

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20007

研究課題名(和文) 単回レジスタンス運動でインスリン感受性を改善するために - 分子制御からのアプローチ

研究課題名(英文) Regulatory mechanics for improving insulin sensitivity by a single bout of resistance exercise

研究代表者

木戸 康平 (Kido, Kohei)

福岡大学・スポーツ科学部・助教

研究者番号：50822730

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)：運動で効果的に糖代謝を改善させるための分子基盤を構築するため、本研究では、単回レジスタンス運動後のシグナル活性がインスリン感受性に及ぼす影響について検討した。実験動物に対する薬理学的実験により、単回レジスタンス運動は、骨格筋のインスリン感受性を亢進する一方で、インスリン抵抗性に関わる因子(mTORC1)の活性化を引き起こすことが明らかになった。mTORC1の活性化は、レジスタンス運動によるインスリン感受性亢進効果を抑制するが、この抑制制御は、絶食時に運動を実施することで最小限に抑えられることも示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、単回のレジスタンス運動が、その後のインスリン感受性に与える影響は明らかでなかった。つまり、本研究は、単回レジスタンス運動の実施が、インスリン感受性の改善に有効であることを初めて示した知見となった。運動の継続的な実施に抵抗感のある糖尿病患者にとっては、一回の運動が血糖コントロールの改善に効果的であるという知見は、運動実施意欲の維持、向上に繋がる。さらに、レジスタンス運動特異的な作用機序の一端を明らかにしたことは、患者の病態や投薬状況を考慮した運動種別の選択に貢献し、運動処方 of 臨床的汎用性を高める基礎データの構築に繋がった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate a causal relationship between insulin-stimulated glucose uptake and activation of molecular signal following a single bout of resistance exercise. The present study demonstrates that resistance exercise increased skeletal muscle glucose uptake in response to insulin, which was suppressed by activation of mTORC1, a regulator of insulin resistance. It is known that mTORC1 activation after resistance exercise was reduced by fasting. Therefore, the present study examined the effect of fasting on resistance exercise-induced insulin sensitivity and demonstrated that fasting potentiated insulin sensitizing effect of resistance exercise.

研究分野：運動生理学、運動生化学

キーワード：レジスタンス運動 インスリン感受性 骨格筋 AMPK mTORC1 IRS-1

1. 研究開始当初の背景

骨格筋は、日常動作のための運動器としての役割だけでなく、代謝臓器としても重要な役割を果たす。特に、糖代謝においては、インスリンによって促進される全身の血糖利用の約 **90%** を骨格筋が担っているため、その量と質の維持は、糖尿病の予防・改善に必須といえる。有酸素性運動は、一般的に骨格筋の量には作用しないが、糖代謝における骨格筋の「質」である“インスリン感受性”を改善するため、その実施が糖尿病患者に推奨されてきた。一方、骨格筋の「量」を維持・増進することから、レジスタンス運動の実施も推奨され始めている。しかし、レジスタンス運動が骨格筋のインスリン感受性に及ぼす影響とその分子制御は明らかにされておらず、現状ではインスリン感受性の改善には有酸素性運動を用いざるを得ない。

有酸素性運動は、単回の実施でその後約 **48 時間** に渡って骨格筋のインスリン感受性を改善する。さらに、細胞内エネルギーの低下によって活性化する **AMPK** が、この効果を媒介していることも明らかにされている (Kjøbsted *et al. Diabetes* 2017)。単回のレジスタンス運動が骨格筋のインスリン感受性に与える効果は不明だが、有酸素性運動と同様に骨格筋の **AMPK** シグナルを活性化させることは報告されている (Kido *et al. Physiol Rep* 2016)。一方、有酸素性運動と異なる特徴として、レジスタンス運動は骨格筋肥大を惹起する **mTORC1** シグナルを長時間活性化させる (Wilkinson *et al. J Physiol* 2008)。一般的に、**mTORC1** の活性化はインスリン感受性の低下を招く (Um *et al. Nature* 2004)。つまり、レジスタンス運動は、骨格筋のインスリン感受性を制御する正と負の両因子を高める運動様式であると言える。しかし、単回のレジスタンス運動によるこれら両因子の活性化が、骨格筋のインスリン感受性に与える影響とその因果関係は不明である。

