

機関番号：32672

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20500584

研究課題名(和文) 伸張性収縮の収縮様式がタンパク質合成・分解シグナル分子群に与える影響
 研究課題名(英文) Effects of lengthening contractions on signaling molecules expressions in muscular protein synthesis and degradation

研究代表者

中里浩一 (NAKAZATO KOICHI)

日本体育大学・大学院体育科学研究科・教授

研究者番号：00307993

研究成果の概要(和文)：角速度の速い伸張性収縮(180 deg/sec：180ECs 群)トレーニングと遅い伸張性収縮(30 deg/sec：30ECs 群)トレーニングをラット腓腹筋に課し、以下の結果を得た。

1. 30ECs 群および 180ECs 群のトレーニング後はそれぞれタンパク質合成および分解が亢進した。2. 特に 180ECs 群における伸張性トレーニング後は AMPK の活性化および坐骨神経損傷を示唆する結果が得られた。伸張性収縮はその角速度に依存してタンパク質合成を促進する場合とタンパク質分解を促進する場合がある。

研究成果の概要(英文)：We performed eccentric contractions (ECs) with fast (180 deg/sec: 180ECs) and slow (30 deg/sec: SLOWECs) velocities on rat gastrocnemius and examined effects on protein synthesis and degradation. Obtained results are shown below. (1) 30ECs induced protein synthesis. On the other hand, 180ECs induced protein degradation. (2) Especially in 180ECs, we found evidences for both AMPK activation and sciatic nerve injury. Eccentric contractions induce either protein synthesis or degradation depending on angular velocity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：筋生理・生化学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：スポーツ生理学

1. 研究開始当初の背景

伸張性収縮は等尺性収縮、短縮性収縮と比較して発揮張力が大きく筋肥大を効果的に導くことが指摘されており、ヒト、動物モデルの両方においてその効果が確認されている。一方、伸張性収縮は軽度の場合

筋痛、重度の場合は肉離れといった筋損傷を引き起こすことも指摘されている。筋肥大、筋痛、肉離れ損傷はいずれも伸張性収縮により発生し、その強度や仕事量に応じてそのいずれかが誘発されると考えられるが、それぞれの事象(筋肥大、筋痛、肉離

れ損傷)と伸張性収縮の発揮トルクあるいは仕事量との関係は詳細に検討されているとはいえない。また、それぞれの事象の分子レベルでの関連性は必ずしも明らかではない。

我々はラット足関節を対象として、麻酔下にて腓腹筋を電気刺激すると同時に足関節を強制的に背屈させることが可能なラット足関節発揮トルク測定装置を開発した(Figure 1 (a)装置の全体像, (b)側面図)。

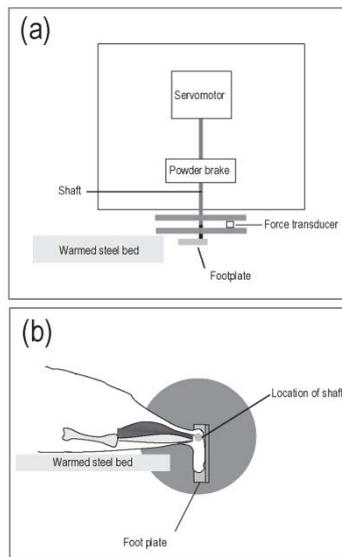


Fig 1. Diagram of the equipment.

我々はこのモデルを用いて足関節背屈角度 60deg, 角速度 30deg/sec, 5回4セットの伸張性収縮では発揮トルクの向上および筋肥大が誘導されるものの、同関節背屈角度および同回数であっても角速度が 180deg/sec では発揮トルクの一週間にわたる低下が観察されることを見出した(Nakazato and Ochi,未発表)。この結果は伸張性収縮後に発揮トルクが増加し筋肥大を誘導する収縮様式と伸張性収縮後に発揮トルクが低下するいわゆる肉離れ損傷様を呈する収縮様式とが存在することを示唆している。

