

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03999

研究課題名(和文) 加齢に伴うレジスタンス運動抵抗性メカニズムの解明と克服

研究課題名(英文) Mechanisms of age-related anabolic resistance to exercise

研究代表者

小笠原 理紀(Ogasawara, Riki)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10634602

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,700,000円

研究成果の概要(和文)：加齢に伴い筋収縮/レジスタンス運動に対する筋タンパク質合成応答が低下する(レジスタンス運動抵抗性)。本研究では、加齢による萎縮の著しい速筋において、解糖系酵素の発現や活性が一様に低下していることに注目し、レジスタンス運動による筋タンパク質合成促進における糖代謝の役割について検討した。その結果、レジスタンス運動抵抗性がインスリン抵抗性と無関係に生じる一方で、解糖系代謝がmTORシグナルと筋タンパク質合成を正に制御し、筋収縮によるmTORシグナルの活性化に一部関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋は、日常生活動作などの運動器としての役割のみならず代謝臓器としても重要な役割を果たすことから、その量・機能の低下は我々の健康に深刻な影響を及ぼす。骨格筋量・機能は疾患の有無に関わらず加齢により低下するため(サルコペニア)、そのメカニズムの解明と予防・改善方法の開発が超高齢社会における健康寿命延伸に向けて喫緊の課題となっている。本研究の成果はサルコペニアの一要因と考えられるレジスタンス運動抵抗性メカニズムの一端を解明したものであり、今後本研究の知見に基づきレジスタンス運動抵抗性の改善を目指すことでサルコペニアの改善に貢献する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Muscle protein synthesis response to muscle contraction/resistance exercise decreases with aging (anabolic resistance to resistance exercise). In this study, we investigated the role of glucose metabolism in the regulation of resistance exercise-induced muscle protein synthesis, focusing on the fact that the expression and activity of glycolytic enzymes are uniformly decreased in fast-twitch muscle, which shows marked age-related atrophy. Our results suggest that while anabolic resistance to resistance exercise occurs independently of insulin resistance, glycolytic metabolism positively regulates mTOR signaling and muscle protein synthesis and is partially responsible for activation of mTOR signaling by muscle contraction.

研究分野：運動生理学

キーワード：サルコペニア 解糖系 インスリン抵抗性 mTOR

1. 研究開始当初の背景

骨格筋は、日常生活動作などの運動器としての役割のみならず代謝臓器としても重要な役割を果たすことから、その量・機能の低下は我々の健康に深刻な影響を及ぼす。骨格筋量・機能は疾患の有無に関わらず加齢により低下するため(サルコペニア)、そのメカニズムの解明と予防・改善方法の開発が超高齢社会における健康寿命延伸に向けて喫緊の課題となっている。

骨格筋量は、基本的に筋タンパク質合成と分解のバランスによって調節されている。したがって、サルコペニアに関する研究は、一般的な骨格筋量調節の原則に則り、筋タンパク質の合成・分解の速度調節に注目した研究が多く行われてきている。しかし、健康な高齢者では安静空腹時の合成・分解速度に加齢による影響は見られないと多くの研究が報告しており (Fry et al. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2013, Markofski et al. *Exp Gerontol* 2015)、安静時のタンパク質代謝の比率からだけではサルコペニアを説明できていない。一方、筋タンパク質合成は栄養摂取や筋収縮によって刺激されるが、高齢者ではこれら同化刺激に対する合成応答が低下していること(同化抵抗性)が知られている。つまり、同化抵抗性を一要因としてサルコペニアが生じていると考えられることに加え、その改善策として推奨されるレジスタンス運動の効果も若齢者ほど期待できない(レジスタンス運動抵抗性)。したがって、RE 抵抗性の予防・改善はサルコペニアの予防・改善において重要な役割を果たすと考えられる。

