

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：33909

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11537

研究課題名(和文) 筋肉アルブミンのたんぱく質合成における役割

研究課題名(英文) Role of albumin in muscle protein synthesis

研究代表者

村上 太郎 (Murakami, Taro)

至学館大学・健康科学部・教授

研究者番号：10252305

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：レジスタンス運動時に筋肉に出現する筋肉アルブミンが、たんぱく質の合成に関与しているか否かを明らかにすることを目的とした。アルブミン遺伝子を欠損したNagase Analbuminemia Rat (NAR) にレジスタンストレーニングを負荷したところ、筋肉の増大やたんぱく質合成が野生型のSDラットに比べて小さかった。筋肉アルブミンは毎回のレジスタンス運動によるたんぱく質合成に関与しており、筋肉アルブミンが少ないとたんぱく質合成が抑制され、その結果、トレーニングによる筋肉の増大が抑制される可能性が示された。筋肉アルブミンは筋肉細胞の中ではなく、間質でたんぱく質の合成に関与することが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血液中のアルブミンは栄養状態の指標であるが、レジスタンス運動時に筋肉に出現し、たんぱく質合成の増大や、その結果として筋肉の肥大に関与することが明らかになった。筋肉たんぱく質の合成を増大させるためには、良好な栄養状態でトレーニングをすることが大切であることを示している。将来、トレーニング以外の方法でも筋肉にアルブミンを送達する方法を見いだせば、トレーニングが困難な高齢者の虚弱化予防や入院患者の回復促進などへ応用することが期待される。

研究成果の概要(英文)：I found that albumin, which is one of the major component of plasma proteins, emerged in muscles after resistance exercise. The purpose of this study was to determine whether muscle albumin could be responsible for increase in muscle protein synthesis and hypertrophy induced by resistance exercise and training, respectively. The gastrocnemius muscle of analbuminemic rats (Nagase Analbuminemia Rat, NAR) was resistance trained with electrical stimulation-induced isometric contraction under anesthesia. The resistance training increased the gastrocnemius and tibias anterior(TA) muscle weight only in control rat (SD) but not in NAR. A single bout of resistance exercise increased TA muscle protein synthesis only in SD. These results suggest that the muscle albumin is responsible for increase in muscle protein synthesis and hypertrophy induced by resistance exercise and training, respectively.

研究分野：運動と栄養

キーワード：筋肉アルブミン レジスタンス運動 たんぱく質合成 NAR

## 1. 研究開始当初の背景

レジスタンス運動によって筋肉のたんぱく質合成が増大するときに、分子量 ~ 65,000 のたんぱく質が増大することに気づいた。質量分析解析したところ、アルブミンと同定された。血漿たんぱく質のアルブミンが運動後の筋肉に存在することに、率直に驚いた。筋肉アルブミンは、間質液や細胞内液を高張にしてその容積を増大させることにより、筋肉細胞が利用可能な栄養素の量を増大させる可能性が考えられる。アルブミンがステロイドホルモンや脂溶性栄養素の輸送体であることや、分解されればアミノ酸の供給源となることなども考え合わせると、たんぱく質の合成に関与している可能性が示唆される。本研究では、遺伝子欠損により無アルブミン血症を呈する無アルブミンラット(Nagase Analbuminemia Rat, NAR)を用いて、レジスタンス運動による筋肉のたんぱく質合成の増大や肥大に筋肉アルブミンが必要か否かを明らかにする。

## 2. 研究の目的

実験 1. NAR にレジスタンストレーニングを负荷した場合、筋肉の肥大が抑制されるか否かを明らかにする。

実験 2. NAR に 1 回のレジスタンス運動を负荷した場合、たんぱく質合成の増大が抑制されるか否かを明らかにする。

実験 3. 筋肉アルブミンの同存在を明らかにする。

## 3. 研究の方法

実験 1. NAR と SD 系(コントロールラット)の雄ラットを用いた。イソフルラン麻酔下のラットの右脚に等尺性のレジスタンス運動を负荷した(Ogasawara et al. J Appl Physiol, 114: 934-940, 2014)。左脚をコントロール脚とした。2 日に 1 回の頻度で計 10 回のレジスタンストレーニングを负荷した。最終運動の 48 時間後に下肢の筋肉を摘出し、重量を測定した。最終運動時には、両脚の筋力を測定した。