2. 研究の目的

本研究では以下の3つを目的として研究を行った。

(1) 伸張性収縮の角速度の差が筋内タンパク質の合成・分解のシグナル分子発現・活性化に与える影響

(2) 特に角速度の速い伸張性収縮におけるタンパク質分解シグナルが亢進する作用機序の解析

3. 研究の方法

ウィスターラット腓腹筋を対象として伸張性収縮を導入した。その際、伸張性収縮時の角速度の設定を 30deg/sec(30ECCs)および 180deg/sec(180ECCs)とし、各条件で伸張性収縮を 5回4セット行った。伸張性収縮 2日後および7日後に筋および坐骨神経を摘出し、重量測定およびタンパク質合成および分解に関わる分子群の発現量を定量した。

4. 研究成果

(1) 伸張性収縮時の角速度がタンパク質分解・合成シグナルに与える影響

ラット腓腹筋に伸張性収縮を行わせた後、足関節発揮トルクの変化、タンパク質合成および分解シグナル分子群として Akt, mTOR, FOXO1, FOXO3 および myostatin の定量解析を行った。

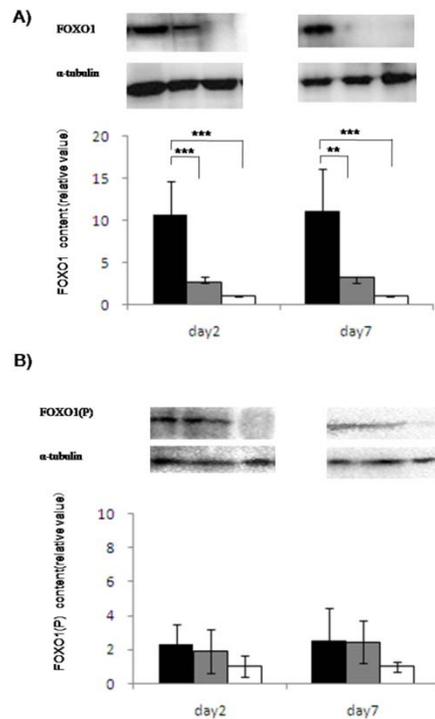


図2 腓腹筋内 FoxO1 タンパク質量 (A)非リン酸化、(B)リン酸化 FoxO1 タンパク質量を示す。180ECCs 群 (黒) の FoxO1 量

は有意に高値であった。

180ECCs 群の発揮トルクの平均値は 7 日間を通じて伸張性収縮前の値より低値であり、収縮後から 5 日目まで統計的に有意であった。一方 30ECCs 群は 7 日間を通じて伸張性収縮前とほぼ等しい値を示した。7 日目における 180ECCs 群の FOXO1, FOXO3, myostatin 量は CON 群に比較して有意に高値を示し、FOXO1, FOXO3a 量は安静群に比較して低値を示した(図 2)。

以上から伸張性収縮後に誘発される等尺性発揮トルクの低下が長期に及ぶ場合、タンパク質分解シグナルの活性化が誘発されることが示された。この結果は従来筋線維の破壊のみで記述されていた肉離れ損傷に関して、タンパク質分解シグナルの活性化という分子的なメカニズムを初めて記述できた大変重要な知見であると考えている。

(2) AMPK の活性化がタンパク質分解シグナルの亢進に関与する

特に 180ECCs 群においてタンパク質分解シグナルの亢進が起きるメカニズムを理解するために AMP kinase (AMPK) 発現および活性の解析を行った。

180ECCs 群に関して 2 日後および 7 日後においてリン酸化した AMPK 量の増加、AMPK 活性の指標であるリン酸化アセチル CoA カルボキシラーゼ (pACC) 量の増加を確認した(図 3)。さらに培養筋細胞 C2C12 において AMPK 活性化剤である AICAR 処理により FOXO1 および FOXO3a 発現が亢進し、同時に myostatin 発現が亢進することも確認された。