レジスタンス運動抵抗性メカニズムは不明な点が多いが、レジスタンス運動による同化反応が大きく、加齢による萎縮の著しい速筋において、解糖系酵素の発現や活性が一樣に低下していることが明らかになっている (Stump et al. *J Appl Physiol* 1997, Murgia et al. *Cell Rep* 2017)。解糖系はレジスタンス運動時の急速な ATP (エネルギー) 需要に呼応して大きく亢進する。この代謝環境の変化を代謝ストレスと呼び、詳細なメカニズムは不明だが多くの現象的証拠からレジスタンス運動による筋タンパク質合成増加の一要因と考えられている (Conzalez et al. *Sports Med* 2016)。これまでに汎用細胞株では解糖系がタンパク質合成を正に制御するタンパク質キナーゼ mTOR の活性を ATP を介して調節していることが解糖系律速酵素ヘキソキナーゼ (HK) の阻害により明らかになっている (Kalender et al. *Cell Metab* 2010, Zoncu et al. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012)。したがって、レジスタンス運動による解糖系の亢進が mTOR 活性化と筋タンパク質合成亢進に関与し、さらに加齢に伴う解糖能力の低下がレジスタンス運動抵抗性に関与している可能性がある。しかし、レジスタンス運動による mTOR 活性化と筋タンパク質合成増加に及ぼす解糖系の役割は不明であり、その加齢変化と RE 抵抗性への関与も不明な点が多かった。

2. 研究の目的

レジスタンス運動による mTOR 活性化と筋タンパク質合成増加に及ぼす解糖系の役割を解明するために、特に解糖系酵素 HK に注目して研究を進めた。また、糖の利用に影響を及ぼすインスリン抵抗性とレジスタンス運動抵抗性の関係性について研究を進めた。

3. 研究の方法

(1) **小動物レジスタンス運動モデル**: 雄性の Sprague Dawley (SD) ラットもしくは C57BL/6J マウスの腓腹筋を対象とし、イソフルラン吸入麻酔下で表面電極を用いて経皮的に電気刺激を行い、筋収縮を誘発した。電気刺激の周波数は 100 Hz とし、電圧は最大トルクが発揮されるように毎回設定した。右脚に電気刺激を行い、左脚をコントロールとした。3 秒間収縮を 7 秒間の収縮間休息を挟んで 10 回を 1 セットとし、3 分間のセット間休息を挟んで 5 セット行った (Ogasawara et al. *Sci Rep* 2016)。

(2) **解糖系阻害**: 解糖系律速酵素の一つである HK の阻害剤 2-deoxyglucose (2-DG, 500 mg/kg) を筋収縮開始の 1 時間前に腹腔内に投与した。

(3) **HK の過剰発現**: HK1 もしくは HK2 の発現アデノ随伴ウイルス (AAV) 6 ベクターを片脚の腓腹筋に筋注し (1×10^{11} vg/kg)、反対脚の腓腹筋にコントロール AAV6 ベクターを筋注した。

(4) **インスリン抵抗性の誘発**: 4 週間の高脂肪食 (45 kcal%脂肪, Research Diets 社, D12451) により誘発した。

(5) **Akt の阻害**: インスリンによる細胞内シグナル伝達において中心的な役割を果たす酵素タンパク質 Akt について、MK2206 (100 mg/kg) を腹腔内に投与することで阻害した。

(6) **筋タンパク質合成指標の測定**: Puromycin の新規ペプチドへの結合を利用した SUnSET 法を用い、ウェスタンブロッティング (WB) による全筋でのタンパク質合成、および免疫染色による筋線維タイプ別の筋タンパク質合成変化を検討する。また、mTOR を中心とした筋タンパク質合成に関わるシグナル因子のリン酸化・総タンパク質量を WB にて解析する。

4. 研究成果

研究成果①：解糖系は mTOR シグナルと筋タンパク質合成を正に制御している。

若齢の雄性 SD ラットに対して 2-DG を投与することで安静時の筋グリコーゲン量と筋内乳酸濃度が減少した。また、筋収縮による筋グリコーゲン量の減少や筋内乳酸濃度の増加の程度も 2-DG 投与により小さくなった。この時、骨格筋における ATP 濃度やエネルギーセンサーである AMPK のリン酸化レベルに影響はなかった。また、最大発揮トルクや筋収縮時の総発揮トルク（力積）に 2-DG 投与の影響は見られなかった。