実験 2. NAR と SD 系の雄ラットに上記と同様の一過性(1 回)のレジスタンス運動を负荷し、たんぱく質合成が増大することが報告されている 3 時間後に腓腹筋と前脛骨筋を摘出した。両筋肉のたんぱく質合成率を SUnSET 法で定量した。

実験 3. ラットの下肢に上記の 1 回のレジスタンス運動を负荷した直後に腓腹筋を摘出し、パラホルムアルデヒドでの固定後、実体顕微鏡下(15 ~ 40 倍)で 2 本の鑷子を用いて筋線維を単離した。筋束を構成する膜様の構造物と筋線維の周辺に結合している粘着性の構造物も筋線維外成分として採集した。約 5 mm の筋線維 10 本とそれと同程度の容積の筋束および筋線維外成分を用いてウエスタンブロットでアルブミンを検出した。

## 4. 研究成果

実験 1. レジスタンスとトレーニング後の筋肉の重量を表 1 に示した。

Table 1. Resistance training increases the weight of flexor muscles in lower leg of Sprague Dawley and Nagase Analbuminemia Rats.

Muscle	Muscle weight (mg)				ANOVA		
	SD		NAR		Training	Strain	T X S
	Control leg	Trained leg	Control leg	Trained leg			
Soleus	140 ± 8	140 ± 6	125 ± 7	113 ± 4	0.1085	<b>0.0011</b>	0.0897
Gastrocnemius	1874 ± 77	1962 ± 56	1812 ± 56	1839 ± 74	<b>0.0393</b>	0.0543	0.2098
Plantalis	363 ± 11	373 ± 17	318 ± 12	334 ± 12	<b>0.0144</b>	<b>0.0027</b>	0.4712
TA	636 ± 42	670 ± 39	564 ± 22	514 ± 75	0.6776	<b>0.0079</b>	0.0576
EDL	174 ± 14	179 ± 13	156 ± 6	145 ± 13	0.5613	<b>0.0099</b>	0.1147

Values are means ± SD for 4 rats. P values of 2 way repeated ANOVA is listed on the table. T X S: interaction between Training and Strain. P < 0.05 has main effect of training or strain, or interaction between training and strain.

2 元配置の分散分析の結果、腓腹筋と足底筋でトレーニングの主効果が見られた。足底筋では、系統の主効果も見られた。両筋肉においてトレーニングと系統の交互作用は見られなかった。その他に筋肉では、ヒラメ筋、前脛骨筋、および長趾伸筋で系統の主効果が見られたが、いずれの筋肉でもトレーニングと系統の交互作用は見られなかった。すなわち、レジスタンストレーニングによって腓腹筋と足底筋が増大した。腓腹筋で交互作用は見られなかったが、対応のある Student's t-test で検定すると、SD のトレーニング脚の重量は非トレーニング脚に比べて有意に高値を示したが、NAR では差が見られなかった。また、NAR の増大率は 1.5% で SD の 4.8% よりも小さかった。以上のことは、腓腹筋でトレーニングの主効果が見られたことに、NAR よりも SD の増大が貢献していることを示している。足底筋を対応のある Student's t-test で検定すると、NAR のトレーニング脚の重量は非トレーニング脚に比べて有意に高値を示したが、SD では差が見られなかった。NAR の増大率は 5.1% で SD の 2.8% よりも大きかった。以上のことは、足底筋でトレーニングの主効果が見られたことに、SD よりも NAR の増大が貢献していることを示している。本実験で用いたレジスタンストレーニングでは腓腹筋を表面電極で電気刺激

しており、主働筋は腓腹筋である。主働筋である腓腹筋の増大が NAR に比べて SD で大きかったことから、筋肉アルブミンはトレーニングによる筋肉の増大に関与していることが示唆された。図 1 にトレーニング後の強縮と単収縮による最大トルクを示した。強縮において、トレーニングの主効果が認められた。系統の主効果と、交互作用は見られなかった。SD の強縮による最大トルクの増大率は 57% で NAR の 39% に比べて小さかった。SD で最大トルクの増大が大きかったのは、腓腹筋の増大率が大きかったことに関係していることが示唆された。単収縮では、トレーニングと系統のいずれにおいても有意な主効果は見られなかった。また両者の交互作用も見られなかった。