2. 研究の目的

研究課題 **1** では、単回のレジスタンス運動による骨格筋の **AMPK**、**mTORC1** の活性化がインスリン刺激による骨格筋の糖取り込みに与える影響を検討した。さらに、研究課題 **2** では、単回レジスタンス運動後の **mTORC1** 活性と骨格筋のインスリン感受性との因果関係を検討した。

また、長時間の絶食は、単回レジスタンス運動による **mTORC1** 活性を抑制することが明らかになっている (Sase *et al. Physiol Rep* 2019)。これはつまり、絶食条件下でのレジスタンス運動は、飽食条件下より骨格筋のインスリン感受性を促進する可能性を示唆している。そこで、研究課題 **3** では、長時間の絶食が単回のレジスタンス運動後の骨格筋のインスリン感受性に与える影響を検討した。

3. 研究の方法

【研究課題 1】

実験は、**10 週齢**の **Sprague-Dawley (SD)** ラットを用いて実施した。対象ラットは、飼育施設に搬入後、**1 週間**飼育環境に順化させた。その後、**1 晩**絶食したラットの片脚腓腹筋に対して経皮的電気刺激を行うことで、レジスタンス運動模倣負荷を施した。なお、対側脚の腓腹筋は安静コントロールとした。レジスタンス運動終了 **5 時間 30 分**後にインスリン (**2U/kg** 体重) もしくは生理食塩水を注射し、**30 分**後に腓腹筋を摘出した。摘出した腓腹筋は、ウェスタンブロッティング法によるシグナルタンパク質の定量に用いた。また、骨格筋の糖取り込み速度の測定時には、解剖 **20 分**前に **2-Deoxy-d-glucose** を静脈注射した上で腓腹筋を摘出した。

【研究課題 2】

研究課題 **1** と同様に、**10 週齢**の **SD** ラットを搬入し、**1 週間**の飼育環境順化を行った上で実験に用いた。研究課題 **2** では、**mTORC1** の阻害剤であるラパマイシン (**1.5mg/kg**) もしくは生理食塩水を腹腔投与した上で、投与 **1 時間**後に研究課題 **1** と同様の方法でレジスタンス運動を負荷した。レジスタンス運動終了 **5 時間 30 分**後に、インスリン (**2U/kg** 体重) を注射し、**30 分**後に腓腹筋を摘出した。骨格筋の糖取り込み速度は、研究課題 **1** と同様の方法を用いて測定した。

【研究課題 3】

体重 **150-170g** の **Wistar** 系雄性ラットを、**36 時間**絶食群と飽食群のいずれかに分類し、ラットの総腓骨神経に対して電気刺激を行うことで、**10 分**間の長趾伸筋へのレジスタンス運動を惹起した。運動終了 **3 時間**後に長趾伸筋を摘出し、インスリンを含む培養液で骨格筋を培養した。骨格筋の糖取り込み速度は、培養液中に放射性同位体で標識された **2-Deoxy-d-glucose** を添加することで測定した。

4. 研究成果

【研究課題 1】

単回の有酸素性運動による **AMPK** シグナルの活性化は、その後のインスリン感受性の亢進を引き起こすことが明らかになっている (Kjøbsted *et al. Diabetes* 2017)。本研究では、単回のレジスタンス運動も、**AMPK Thr172** およびその下流標的である **ACC Ser79** のリン酸化を有意に上昇させた (図 **1**)。本結果は、単回のレジスタンス運動もインスリン感受性の亢進を惹起する可能性を示唆している。