このように解糖系が抑制されていたと考えられる条件下において mTOR シグナルと筋タンパク質合成について検討したところ、安静時の mTOR シグナルと筋タンパク質合成が抑制されていた。一方、レジスタンス運動による mTOR シグナル活性化の一部は 2-DG によって抑制されていたが、筋タンパク質合成の増加は抑制されなかった。

研究成果②：解糖系律速酵素 HK の増加は筋量を増加させる。

若齢の雄性 C57BL/6J マウスに対して HK1, HK2 もしくは HK1+HK2 の発現 AAV6 ベクターを筋注射したところ、4 週間後にすべての条件においてコントロール AAV6 ベクター条件と比べて筋重量が増加した。

一方、mTOR シグナル活性や筋タンパク質合成に HK 過剰発現の影響は観察されなかった。したがって、HK は骨格筋量調節に関わるものの、HK 発現量の改善だけでは mTOR シグナルの活性化や筋タンパク質合成の亢進は生じないことが分かった。

研究成果③：レジスタンス運動抵抗性はインスリン抵抗性とは無関係に生じる。

4 週間の高脂肪食は、SD ラットにおいて安静時の mTOR シグナル活性と筋タンパク質合成に影響を及ぼすことなく、細胞内脂肪の蓄積とインスリン抵抗性を引き起こした。同様な変化は総摂取カロリーを通常食条件とそろえたペアフィード条件（高脂肪食だが食事制限）においても観察された。

レジスタンス運動による mTOR 活性化と筋タンパク質合成の亢進は、高脂肪食の影響を受けなかったが、筋線維タイプごとに筋タンパク質合成応答を見てみると、食事制限の有無にかかわらず高脂肪食を摂取した条件において、Type I 線維と Type IIa 線維においてレジスタンス運動抵抗性が観察された。この変化は細胞内脂肪の蓄積と一致した傾向であった。一方で、インスリン抵抗性はより速筋型の筋線維（Type IIx）で主に生じることがわかっている（Pataky et al. Sci Rep 2017）。

研究成果④：レジスタンス運動による mTORC1 活性化と筋タンパク質合成の亢進はインスリンシグナルとは独立して生じる

インスリンシグナルは Akt を介して mTOR を活性化し、タンパク質合成を亢進させることが知られている。本研究において Akt 阻害剤である MK2206 を用いてインスリンによる mTOR 活性化と筋タンパク質合成亢進における Akt の役割について検討したところ、MK2206 の投与によってインスリンによる mTOR 活性化と筋タンパク質合成の亢進が抑制された。一方、MK2206 の投与によってレジスタンス運動による Akt のリン酸化亢進は抑制されたが、mTOR シグナル活性化や筋タンパク質合成の亢進には影響が見られなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Suginohara Takeshi, Wakabayashi Koki, Ato Satoru, Ogasawara Riki	4. 巻 114
2. 論文標題 Effect of 2-deoxyglucose-mediated inhibition of glycolysis on the regulation of mTOR signaling and protein synthesis before and after high-intensity muscle contraction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Metabolism	6. 最初と最後の頁 154419 ~ 154419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.metabol.2020.154419	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 Ogasawara Riki, Knudsen Jonas R., Li Jingwen, Ato Satoru, Jensen Thomas E.	4. 巻 598
2. 論文標題 Rapamycin and mTORC2 inhibition synergistically reduce contraction stimulated muscle protein synthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 5453 ~ 5466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP280528	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 該当する
1. 著者名 Ato Satoru, Maruyama Yuki, Yoshizato Hideo, Ogasawara Riki	4. 巻 78
2. 論文標題 Habitual high-protein diet does not influence muscle protein synthesis in response to acute resistance exercise in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrition	6. 最初と最後の頁 110795 ~ 110795
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nut.2020.110795	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 Maruyama Y, Ikeda C, Wakabayashi K, Ato S, Ogasawara R	4. 巻 128
2. 論文標題 High-intensity Muscle Contraction-Mediated Increases in Akt1 and Akt2 Phosphorylation Do Not Contribute to mTORC1 Activation and Muscle Protein Synthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 830-837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00578.2019	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 Ato Satoru, Mori Takahiro, Fujita Yuki, Mishima Taiga, Ogasawara Riki	4. 巻 131
2. 論文標題 Short-term high-fat diet induces muscle fiber type-selective anabolic resistance to resistance exercise	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 442 ~ 453
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00889.2020	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 Mori Takahiro, Ato Satoru, Knudsen Jonas R., Henriquez-Olguin Carlos, Li Zhencheng, Wakabayashi Koki, Sugihara Takeshi, Higashida Kazuhiko, Tamura Yuki, Nakazato Koichi, Jensen Thomas E., Ogasawara Riki	4. 巻 321
2. 論文標題 c-Myc overexpression increases ribosome biogenesis and protein synthesis independent of mTORC1 activation in mouse skeletal muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E551 ~ E559
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpendo.00164.2021	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 -

