

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K13200

研究課題名(和文) 13C-グルコースを用いた小動物による運動時糖代謝調節機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of glucoregulatory mechanism during exercise in rodent using the 13C-glucose

研究代表者

上田 真也 (Ueda, Shin-ya)

岐阜大学・教育学部・准教授

研究者番号：40616926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では麻酔下ラットを対象に、13C-グルコースを用いて、運動時の糖代謝動態を評価する方法論の開発に取り組んだ。麻酔下ラットを用いて、両坐骨神経遠心路への通電刺激を行い、下肢骨格筋の収縮を誘発することで運動を模擬した。運動開始5分後に13C-グルコース液を頸動脈より投与し、13C-グルコースの代謝動態を観察した。その結果、低強度および高強度運動ともに、13C-グルコース液投与後、速やかに13C-グルコースの代謝が亢進し、13C-グルコースの代謝量は高強度運動が低強度運動に比べて、有意に高値を示した。すなわち、13C-グルコースを用いて、麻酔下小動物の運動時糖代謝動態を評価することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本モデルはnormalラットを対象としたが、対象をアスリートモデルラットにすることで、代謝機能の観点から競技力向上に資する最適なパフォーマンス評価やトレーニング方法の開発が期待できる。また、対象を糖尿病や肥満症といった疾病モデルラットに置き換えることで、新規運動療法の開発につながる可能性があり、臨床的意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop an anaesthetized-rat model for studying glucoregulatory mechanism during exercise using the 13C-glucose. In 7 anaesthetized rats, we induced muscle contraction by stimulating bilateral distal sciatic nerves at low and high voltage to mimic exercise. The rats were administered using a carotid artery injection of the 13C-glucose. We recorded breath-by-breath respiratory gas analysis data and cardiorespiratory responses. Stimulating bilateral distal sciatic nerves at low and high voltage to mimic exercise caused significant increases in 13C-glucose metabolism. In addition, 13C-glucose metabolism was significantly higher during the high-intensity exercise than low-intensity exercise. In conclusion, we developed an anaesthetized-rat model for studying glucoregulatory mechanism during exercise using the 13C-glucose. This novel experimental model will be useful for understanding the glucoregulatory mechanism during exercise in athlete models.

研究分野：運動生理学

キーワード：糖代謝 運動 13C-グルコース

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多くの競技スポーツは、繰り返し高度なパフォーマンスを長時間発揮し続ける能力が要求される。特に、サッカーなどのインターバル的運動要素が多く含まれる球技スポーツでは、ゲーム中の激運動の繰り返しによる瞬時代謝量は、数秒で安静時の5~10倍程度に至るまで劇的に変化する。このときのアスリートの体内では、各組織に必要な酸素を時間遅れなく供給できるように極めて迅速な呼吸循環制御機構が発動していると同時に、糖質や脂質が効率良く燃焼し、エネルギー変換していると考えられる。従って、アスリートの激運動開始時における呼吸・循環機能の動特性を定量的に評価する際、体内の糖脂質代謝動態についても同時にモニタリングすることができれば、アスリートの運動時作業効率を決定する上で、代謝調節機序の理解が深まる。種目特性の異なるアスリートが如何なる代謝システムを有しているのかが明確になれば、競技特性に応じたトレーニング方法の立案や最適な栄養学的アプローチも可能となる。

従来、糖脂質の代謝動態の指標として呼吸交換比が用いられてきたが、呼吸交換比は肺から排泄されたCO₂と吸収されたO₂の比であるため、換気量等の影響を大きく受ける。また、エネルギー基質そのものの代謝動態を直接反映していないため、糖質と脂質の代謝動態を分離して解析することができない。一方、¹³C安定同位体比分析は¹³Cを標識したグルコースやパルミチン酸を経口投与し、呼気より排出されるCO₂から経口投与した基質の酸化量を求める評価法である。本研究では¹³C安定同位体比分析システムを導入し、糖質の代謝動態を定量的に評価する。

研究代表者は平成26年度~平成28年度の3年間、ヒトを対象に、¹³C安定同位体比分析を用いた糖質代謝動態の定量評価法を構築し、激運動時の糖質代謝動態の定量解析に成功した(若手研究(B)26750316)。安静時における経口グルコースの代謝量は、アスリートが健常人よりも優れていること(第70回日本体力医学会大会発表済)や4週間の脱トレーニングによって減少すること(第71回日本体力医学会大会発表済)を明らかとした(図1)。また、激運動開始時、サッカー選手は他競技選手に比べて、酸素摂取量は同等にも関わらず、経口投与したグルコースの代謝を抑制していることを明らかにした(未発表データ)(図2)。