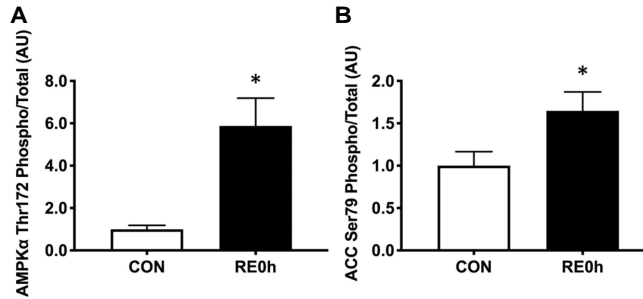


図 1：単回レジスタンス運動直後の AMPK シグナル活性
(A) AMPKα Thr172、(B) ACC Ser79 のリン酸化
 平均値±標準誤差，* $p < 0.05$ ，レジスタンス運動(RE)，安静コントロール (CON)

mTORC1 活性化の指標である P70S6K Thr389 のリン酸化は、単回レジスタンス運動 6 時間後に有意に高値を示した(図 2-A)。先行研究にて、mTORC1 の活性化がインスリン受容体基質-1 (IRS-1) Ser 残基のリン酸化を高めることで、インスリン抵抗性を引き起こすことが報告されている(Um et al. Nature 2004)。本研究でも、mTORC1 の活性化と同様に、IRS-1 Ser1100、Ser632/635、Ser612 のリン酸化がレジスタンス運動 6 時間後後有意に上昇していた(図 2-B-D)。

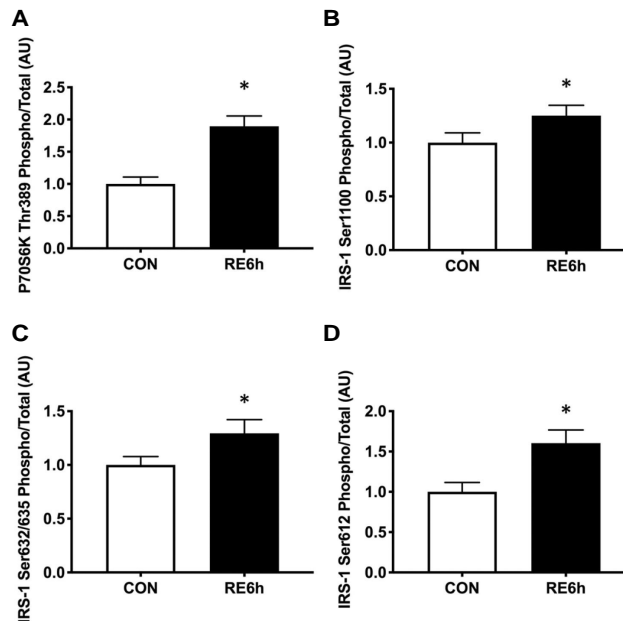


図 2：単回レジスタンス運動 6 時間後の mTORC1-IRS-1 シグナル活性
(A) P70S6K Thr389、(B) IRS-1 Ser1100、(C) IRS-1 Ser632/635、(D) IRS-1 Ser612 のリン酸化
 平均値±標準誤差，* $p < 0.05$ ，レジスタンス運動(RE)，安静コントロール (CON)

単回レジスタンス運動は、運動終了 6 時間後の Akt Ser473 および Thr308 のリン酸化に影響を与えなかった(図 3)。インスリンは、Akt Ser473 および Thr308 のリン酸化を有意に上昇させたが、その応答性はレジスタンス運動を実施した骨格筋の方が有意に低値を示した(図 3-A)。つまり、レジスタンス運動による mTORC1 活性は、IRS-1 Ser 残基のリン酸化上昇を介して、インスリンによる Akt のリン酸化を抑制している可能性が示唆された。

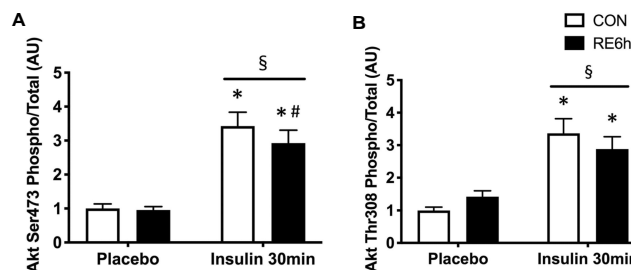


図 3：単回レジスタンス運動 6 時間後のインスリン刺激による Akt のリン酸化
 インスリン注射 30 分後の(A) Akt Ser473、(B) Akt Thr308 のリン酸化

