

平成22年 6月 9日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20700524
 研究課題名 (和文) 骨格筋のSIRT1発現に対するAMPキナーゼと一酸化窒素合成酵素の影響
 研究課題名 (英文) Effects of AMP kinase and nitric oxide synthase on skeletal muscle SIRT1 expression
 研究代表者
 諏訪 雅貴 (SUWA MASATAKA)
 東北工業大学・ライフデザイン学部・講師
 研究者番号：50464392

研究成果の概要 (和文)：骨格筋のSIRT1発現におけるAMPキナーゼと一酸化窒素合成酵素の役割を推定するため、ラットにAMPキナーゼ活性化剤または一酸化窒素合成酵素阻害剤を投与した。その結果から、AMPキナーゼも一酸化窒素合成酵素も骨格筋においてSIRT1発現をポジティブに制御していることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：To estimate the role of AMP-activated protein kinase and nitric oxide synthase on skeletal muscle SIRT1 protein expression, we treated AMP-activated protein kinase activator or nitric oxide synthase inhibitor to rats. The results might suggest that the both of AMP-activated protein kinase and nitric oxide synthase positively regulate the SIRT1 expression in skeletal muscle.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：一酸化窒素合成酵素、SIRT1、骨格筋、ミトコンドリア生合成

1. 研究開始当初の背景

持久的トレーニングを行うと、骨格筋では収縮特性や代謝特性の適応が起きることが知られている。しかし、それらの適応が起きるメカニズムについては不明な点が多い。我々は既に、一過性の持久的運動や持久的トレーニングを行うと、骨格筋でミトコンドリア生合成や脂質代謝亢進に関与するNAD⁺依存性脱アセチル化酵素SIRT1の発現が増加

することを確認しており、SIRT1が持久的トレーニングによる骨格筋の適応を媒介している可能性がある。また、骨格筋においてAMP依存性蛋白質キナーゼ (AMPキナーゼ) や、一酸化窒素合成酵素が筋収縮による適応現象と関連していることが示されている。これらのことなどから、骨格筋においてAMPキナーゼや一酸化窒素合成酵素がSIRT1発現を制御することにより、骨格筋の適応が生

じている可能性がある。

2. 研究の目的

ラットにAMPキナーゼ活性化剤または一酸化窒素合成酵素阻害剤を投与して骨格筋のSIRT1発現や糖・脂質代謝の指標の変化を確認することにより、AMPキナーゼや一酸化窒素合成酵素の持続的トレーニングによる骨格筋の適応における役割を推定することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 急性のAMPキナーゼ活性化

被検動物にはWistar系雄性ラットを用いた。ラットにAMPキナーゼ活性化剤AICAR (1mg/g BM) を投与し、投与1、2、4、6、12、18、24時間後にヒラメ筋と足底筋を摘出した。投与1、2、4時間後の筋についてはAMPキナーゼやその下流の酵素であるアセチルCoAカルボキシラーゼのリン酸化を確認した。また、投与6、12、18、24時間後の筋ではSIRT1、PGC-1 α 、GLUT4の蛋白質量とヘキソキナーゼ活性を求めた。さらに、生理食塩水またはAICAR投与24時間後で、両群間の比較も行った。

(2) 慢性のAMPキナーゼ活性化

被検動物にはWistar系雄性ラットを用いた。ラットにAMPキナーゼ活性化剤AICAR (1mg/g BM/day) を14日間毎日投与し、腓腹筋を摘出し、SIRT1および糖・脂質代謝指標について分析した。

(3) 一酸化窒素合成酵素阻害

被検動物にはWistar系雄性ラットを用いた。ラットに一酸化窒素合成酵素阻害剤L-NAMEを8週間飲水投与 (1mg/ml) し、ヒラメ筋と足底筋を摘出して分析に用いた。分析項目はSIRT1、糖・脂質代謝指標、および筋線維組成とした。

4. 研究成果

(1) 急性のAMPキナーゼ活性化

AICAR投与により、AMPキナーゼやアセチルCoAカルボキシラーゼのリン酸化が亢進した。長指伸筋ではAICAR投与24時間後にSIRT1発現の増加がみられた。また、PGC-1 α 、GLUT4の蛋白質量とヘキソキナーゼ活性も増加した (図1)。このことから、AMPキナーゼが急性的にSIRT1発現を亢進することが示唆された。

