

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 30 日現在

機関番号：35404

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700662

研究課題名（和文）骨格筋収縮活動レベルの違いが絶食時のオートファジー誘導に与える影響

研究課題名（英文） The effect of muscle contractile activity on activation of autophagy during fasting

研究代表者

緒方 知徳（OGATA TOMONORI）

研究者番号：30434343

## 研究成果の概要（和文）：

絶食時の筋萎縮をもたらす要因として、オートファジーの誘導と筋収縮活動レベルの関連性に着目し、絶食時に筋活動を増加させるモデル（代償性過負荷）と逆に減少させるモデル（除神経）を用いて両者の関連性を検討した。その結果、収縮活動を増加させることで絶食時の筋萎縮レベルが軽減する、収縮活動を遮断することで絶食時の筋萎縮レベルが増加することが明らかになった。さらに、この絶食時の萎縮にはオートファジーが部分的に関連する可能性が示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

We focused on relationship between muscle contractile activity and autophagy induction in atrophying muscle during fasting. To examine the effect of contraction activity, compensatory muscle overload (increase of muscle contraction) and denervation (decrease of muscle contraction) models were used in this study. This study showed that fasting-related muscle atrophy level was decreased in compensatory overloading group, while the level was increased in denervation group. It was suggested that autophagy induction partially contributes the mitigation of muscle atrophy by contractile activity during fasting.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：スポーツ科学

科研費の分科・細目：

キーワード：骨格筋、萎縮、絶食

## 1. 研究開始当初の背景

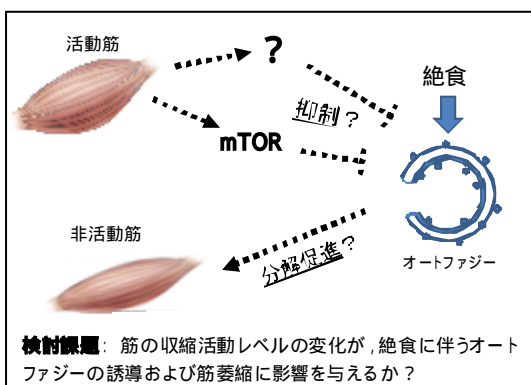
体重制のスポーツ種目では、急激な減量を

目的とした絶食や極度の食事制限を実施する選手が見られる。しかし、急激な体重

の減少には骨格筋量の顕著な低下が伴うことが知られており、筋萎縮に伴うパフォーマンスの低下が問題とされている。絶食時の筋萎縮に関する報告では、遅筋（遅筋線維が多くを占める）に比べ速筋（速筋線維が多くを占める）で萎縮の程度が顕著であることが示されている。このため、特にハイパワーを発揮するようなスポーツ種目における速筋の筋量低下は、競技力発揮の重大な障害と成り得るが、なぜ絶食時に速筋で優先的に萎縮が進行するのかは不明であった。

絶食時の筋萎縮の原因には、タンパク質合成量の減少、タンパク質分解量の増加、のどちらかもしくはその両方が関わると考えられる。このため、絶食による筋萎縮の機序を明らかにするためには、その誘因となる経路を明らかにする必要があった。

そこで本研究では、絶食に対する遅筋と速筋での萎縮レベルの違いの原因を明らかにするために、両筋タイプの特徴（筋の収縮活動頻度の違い）に着目し、筋活動とオートファジー制御の関連性を検討することとした。



## 2. 研究の目的

筋タイプによって絶食時の萎縮レベルが異なる理由を説明する要因として、筋の収縮活動レベルの違いが関連するかどうかをタンパク質分解経路であるオートファジーに焦点を当て明らかにすること。

### 3. 研究の方法

本研究では、筋収縮活動レベルが増加・減少するモデルを用いてタンパク質の分解制御（オートファジー）シグナルの変化を検討した。

#### (1) 筋収縮活動の増加が絶食時のオートファジーの誘導に及ぼす影響

筋タイプによって絶食時の筋萎縮レベルが異なる理由を説明する要因として、遅筋と速筋の収縮活動レベルの違いに焦点を当て、代償性過負荷によって収縮活動が増加した足底筋への絶食の影響をオートファジーの制御という点から、生化学的に検討した。

#### 代償性過負荷および絶食

実験には、Fischer系の成熟ラットを用い、コントロール群、代償性過負荷群、絶食群、代償性過負荷+絶食群に分類した。代償性過負荷は、麻酔下で下肢足底筋の共働筋であるヒラメ筋と腓腹筋の切除により行った。10日間の回復期において、72時間の絶食後（水は自由摂取）、足底筋を摘出し、生化学的な分析をおこなった。

#### (2) 筋収縮活動の低下が絶食時オートファジーの誘導に及ぼす影響

収縮活動レベルの違いによる絶食に伴う

筋萎縮時の筋タンパク質分解経路に及ぼす影響をさらに検討するために、除神経モデルを用いて、絶食による影響を受け難いヒラメ筋で収縮活動が低下した場合に、オートファジーの誘導はどう変化するかを検討した。

#### 除神経および絶食

実験には、Fischer系の成熟ラットを用い、コントロール群、徐神経群、絶食群、徐神経+絶食群に分類した。

除神経は、ラットの坐骨神経の一部を摘出することにより行った。10日間の回復期間において72時間の絶食後（水は自由摂取）、ヒラメ筋を摘出し、生化学的な分析をおこなった。