平均値±標準誤差, * $p < 0.05$ vs. Placebo, # $p < 0.05$ vs. CON, § $p < 0.05$ vs. インスリン応答 (インスリンと単回レジスタンス運動の相互作用) レジスタンス運動(RE), 安静コントロール (CON)

一方で、単回のレジスタンス運動は、運動終了 6 時間後のインスリンによる骨格筋の糖取り込みを有意に上昇させた (図 4)。これらの結果から、単回のレジスタンス運動による AMPK シグナル活性は、インスリン感受性の亢進を惹起するが、このインスリン感受性亢進効果が、mTORC1-IRS-1 シグナルの活性化によって抑制されている可能性が示唆された。

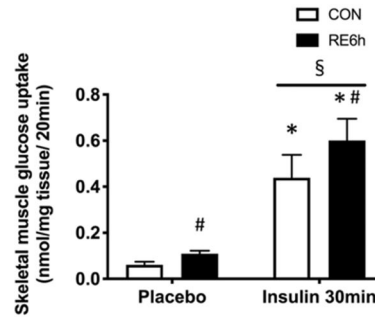


図 4: 単回レジスタンス運動 6 時間後のインスリン刺激による骨格筋の糖取り込み

インスリン注射もしくはプラセボ投与 30 分後の骨格筋の糖取り込み
平均値±標準誤差, * $p < 0.05$ vs. Placebo, # $p < 0.05$ vs. CON, § $p < 0.05$ vs. インスリン応答 (インスリンと単回レジスタンス運動の相互作用) レジスタンス運動(RE), 安静コントロール (CON)

【研究課題 2】

次に、単回レジスタンス運動による mTORC1 活性と IRS-1 Ser 残基のリン酸化およびインスリンによる骨格筋の糖取り込みとの因果関係を、ラパマイシンを用いて検討した。その結果、ラパマイシンは、単回レジスタンス運動 6 時間後の P70S6K Thr389 および IRS-1 Ser632/635 と Ser612 のリン酸化上昇を消失させた。一方で、IRS-1 Ser1100 のリン酸化は、ラパマイシン投与の有無に関わらず、レジスタンス運動終了 6 時間後で有意に高値を示した (図 5)。つまり、単回レジスタンス運動による mTORC1 活性は、IRS-1 Ser632/635 と Ser612 のリン酸化を上昇させるが、IRS-1 Ser1100 のリン酸化上昇に関与しないことが示唆された。