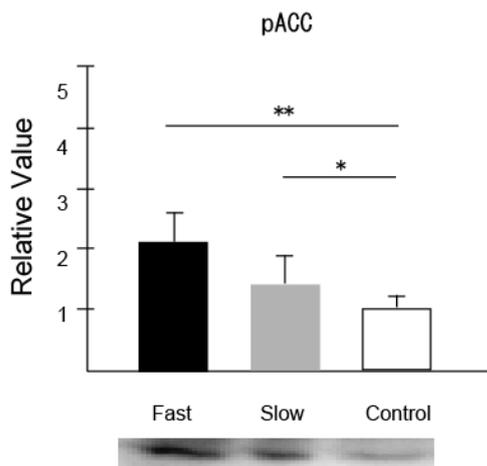


図 3 伸張性収縮後の筋内 pACC 量
180ECCs 群 (Fast) の pACC 量は有意に高値であった。

これらの結果から 180ECCs 群における伸張性収縮後のトルク低下およびタンパク質分

解の亢進は AMPK を起点とするシグナル伝達との関連性が高いと考えている。AMPK 活性に対しては抑制剤が存在するため、薬剤による AMPK 活性の抑制がその後のタンパク質分解シグナルに与える影響を検討することで肉離れ損傷の抑制につながるのではないかと考えている。

(3) 速い角速度による伸張性収縮は神経損傷を誘発する

筋線維は支配される神経の損傷により萎縮することが知られている。180ECCs におけるタンパク質分解シグナルの亢進のメカニズムをさらに検討するために 180ECCs 後の坐骨神経損傷の有無を検討した。

180ECCs および 30ECCs を行った 7 日後に坐骨神経を摘出し、神経細胞損傷のマーカーである GAP43, ミエリン鞘損傷のマーカーである P0, 神経栄養因子のレセプターである TrkC の量を解析した。その結果、180ECCs において P0 量が有意に低値であることおよび TrkC 量が有意に高値であることが確認された(図 4)。

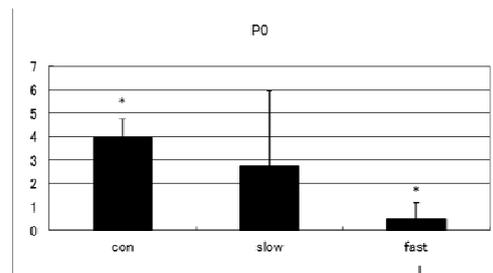


図 4 坐骨神経における P0 量
P0 はミエリン鞘を構成するタンパク質であるため、P0 が少ないほどミエリン鞘が損傷していることを示す。Con: 非運動群、slow: 30ECCs 群、fast: 180ECCs 群

以上の結果から 180ECCs により坐骨神経特にミエリン鞘を中心に損傷が起きている可能性が示唆された。

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 3 件)

Ochi E, Nakazato K, and Ishii N., Muscular hypertrophy and changes in cytokine production after eccentric training in the rat skeletal muscle. J Strength Cond Res. 査読有, 2011(in press)

Ochi E, Ishii N and Nakazato K., Time course

change of IGF1/Akt/mTOR/p70S6K pathway activation in rat gastrocnemius muscle during repeated bouts of eccentric exercise, J Sports Sci & Med.(査読有), 9, 170 - 175, 2010

Ochi E, Hirose T, Hiranuma K, Min SK, Ishii N, and Nakazato K, Elevation of myostatin and FOXOs in prolonged muscular impairment induced by eccentric contractions in rat medial gastrocnemius muscle, J Appl Physiol(査読有), 108, 306-313, 2010

〔学会発表〕(計2件)

越智 英輔 , 廣瀬 立朗 , 関 石基 , 中里 浩一 , 伸張性収縮時の関節角速度の差がその後の発揮トルクに与える影響, 第63回日本体力医学会大会, 2008年9月, 大分

越智英輔, 廣瀬立朗, 平沼憲治, 石井直方, 中里浩一, 伸張性収縮時の角速度の違いが骨格筋内 tenomodulin 発現に与える影響, 第65回日本体力医学会大会, 2010年9月, 千葉

〔図書〕(計1件)

中里浩一, 平沼憲治, 越智英輔, 分子レベルからみた整形外科疾患(シリーズVIII), 肉離れ損傷発生および進行の分子メカニズムに関する仮説, 整形・災害外科, 53(3), 212-213, 2010

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nittai.ac.jp/department/exphys/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中里 浩一(NAKAZATO KOICHI)
日本体育大学体育科学研究科・教授
研究者番号：00307993

(2) 研究分担者

越智 英輔(OCHI EISUKE)
明治学院大学教養教育センター・講師
研究者番号：90468778