

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：82723

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26560375

研究課題名(和文) 活性酸素種を利用した新たな骨格筋肥大増強法の開発

研究課題名(英文) New methods to induce skeletal muscle hypertrophy using reactive oxygen species

研究代表者

蒔苗 裕平 (Makanae, Yuhei)

防衛大学校(総合教育学群、人文社会科学群、応用科学群、電気情報学群及びシステム工・総合教育学群・助教)

研究者番号：00706632

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：活性酸素種および活性酸素種とレジスタンス運動の組み合わせが筋タンパク質合成に関与するシグナル伝達応答に及ぼす影響について検討した。その結果、活性酸素種の投与は、安静時の骨格筋におけるmTORC1を活性化することがわかった。しかしながら、活性酸素種投与はレジスタンス運動により惹起されるmTORC1活性化を亢進させなかった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the effects of reactive oxygen species (ROS) injection and the combination of ROS injection and resistance exercise on the mTORC1 activity. The exogenous increase in ROS stimulated mTORC1 activity at basal state. However, it did not further stimulate resistance exercise-induced mTORC1 activation.

研究分野：運動生理学

キーワード：運動 骨格筋 mTORC1 活性酸素種 レジスタンス運動

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨格筋は生体の主たる動力源であり、最大のエネルギー消費器官である。そのため、骨格筋量の維持・増加は、スポーツパフォーマンスの向上のみならず、加齢に伴う筋力低下防止や生活習慣病予防に重要である。骨格筋量を増加させる最も有効な手段として、レジスタンストレーニングが挙げられる。しかしながら、一般の人々にとってレジスタンストレーニングは精神的・身体的負担が大きく、その継続・実施率が低いという現状がある。そこで、より効率的・効果的に骨格筋量を増加させる方策を開発することができれば、誰もがトレーニングに取り組みやすくなるものと予想される。

骨格筋肥大には、様々な要因が関与することが知られている。我々は現在までに、運動によって産生量が増加する活性酸素種に着目し、「活性酸素種も骨格筋肥大の一要因なのではないか」という視点から研究を行ってきた。これまでの研究では、抗酸化物質として広く用いられているビタミンCが、タンパク質合成に関わる翻訳調節を介して骨格筋肥大を減弱することを世界に先駆けて見いだした (Makanae et al. *Acta Physiol* 2013)。この結果から、活性酸素種が筋タンパク質合成に重要であることが明らかとなり、活性酸素種を活用することで骨格筋肥大を増強できる可能性が考えられた。しかしながら、運動時に意図的に活性酸素種を増加させた研究はこれまでになく、薬理的な活性酸素種の増加が骨格筋肥大を増強するのか不明である。

2. 研究の目的

本研究では、活性酸素種の薬理的な増加がレジスタンストレーニングによる骨格筋肥大を増強するか明らかにすることを目的に、以下の課題について検討した。

(1) 活性酸素種の局所的投与が安静時の筋タンパク質合成関連シグナル伝達経路を活性化するか。

(2) 活性酸素種の局所的投与がレジスタンス運動後の筋タンパク質合成関連シグナル伝達経路活性化を亢進するか、また、関連する上流シグナル因子に影響を及ぼすか。

3. 研究の方法

(1) 実験 1

11週令のオス Sprague-Dawley 系ラットを活性酸素種投与群と偽薬投与群に分類した。麻酔下の活性酸素種投与群のラットに対し、右後肢足底筋に活性酸素種の一つである過酸化水素 (H_2O_2) を筋内注射にて投与した。一方、偽薬を投与する群には、リン酸塩緩衝生理食塩水 (PBS) を筋内注射により投与した。それぞれ投与 1 時間後に骨格筋を採取し、mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1; タンパク質合成に関与し、その活性化が骨格筋肥大に重要な

役割を持つことが知られている分子複合体)の活性化指標であるリン酸化 p70S6K およびリン酸化 rpS6 の発現量をウエスタンブロットング法にて解析した。

(2) 実験 2

11週令のオス Sprague-Dawley 系ラットを活性酸素種投与群と偽薬投与群に分類した。それぞれ、麻酔下にて右後肢足底筋に対して電気刺激を与え、等尺性筋収縮を惹起 (1 セット 10 回の収縮を計 5 セット) することで、レジスタンス運動を行った。レジスタンス運動直後に H_2O_2 あるいは PBS を実験 1 と同様に筋内注射にて投与した。投与 1、3 時間後に骨格筋を摘出し、mTORC1 活性化の指標や活性酸素種の影響を受けるシグナル因子について、ウエスタンブロットング法を用いて検討した。

4. 研究成果

(1) 実験 1

活性酸素種の一つである H_2O_2 を投与した群では、PBS を投与した群と比較して有意に高いリン酸化 p70S6K 発現量を示した (図 1)。また、p70S6K の下流に位置する rpS6 のリン酸化量も H_2O_2 投与群において PBS 投与群と比較して有意に高値を示した (図 1)。これらの結果は、活性酸素種の投与が、安静時における骨格筋内 mTORC1 を活性化させる可能性を示すものであった。