#### 4. 研究成果

##### 1) 絶食時に代償性過負荷により筋活動を増加させたモデルにおける検証結果

絶食による足底筋の萎縮率が、絶食群では19%であるのに対して絶食+代償性過負荷群では10%であり、過負荷により絶食時の萎縮進行が軽減されることが明らかになった。また、オートファジーのマーカータンパク質であるLC3-IIを用いた検証でも、絶食時の誘導レベルが代償性過負荷によって軽減される傾向が認められた。

オートファジーの制御に関わる因子として、mTORのリン酸化レベルは代償性過負荷を加えることによって顕著に増加し、絶食時の低下が抑制されることが明らかになった（図1）。また、mTORの下流因子であるp70S6Kタンパク質のリン酸化レベルも同様に代償性

過負荷により絶食の影響を軽減させることが明らかとなった（図2）。

このような知見は、絶食時の遅筋と速筋における違いが、機械的な負荷頻度の違いのような筋特性に起因するものであることを推察させるものであった。

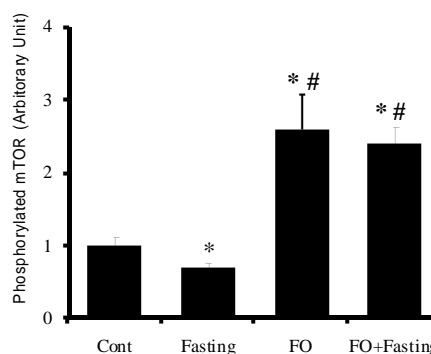
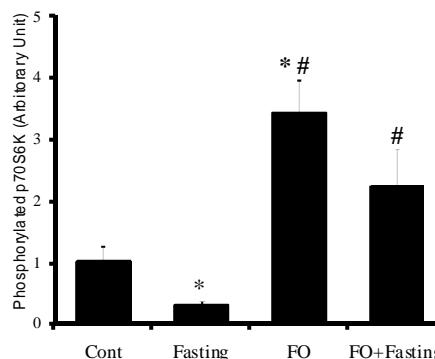


図1: 代償性過負荷による絶食時のリン酸化mTORの発現量変化, FO: functional overload,



\*, vs. Cont, p<0.05; #, vs Fasting

図2: 代償性過負荷による絶食時のリン酸化p70S6Kの発現量変化, FO: functional overload, \*, vs. Cont, p<0.05; #, vs Fasting

##### 2) 絶食時に除神経により筋活動を減少させたモデルにおける検証結果

徐神経は、筋萎縮をもたらすと同時に筋タ

ンパク質の分解を担うオートファジーの誘導レベルを増加させた(LC3-IIの発現量の増加: 図3)。また、オートファジーの活性化に関わるFOXO3aのリン酸化レベルを増加させた。絶食を行った群では、FOXO3aの増加は有意なものではなかったものの、LC3-IIの顕著な増加が認められた。一方、絶食+除神経群では、筋萎縮の程度が最も顕著であり、LC3-IIの増加レベルも最も大きかった(図3)。このことから、絶食中の収縮活動レベルの低下は、オートファジーのようなタンパク質分解経路を介して筋萎縮をさらに高める可能性が示唆された。このような結果は、日常的な収縮活動レベルが低い速筋において絶食時の筋萎縮が顕著ある原因を部分的に説明することにつながるかもしれない。

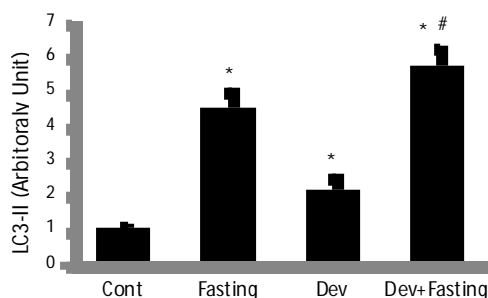


図3: 除神経に伴うオートファジーマーカーLC3-IIの発現変化, Dev: denervation; \*, vs. Cont,  $p < 0.05$ ; #, vs. Fast in

### 3) 本研究成果の国内外における位置づけ

本研究における最も重要な知見は、筋の収縮活動により、絶食に伴う筋萎縮の程度(オートファジーの制御)が異なるということである。このことは、絶食時の筋タイプによって異なる筋萎縮メカニズムの原因究明とい

う学術的な意義だけでなく、スポーツにおける減量時の筋萎縮と競技力低下に関する問題にも有用な情報となると考える。

### 4) 今後の展望

本研究の成果を踏まえて、今後の研究では絶食時の筋萎縮メカニズムとその抑制方法についてより詳細に検討して行く必要がある。本研究ではタンパク質分解経路としてオートファジーに焦点を置いたが、ユビキチン・プロテアソームのような他の経路への影響も明らかにする必要がある。また、合成経路についてもさらに詳細な検討を加えていく必要があるだろう。

### 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)

Tomonori Ogata, Ken Tokizawa, Satoru Kajikawa, Isao Muraoka. Effects of Genetic Variations in HIF-1 $\alpha$  on Physiological Response to Hypoxia. Sport Science Research, 査読有, 8巻, 2011, pp. 296-305

[学会発表](計 1件)

緒方知徳, 大石康晴. 絶食に伴う筋萎縮に対する代償性過負荷の影響. 第66回日本体力医学会大会, 査読有, 2011.

[図書](計 1件)

佐久間編著, 緒方 知徳(7 章). Research signpost. Current Research Trends in Skeletal Muscle. 7. The role of heat shock proteins in skeletal muscle. 2012, in press.

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

緒方 知徳 ( OGATA TOMONORI )

研究者番号 : 30434343

### (2)研究分担者

### (3)連携研究者

大石 康晴 ( OISHI YASUHARU )

研究者番号 : 10203704