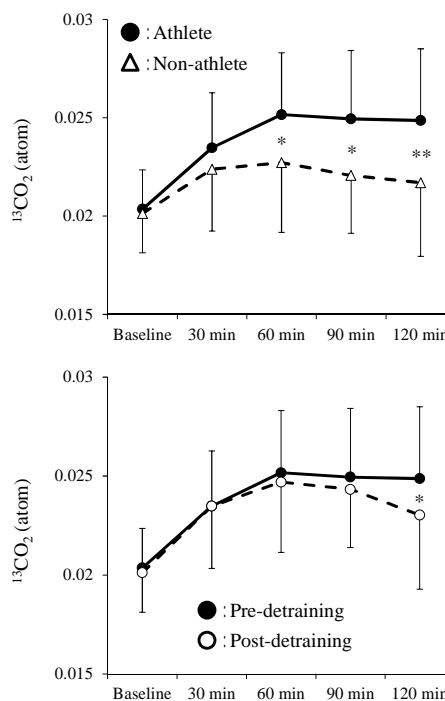


図1. 安静時糖代謝動態の定量評価法の構築

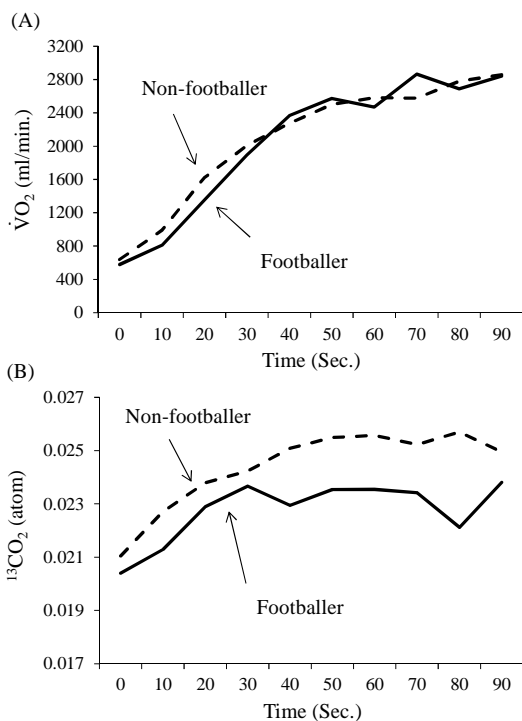


図2. 激運動時における酸素摂取量(A)および経口グルコース燃焼量(B)の動態

前述のような研究成果を得た一方、データを解釈する上で以下の点が不明瞭であった。
不明点 : 経口投与した¹³C-グルコースが小腸から吸収され、代謝されるまでの速度が不明(図1)

不明点 : 経口投与した¹³C-グルコースがどの器官に取り込まれ、代謝されているのかが不明(図1)

不明点 : サッカー選手の激運動時における経口グルコース代謝の抑制に関する機序が不明(図2)

図1の通り、経口投与した¹³C-グルコースの安静時代謝量は、アスリートが健常人よりも優れていることや4週間の脱トレーニングによって減少することを示した。投与した¹³C-グルコースは微量(100 mg)であり、血清インスリン値や血糖値は変化していない。測定は安静状態で行っているため、主な代謝器官はインスリンの有無に関わらずグルコース取り込みが可能な肝臓であることが示唆されるが、明確なデータは示されていない。また、図2の通り、激運動開始時、サッカー選手は他競技選手に比べて、経口投与した¹³C-グルコースの代謝を抑制していた。しかし、

酸素摂取量は同等であることから、サッカー選手のように、日常、インターバル運動を繰り返しているアスリートは、経口投与したグルコース以外の基質でエネルギーを代償していると示唆されるが、明確な機序は不明である。上記、不明点および仮説を検証することで、ヒトで示した ^{13}C -グルコース代謝がどの器官における代謝を反映しているのかが明らかとなるが、ヒトを対象とする実験系では限界があり、侵襲的にアプローチできる小動物実験システムの立ち上げが不可欠と判断し、本研究テーマを申請するに至った。

2. 研究の目的

本研究では麻酔下小動物（ラット）を対象に、 ^{13}C 安定同位体比分析を用いて、運動時糖代謝動態における定量評価法の開発を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

12 週齢～16 週齢のオス SD ラットを対象に、 α クロラロス及びウレタンを腹腔内投与し、麻酔自発呼吸下で実験を行った。実験システムの概略図は図 3 の通りである。気管内チューブの先端に、宮本氏が小動物用に開発した低抵抗、少死腔量の一方向弁を取り付けた。呼気ガス濃度は質量分析計(ARCO-2000, ARCO 社, 千葉)を用いて連続測定し、breath-by-breath 法にて、換気・代謝諸量の測定を行った。グルコースの代謝動態の測定には、 ^{13}C 安定同位体比分析システムを導入し、 ^{13}C を標識したグルコースの ^{13}C 安定同位体比を質量分析計(ARCO-2000, ARCO 社, 千葉)を用いて測定した。運動は両坐骨神経遠心路への通電刺激を行い、下肢骨格筋の収縮を誘発することで模擬した。低強度(0.1-0.3V, 5Hz)および高強度(3.0V, 5Hz)運動はそれぞれ 15 分間行い、運動開始 5 分後に ^{13}C -グルコース液 1.5cc(^{13}C -グルコース 50mg 含有)を頸動脈より投与し、 ^{13}C -グルコースの代謝動態を質量分析装置を介して観察した。