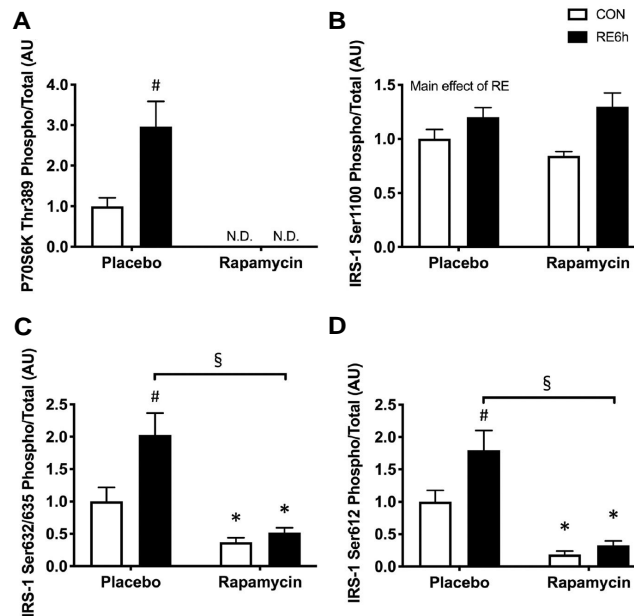


図 5: ラパマイシンが単回レジスタンス運動 6 時間後の mTORC1-IRS-1 シグナル活性に与える影響

(A) P70S6K Thr389、(B) IRS-1 Ser1100、(C) IRS-1 Ser632/635、(D) IRS-1 Ser612 のリン酸化

平均値±標準誤差, * $p < 0.05$ vs. Placebo, # $p < 0.05$ vs. CON, § $p < 0.05$ vs. レジスタンス運動応答 (単回レジスタンス運動とラパマイシンの相互作用) レジスタンス運動(RE), 安静コントロール (CON)

インスリン刺激下における骨格筋の糖取り込みは、安静コントロールと比較して単回レジスタンス運動 6 時間後で有意に高値を示した (図 6-A)。さらに、ラパマイシンは、単回レジスタンス運動によるインスリン感受性亢進効果を有意に促進した (図 6-B)。本研究結果から、単回レ

ジスタンス運動による **mTORC1-IRS-1** シグナル活性は、インスリン感受性亢進効果に対して抑制的に作用することが明らかになった。

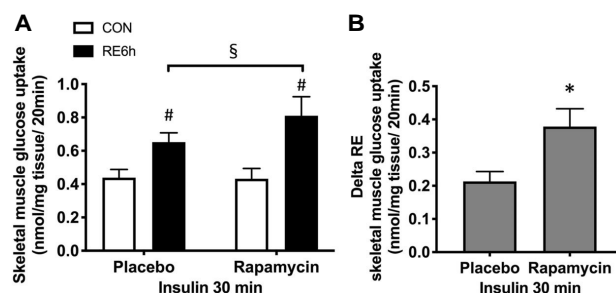


図 6: ラパマイシンが単回レジスタンス運動 6 時間後のインスリン刺激による骨格筋の糖取り込みに与える影響
(A) インスリン注射 30 分後の骨格筋の糖取り込み、(B) 単回レジスタンス運動による骨格筋の糖取り込みの変化量
平均値±標準誤差, * $p < 0.05$ vs. Placebo, # $p < 0.05$ vs. CON, \$ $p < 0.05$ vs レジスタンス運動応答 (単回レジスタンス運動とラパマイシンの相互作用)
レジスタンス運動(RE), 安静コントロール (CON)

【研究課題 3】

研究課題 1-2 の結果を受けて、単回レジスタンス運動による **mTORC1** 活性が抑制される長時間絶食が、運動後のインスリン感受性亢進効果を促進するかを確認した。その結果、36 時間絶食は、飽食と比較して運動後のインスリン感受性を促進することが明らかになった (図 7)。

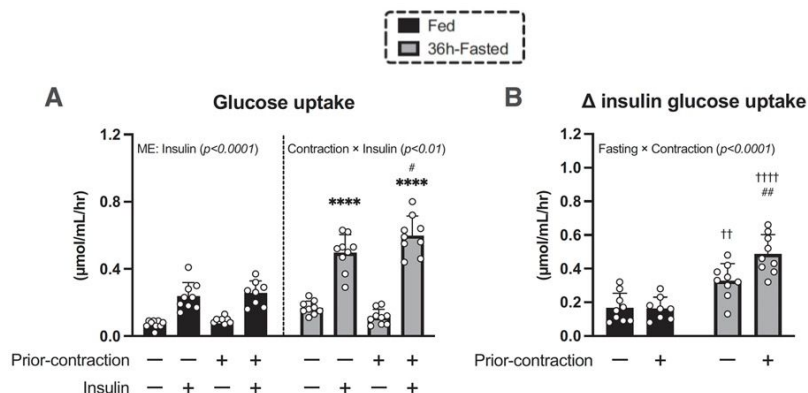


図 7: 36 時間絶食が単回レジスタンス運動 6 時間後の骨格筋のインスリン感受性に与える影響
(A) インスリン刺激による骨格筋の糖取り込み、(B) インスリンによる骨格筋の糖取り込みの変化量
平均値±標準偏差、**** $p < 0.0001$ vs. 非インスリン刺激筋、## $p < 0.01$ and # $p < 0.05$ vs. レジスタンス運動非実施筋、††† $P < 0.0001$ and †† $P < 0.01$ vs. Fed
主効果(ME), インスリン刺激 3 時間前のレジスタンス運動(Prior-contraction)、飽食群(Fed)、36 時間絶食群(36h-Fasted)