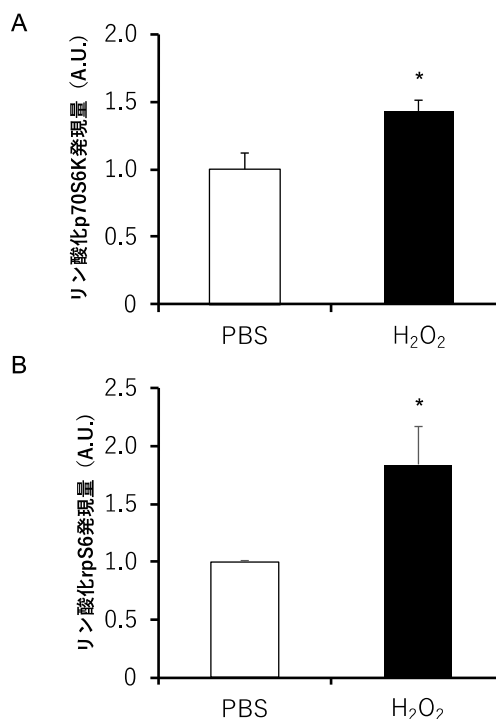


図 1. 筋タンパク質合成関連シグナル伝達応答に及ぼす活性酸素種の効果。A: リン酸化 p70S6K 発現量 B: リン酸化 rpS6 発現量。PBS: 偽薬投与群、 H_2O_2 : 活性酸素種投与群、* $P < 0.05$ vs. PBS

(2) 実験2

両群において、mTORC1 活性化の指標となるリン酸化 p70S6K およびリン酸化 rpS6 タンパクの発現量が、レジスタンス運動 1、3 時間後に安静時に比較して有意に増加した。しかしながら、活性酸素種投与群と偽薬投与群の間に有意な差は確認されなかった (図2)。

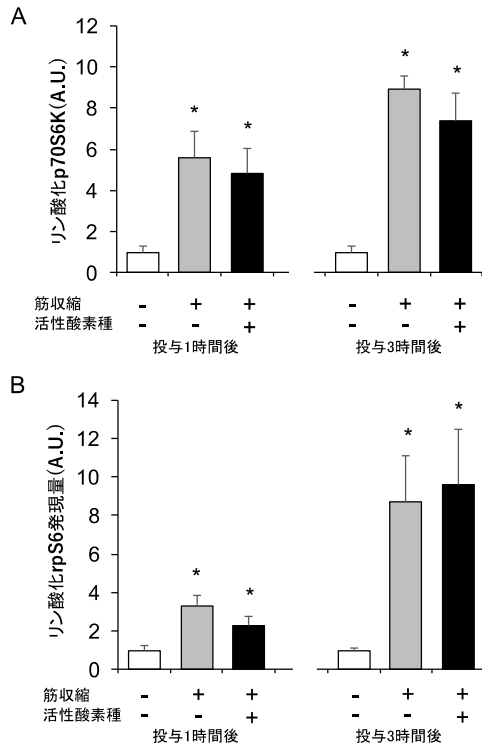


図2. 筋収縮後の筋タンパク質合成関連シグナル伝達応答に及ぼす活性酸素種の効果. A: リン酸化 p70S6K 発現量, B: リン酸化 rpS6 発現量.

* $P < 0.05$ vs. 筋収縮・活性酸素種なし

また、mTORC1 の上流因子であるリン酸化 Akt や活性酸素種による影響を受けるシグナル因子である ERK、P38MAPK、Mnk1 のリン酸化についても、活性酸素種投与の影響は確認されなかった (図3)。