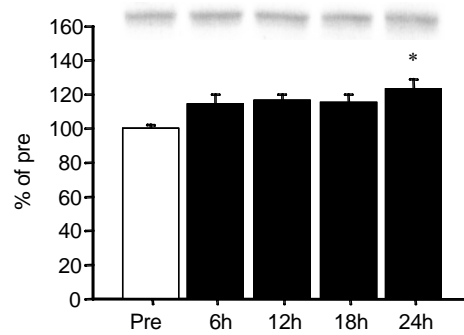


図1. 急性のAICAR投与による長指伸筋のSIRT1蛋白質発現の変化. * $P < 0.05$ vs. Pre.

(2) 慢性のAMPキナーゼ活性化

AICAR投与により、酸化系酵素活性、GLUT4蛋白質発現およびPGC-1 α 発現の増加が認められた。しかし、SIRT1発現に変化が認められなかったことから、SIRT1はAMPキナーゼによる初期の適応において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

(3) 一酸化窒素合成酵素阻害

L-NAME投与により糖・脂質代謝指標が低下した。また、ヒラメ筋においてType I線維の割合の低下とType IIA線維の割合の増加が見られた (図2)。さらに、足底筋ではSIRT1発現が低下していた (図3)。このことから、一酸化窒素合成酵素は骨格筋の代謝特性や収縮特性を制御しており、特に速筋ではこれらの変化にSIRT1が関与している可能性が示唆された。

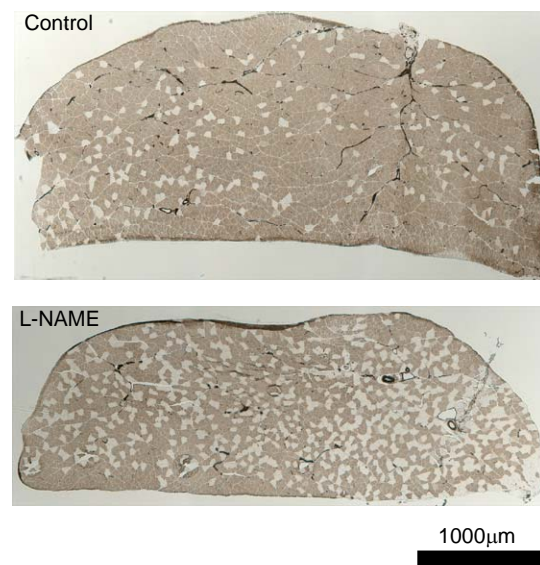


図2. L-NAME投与によるヒラメ筋の筋線維組成の変化. Myosin ATPase染色 pH4.3. 濃く染まっている細胞がType I線維.

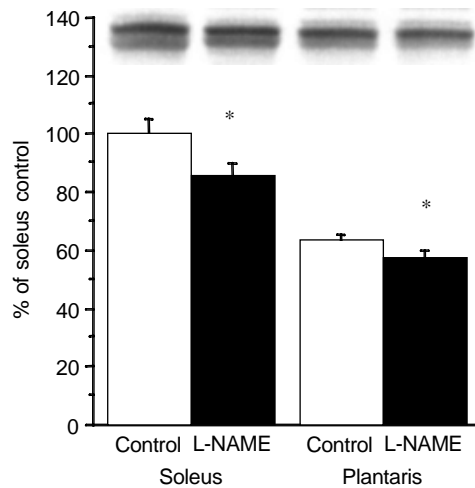


図3. L-NAME投与による骨格筋のSIRT1蛋白質発現の変化. * $P < 0.05$ vs. control.

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1件)

① Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. Short-term adenosine monophosphate-activated protein kinase activator 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -d-ribofuranoside treatment increases the sirtuin 1 protein expression in skeletal muscle. *Metabolism*, 査読有, in press.

[学会発表] (計1件)

① 諏訪雅貴、中野裕史、熊谷秋三. 一酸化窒素合成酵素阻害による骨格筋の代謝特性と組織化学的特性の変化. 第64回日本体力医学会大会、2009年9月19日 (新潟市).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

諏訪 雅貴 (SUWA MASATAKA)

東北工業大学・ライフデザイン学部・講師

研究者番号：50464392