実験 2. 1 回のレジスタンス運動後 3 時間の時点での腓腹筋と前脛骨筋のたんぱく質合成率を図 2 に示した。繰り返しのある 2 元配置の分散分析の結果、腓腹筋では、レジスタンス運動と系統のいずれにおいても主効果は見られなかった。また、レジスタンス運動と系統の交互作用も見られなかった。腓腹筋では 1 回のレジスタンス運動によって、運動 3 時間後ではたんぱく質合成は増大しないことが明らかになった。前脛骨筋では、レジスタンス運動と系統のいずれにおいても主効果は見られなかったが、交互作用が見られた。対応のある(系統内)および対応のない(系統間) Student's t-test で post-hoc 検定した結果、SD では運動脚は非運動脚に比べて有意に高値を示したのに対して、NAR では両脚間で差がなかった。1 回のレジスタンス運動によって、SD でたんぱく質合成が増大するのに対して、NAR では増大しないことが明らかになった。実験 1 でレジスタンストレーニングによって腓腹筋が増大するが、その増大は NAR に比べて SD で大きかった。1 回の運動の繰り返しの効果がトレーニング効果として現れると考えるならば、腓腹筋では運動終了 3 時間から次の運動までの間(今回の実験モデルでは 48 時間まで)でたんぱく質合成が増大している可能性が考えられる。実験 1 で前脛骨筋の重量は、いずれの系統においても変動しなかった。しかし、交互作用の p 値は 0.0576 で傾向が見られた。Student's t-test で詳細を検討すると、SD では運動脚は非運動脚に比べて有意に高値を示し、NAR では差がなかった。相殺の交互作用は見られなかったが、レジスタンス運動で前脛骨筋は SD のみで増大する可能性を示している。1 回のレジスタンス運動で SD のみでたんぱく質合成が増大したことが、トレーニングによって SD のみで前脛骨筋の増大が見られたことに貢献していることが示された。たんぱく質合成率を測定するタイミングについてさらなる検討が必要であるが、レジスタンストレーニングによって筋肉が増大する機序として毎回の運動によるたんぱく質合成の増大が関与していることが明らかになった。

実験 3. レジスタンス運動を负荷した腓腹筋の筋線維を用いて、筋肉アルブミンをウエスタンブロットで検出した結果を図 3 に示した。アルブミンは筋束と筋線維外成分で検出されたが、筋線維ではほとんど検出されなかった。一方、アクチンと G3PDH は、筋束と筋線維で検出されたが、筋線維外成分では検出されなかった。以上の結果から、単離した筋線維でアルブミンが検出されなかったことから、レジスタンス運動によって骨格筋で増大するアルブミンは筋線維ではなく間質に存在することが示唆された。

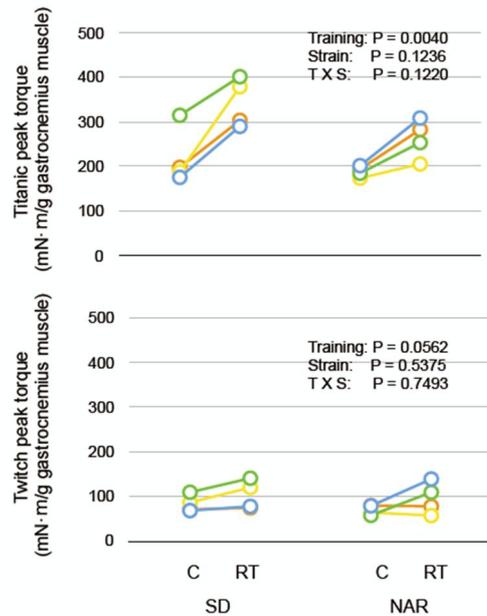


Fig. 1. レジスタンストレーニングによってSDとNARの両者で、強縮による筋力が増大した。単収縮による筋力は増大する傾向を示した (P = 0.0562)。C: control leg, RT: resistance trained leg, SD: Sprague Dawley rat, NAR: Nagase Analbminemia Rat.