<引用文献>

- Kido K, Ato S, Yokokawa T, Makanae Y, Sato K, Fujita S. Acute resistance exercise-induced IGF1 expression and subsequent GLUT4 translocation. *Physiol Rep.* 2016 Aug;4(16):e12907.
- Kjøbsted R, Munk-Hansen N, Birk JB, Foretz M, Viollet B, Bjørnholm M, Zierath JR, Trebak JT, Wojtaszewski JF. Enhanced Muscle Insulin Sensitivity After Contraction/Exercise Is Mediated by AMPK. *Diabetes.* 2017 Mar;66(3):598-612.
- Sase K, Kido K, Ato S, Fujita S. The effect of a bout of resistance exercise on skeletal muscle protein metabolism after severe fasting. *Physiol Rep.* 2019 Nov;7(21):e14270.
- Um SH, Frigerio F, Watanabe M, Picard F, Joaquin M, Sticker M, Fumagalli S, Allegrini PR, Kozma SC, Auwerx J, Thomas G. Absence of S6K1 protects against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity. *Nature.* 2004 Sep 9;431(7005):200-5. doi: 10.1038/nature02866.
- Wilkinson SB, Phillips SM, Atherton PJ, Patel R, Yarasheski KE, Tarnopolsky MA, Rennie MJ. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. *J Physiol.* 2008 Aug 1;586(15):3701-17.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kido Kohei, Egawa Tatsuro, Watanabe Shinya, Kawanaka Kentaro, Treebak Jonas T., Hayashi Tatsuya	4. 巻 322
2. 論文標題 Fasting potentiates insulin-mediated glucose uptake in rested and prior-contracted rat skeletal muscle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E425 ~ E435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpendo.00412.2021	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 該当する

1. 著者名 Kido Kohei, Egawa Tatsuro, Fujiyoshi Haruna, Suzuki Hikari, Kawanaka Kentaro, Hayashi Tatsuya	4. 巻 35
2. 論文標題 AMPK is indispensable for overload induced muscle glucose uptake and glycogenesis but dispensable for inducing hypertrophy in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 e21459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202002164R	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 Kido Kohei, Sase Kohei, Yokokawa Takumi, Fujita Satoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Enhanced skeletal muscle insulin sensitivity after acute resistance-type exercise is upregulated by rapamycin-sensitive mTOR complex 1 inhibition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-65397-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sase Kohei, Kido Kohei, Ato Satoru, Fujita Satoshi	4. 巻 7
2. 論文標題 The effect of a bout of resistance exercise on skeletal muscle protein metabolism after severe fasting	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14270	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Kohei Kido, Tatsuro Egawa, Shinya Watanabe, Kentaro Kawanaka, Jonas T Treebak, and Tatsuya Hayashi
2. 発表標題 Effect of fasting on insulin-mediated glucose uptake in rested and prior-contracted rat skeletal muscle. international biochemistry of exercise conference
3. 学会等名 international biochemistry of exercise conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木戸康平、江川達郎、藤吉春菜、鈴木ひかり、川中健太郎、林達也
2. 発表標題 慢性的な過負荷に対する骨格筋適応におけるAMPKの役割
3. 学会等名 第7回日本筋学会学術集会（招待講演）
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
研究協力者	江川 達郎 (Egawa Tatsuro)		
研究協力者	林 達也 (Hayashi Tatsuya)		
研究協力者	川中 健太郎 (Kawanaka Kentaro)		

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			
デンマーク	コペンハーゲン大学	南デンマーク大学		