi, Satoshi Fujita.
2. 発表標題 The effects of mesenchymal stem cells injection and acute resistance exercise on basal muscle protein metabolism in mouse skeletal muscle.
3. 学会等名 25th Conference on ECSS（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹垣淳也, 佐瀬晃平, 中野大輝, 河野裕允, 藤田卓也, 小西聡, 藤田聡.
2. 発表標題 マウス骨格筋に対する間葉系幹細胞の筋肉内注射による筋タンパク質合成シグナルの変化.
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Junya Takegaki, Kohei Sase, Satoshi Fujita.
2. 発表標題 Molecular mechanisms involved in reduced mTORC1 signal responses after repeated bouts of resistance exercise.
3. 学会等名 24th Conference on ECSS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹垣淳也, 佐瀬晃平, 藤田聡.
2. 発表標題 レジスタンス運動の繰り返しに伴いIrf90RSKのリン酸化応答は減衰する.
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥村 公基, 竹垣 淳也, 佐瀬 晃平, 深尾 直生, 藤田 聡.
2. 発表標題 レジスタンス運動実施に伴う骨格筋内のサルコリピン発現量の変化
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 深尾 直生, 竹垣 淳也, 佐瀬 晃平, 奥村 公基, 藤田 聡.
2. 発表標題 レジスタンス運動の繰り返しに伴うFAKおよびLAT1の応答変化
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------