これらの結果から、活性酸素種投与はレジスタンス運動による mTORC1 活性を亢進せず、またその上流因子や関連因子の活性化についても亢進しないことが示唆された。

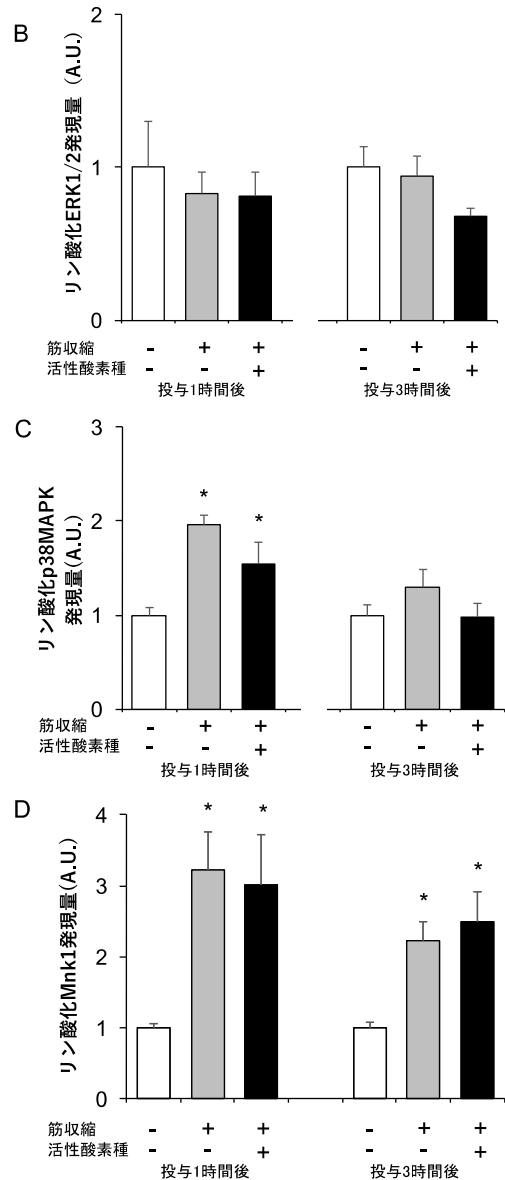
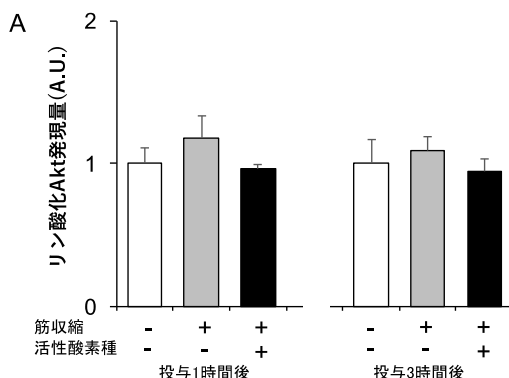


図3. 筋収縮後の関連シグナル伝達応答に及ぼす活性酸素種の効果. A: リン酸化 Akt 発現量, B: リン酸化 ERK1/2 発現量, C: リン酸化 p38MAPK 発現量, D: リン酸化 Mnk1 発現量.

* $P < 0.05$ vs. 筋収縮・活性酸素種なし

以上、本研究により、活性酸素種の局所的投与は、安静時における筋タンパク質合成シグナル因子を活性化させることが示唆された。しかしながら、レジスタンス運動による筋タンパク質合成シグナル因子活性化をさらに亢進することはできない可能性が示された。

今後は、本研究で用いた H_2O_2 以外の活性酸素種の効果について検討していく必要がある。また、本研究で安静時の骨格筋における mTORC1 活性化を引き起こすことが観察された H_2O_2 の長期的な投与のみで骨格筋肥大を惹起できるか検討することで、運動が不可能な人に対する新たな骨格筋量維持法の開発につながる可能性がある。

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)

〔学会発表〕(計4件)

1. Y. Makanae, Y. Takamura, S. Ato, K. Kido, T. Miyake, S. Fujita. Hydrogen peroxide does not potentiate exercise-induced mTORC1 in rat skeletal muscle. American College of Sports Medicine 63th Annual meeting, June 4, 2016 Boston (USA)
2. Y. Makanae, R. Ogasawara, K. Sato, K. Matsutani, N. Shiozawa, K. Nakazato, S. Fujita. Resistance exercise-induced reactive oxygen species in rat skeletal muscle activates mTORC1 via Erk1/2 signaling. American College of Sports Medicine 62nd Annual Meeting, May 30, 2015 San Diego (USA)
3. Y. Makanae, R. Ogasawara, K. Matsutani, N. Shiozawa, K. Nakazato, S. Fujita. The vitamin D receptor and CYP27B1 increase after resistance exercise but not after endurance exercise. ACSM Conference on Integrative Physiology of Exercise, September 20, 2014, Miami (USA)
4. Y. Makanae, R. Ogasawara, K. Sato, K. Matsutani, N. Shiozawa, K. Nakazato, S. Fujita. “Antioxidant inhibits phosphorylation of p70s6k after resistance exercise in rats. American College of Sports Medicine 61st Annual Meeting, May 30, 2014 Orlando (USA)

6. 研究組織

(1)研究代表者

蒔苗 裕平 (Makanae, Yuhei)
防衛大学校・総合教育学群・助教
研究者番号：00706632

(2)連携研究者

藤田 聡 (Fujita, Satoshi)
立命館大学・スポーツ健康科学部・教授
研究者番号：80451863

中里 浩一 (Nakazato, Koichi)
日本体育大学・保健医療学部・教授
研究者番号：00307993

佐藤 幸治 (Sato, Koji)
神戸大学・人間発達環境学研究科・准教授
研究者番号：20584022

小笠原 理紀 (Ogasawara, Riki)
名古屋工業大学・工学系研究科・准教授