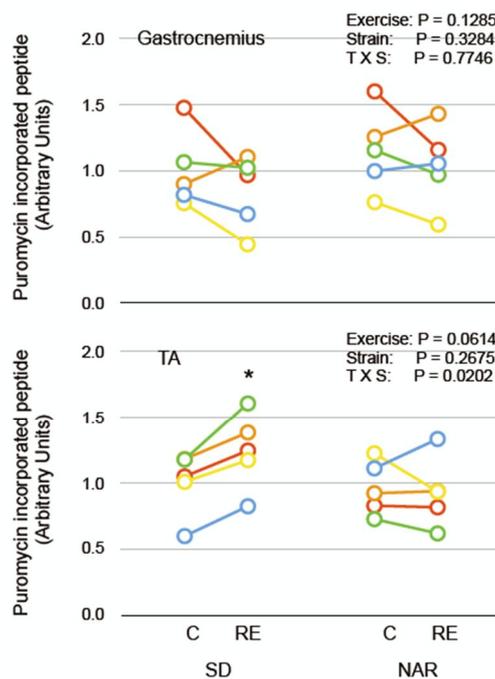


Fig. 2. 急性のレジスタンス運動によって前脛骨筋のたんぱく質合成はSDで増大したが、NARでは変動しなかった。腓腹筋のたんぱく質合成は、SDでもNARでも変動しなかった。TA: tibialis anterior muscle, C: control leg, RE: resistance exercised leg, SD: Sprague Dawley rat, NAR: Nagase Analbminemia Rat. \* P < 0.05 between control and resistance exercised legs.

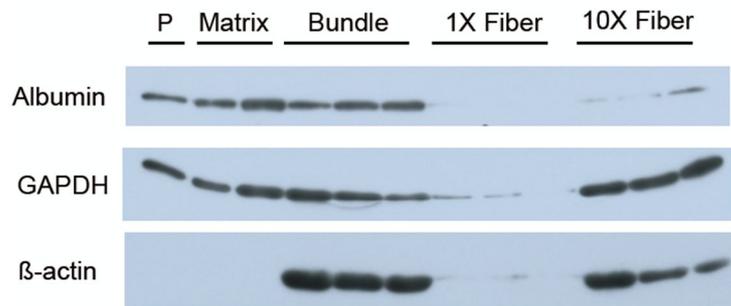


Fig. 3. レジスタンス運動を負荷した腓腹筋の筋線維を用いて、ウェスタンブロットでアルブミンを検出した。アルブミンは筋束と筋線維外成分で検出されたが、筋線維では検出されなかった。一方、 $\beta$ アクチンとGAPDHは、筋束と筋線維で検出されたが、筋線維外成分では検出されなかった。以上の結果から、単離した筋線維でアルブミンが検出されなかったことから、レジスタンス運動によって骨格筋で増大するアルブミンは筋線維ではなく間質に存在することが示唆された。P: positive control, Matrix: 筋線維外成分、Bundle: 筋束、1X Fiber: 1本の筋線維、10X Fiber: 10本の筋線維。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 村上太郎	4. 巻 15
2. 論文標題 運動と分岐鎖アミノ酸	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本食品安全協会誌	6. 最初と最後の頁 20-28
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 村上太郎	4. 巻 54
2. 論文標題 筋肉細胞におけるアミノ酸とレジスタンス運動の感受とmTORC1の活性化	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 至学館大学研究紀要	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 村上太郎	4. 巻 28
2. 論文標題 運動におけるエネルギー代謝の調節と栄養素	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Strength and Conditioning Journal	6. 最初と最後の頁 17-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上木あかね、村上太郎
2. 発表標題 筋肉の不動化はSestrin1 の発現を低下させmTORC1 を活性化する
3. 学会等名 第25回 日本体力医学会東海地方会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上太郎
2. 発表標題 運動とたんぱく質栄養のかかわり
3. 学会等名 第28回 スポーツ栄養学研究会（招待講演）
4. 発表年 2022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

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