1. 著者名 Ato Satoru, Fukada So-ichiro, Kokubo Hiroki, Ogasawara Riki	4. 巻 322
2. 論文標題 Implication of satellite cell behaviors in capillary growth via VEGF expression-independent mechanism in response to mechanical loading in HeyL-null mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 C275 ~ C282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpcell.00343.2021	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 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 伴 真梨子, 小笠原 理紀
2. 発表標題 レジスタンストレーニングによるmTORC1活性化が骨格筋のヘキサキナーゼに及ぼす影響
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤田 悠暉, 阿藤 聡, 小笠原 理紀
2. 発表標題 筋収縮により新規に合成されるタンパク質の組成にmTORC1が与える影響
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小笠原 理紀
2. 発表標題 骨格筋の運動適応におけるmTORC2/c-Myc経路の役割
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伴 真梨子, 小笠原 理紀
2. 発表標題 ラバマイシンがレジスタンス運動によるエネルギー代謝関連タンパク質の発現 調節に及ぼす影響
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 若林 宏樹, 杉野原 武史, 阿藤 聡, 小笠原 理紀
2. 発表標題 レジスタンス運動によるmTORシグナル経路活性化および筋タンパク質合成の 増加における解糖系代謝の役割
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田 千咲、丸山 湧己、阿藤 聡、小笠原 理紀
2. 発表標題 レジスタンス運動による筋タンパク質合成促進におけるAktの役割
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤田 悠暉、松波 京、阿藤 聡、小笠原 理紀
2. 発表標題 絶食に伴う筋タンパク質代謝の変化に加齢が及ぼす影響
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 峰広、阿藤 聡、小笠原 理紀
2. 発表標題 短期間の高脂肪食摂取がレジスタンス運動による筋タンパク質同化作用に及ぼす影響
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浅野賢吾, 森峰弘, 小笠原理紀
2. 発表標題 c-Mycの過剰発現がインスリン刺激時の筋タンパク質合成に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹中洋介, 梶村草太, 小笠原理紀
2. 発表標題 電気周波数の違いによる筋収縮強度の違いが筋原線維とミトコンドリアタンパク質合成に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小笠原 理紀
2. 発表標題 筋収縮によるリボソーム生合成促進機構とその骨格筋量調節における役割
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三島大雅, 阿藤聡, 森峰弘, 小笠原理紀
2. 発表標題 短期的な高脂肪食摂取は筋線維タイプ特異的なレジスタンス運動抵抗性を引き起こす
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田悠衣, 大矢知恵梨, 小笠原理紀
2. 発表標題 ラバマイシン慢性投与によるmTOR阻害が筋線維タイプ特異的なタンパク質代謝制御に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小笠原 理紀
2. 発表標題 レジスタンス運動によるmTOR活性化を介した筋タンパク質合成促進メカニズム
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 平山邦明	4. 発行年 2021年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 288
3. 書名 アスレティックパフォーマンス向上のための トレーニングとリカバリーの科学的基礎	

1. 著者名 森谷 敏夫	4. 発行年 2019年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス(NTS)	5. 総ページ数 342
3. 書名 筋肉研究最前線：代謝メカニズム、栄養、老化・疾病予防、科学的トレーニング法	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Researchmap https://researchmap.jp/4567713227
--

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 分 担 者	中里 浩一 (Nakazato Koichi) (00307993)	日本体育大学・保健医療学部・教授 (32672)	
研究 分 担 者	山本 正道 (Yamamoto Masamichi) (70423150)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・特任 部長 (84404)	

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