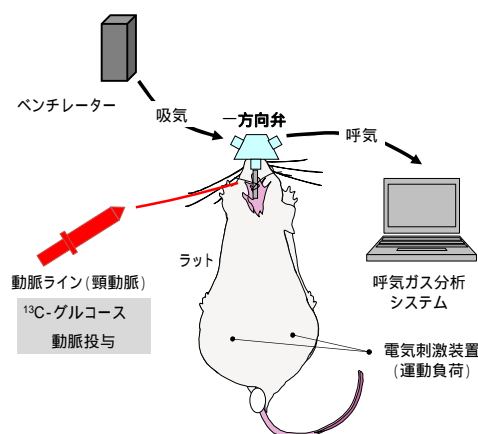


図3. 実験システム

4. 研究成果

表 1. 運動時における心拍数および血圧

	安静	低強度	高強度	有意差
心拍数	339.9 ± 46.2	362.7 ± 42.4	421.3 ± 38.5	*, #, †
平均血圧	82.7 ± 12.8	85.0 ± 10.5	111.3 ± 16.0	*, #

* $P < 0.01$: 高強度 vs. 低強度 # $P < 0.01$: 安静 vs. 高強度 † $P < 0.01$: 安静 vs. 低強度

運動時における心拍数および血圧を表 1 に示した。心拍数および平均血圧は、運動によって増加し、高強度運動は低強度運動に比べて、有意($P < 0.01$)に高値であった。低強度および高強度運動ともに、 ^{13}C -グルコース液投与後、速やかに ^{13}C -グルコースの代謝が亢進した(図 4)。また、 ^{13}C -グルコースの代謝量は高強度運動が低強度運動に比べて、有意に高値を示した(図 4)。さらに、 ^{13}C -グルコースの代謝速度は高強度運動が低強度運動に比べて、有意に高値を示した(図 5)。

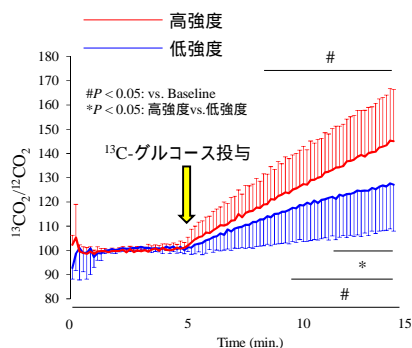


図4. ^{13}C グルコースの運動時代謝動態

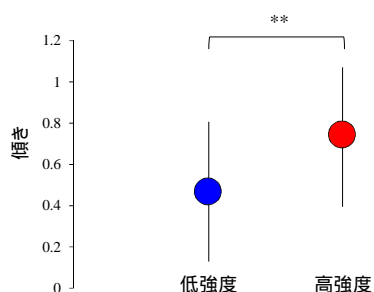


図5. ^{13}C グルコースの運動時代謝動態の傾き

^{13}C -グルコースを用いて、麻酔下小動物の運動時における糖代謝動態を評価することに成功した。今後、対象をアスリートモデルラットにすることで、代謝機能の観点から競技力向上に資する最適なパフォーマンス評価やトレーニング方法の開発が期待できると考えられる。

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 Miyamoto T, Manabe K, Ueda S, Nakahara H.	4. 巻 103
2. 論文標題 Development of an anaesthetized-rat model of exercise hyperpnoea: an integrative model of respiratory control using an equilibrium diagram	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Exp Physiol	6. 最初と最後の頁 748-760
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1113/EP086850.	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 Ueda S, Nakahara H, Kawai E, Usui T, Tsuji S, Miyamoto T.	4. 巻 7
2. 論文標題 Effects of walking in water on gut hormone concentrations and appetite: comparison with walking on land	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endocr Connect	6. 最初と最後の頁 97-106
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1530/EC-17-0323.	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3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上田真也, 中原英博, 宮本忠吉
2. 発表標題 麻酔下小動物における13C-グルコースを用いた運動時糖代謝評価モデルの開発
3. 学会等名 第26回日本運動生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田真也, 中原英博, 宮本忠吉
2. 発表標題 13C-グルコースを用いた麻酔下小動物の運動時糖代謝評価モデルの開発
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田真也, 中原英博, 宮本忠吉
2. 発表標題 4週間の脱トレーニングが安静時糖代謝能に及ぼす影響～13C-グルコースを用いた検討～
3. 学会等名 第25回日本運動生理学会大会
4. 発表年 2017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
--	---------------------------	-----------------------	----