

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20620

研究課題名（和文）運動によるインスリン抵抗性改善の分子基盤

研究課題名（英文）Molecular basis of exercise-induced improvement of insulin resistance

研究代表者

秋本 崇之（AKIMOTO, Takayuki）

早稲田大学・スポーツ科学学術院・教授

研究者番号：00323460

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、物理刺激依存性の骨格筋組織への糖取込みを可視化するハイスループットスクリーニング系を開発することで、運動によるインスリン抵抗性改善の分子メカニズムに迫るとともに、インスリン抵抗性に対する新たな治療戦略の創出を目指した。本研究の結果、三次元培養組織をによる96穴プレート上でのハイスループットスクリーニングが可能となった。また本研究で開発したpH依存性蛍光タンパク質との融合遺伝子を糖輸送体の細胞内挙動を観測するためのツールとして活用することが可能となった。これらのツールを用いて、筋収縮時の骨格筋組織での糖の動態を観察することが可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究による知見は、運動によるインスリン抵抗性改善の分子メカニズムを理解するための一助となると考えられる。また本研究で開発したスクリーニングシステムを使って今後、インスリン抵抗性に対する新しい化合物の探索が可能かもしれない。

研究成果の概要（英文）：We developed a high-throughput screening system to visualize mechanical stimulus-dependent glucose uptake into skeletal muscle tissues to investigate the molecular mechanism of exercise-induced improvement of insulin resistance and to create a new therapeutic strategy against insulin resistance.

As a result of this study, we established a high-throughput screening on 96-well plates using three-dimensional cultured skeletal muscle tissues. The Glut4 fusion protein with a pH-dependent fluorescent protein developed in this study can be used as a tool to observe the behavior of glucose. Using these tools, it is now possible to observe the dynamics of glucose in skeletal muscle tissue during muscle contraction.

研究分野：筋生物学

キーワード：骨格筋 メカニカルストレス 糖輸送体 グルコース

1. 研究開始当初の背景

末梢の組織への血糖の取り込みの不全を意味するインスリン抵抗性は、メタボリックシンドローム、糖尿病、高脂血症など世界的に顕著な増加傾向にある生活習慣病の病態基盤の1つと考えられている。現在、臨床ではインスリン抵抗性治療薬として、インスリン抵抗性改善薬やインスリン分泌促進薬が第一選択となっているが、いずれもすべての患者予後を根本的に改善するには至っていない。

一方、適度な身体運動がインスリン抵抗性を改善する事が古くからよく知られており、これが糖尿病等の代謝性疾患患者に対する運動療法の科学的エビデンスとなっている。運動はインスリン依存性、インスリン非依存性に血糖レベルを改善するとされている。運動によるインスリン感受性の亢進は運動直後から認められ、運動終了24~48時間程度まで継続することが知られているが、運動によるインスリン抵抗性改善のメカニズムはほとんど分かっていない。

申請者らはこれまでに、身体運動に起因する物理的刺激(メカニカルストレス)が骨格筋に与える影響について検討してきた。我々を含めたいくつかのグループの研究結果から、骨格筋の収縮は、通常のインスリンシグナル伝達経路と異なる経路でグルコースの取り込みを制御する可能性が示唆されている。運動によるインスリン抵抗性改善のメカニズムが解明できれば、糖尿病等のインスリン抵抗性を病態基盤とする疾病の治療において、これまでにない新しい治療戦略が生まれる可能性があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、様々な生物学的階層において、物理刺激に応じた骨格筋組織への糖取り込み動態を可視化することで、運動によるインスリン抵抗性改善の分子メカニズムに迫るとともに、インスリン抵抗性に対する新たな治療戦略の創出を目指す。

この目標を達成するために、以下の3つの異なる技術の融合を図る：

(1)組織工学/ティッシュエンジニアリング技術によって作製した三次元培養骨格筋組織

(2)骨格筋の糖代謝動態を生きた細胞でモニタリング可能な蛍光プローブ

(3)収縮中の細胞を組織内/動物個体内で観察できる *in vivo* イメージング技術

これらを組み合わせることで、物理刺激に応じた骨格筋組織への糖取り込み動態を可視化する研究プラットフォームを構築し、「運動によるインスリン抵抗性の改善」のメカニズムに迫る。また運動によるヘルスベネフィットを模倣する薬剤スクリーニングを試みる。

3. 研究の方法

上述の研究目的を果たすため下記2つの課題に取り組む：

課題1：糖の動態をモニタリングするための組換え遺伝子を導入した三次元培養筋組織を構築し、これに物理刺激を負荷する事で生じる糖取り込みの動態を観察する。

課題2：この実験系において、各種低分子化合物を添加し、物理刺激による糖取り込み亢進に影響を与える分子・シグナルを同定する。

課題3：組み換え遺伝子をマウス生体骨格筋で発現させ、そのマウスに神経電気刺激による筋収縮を惹起することで、「運動によるインスリン抵抗性改善」のメカニズムに迫る。

4. 研究成果

生細胞における糖代謝をモニタリングするため、糖輸送体 GLUT4 と pH 依存的な蛍光タンパク質の融合遺伝子を構築し、各種培養細胞での検証した。さらにこのグルコース取り込みセンサーの検出感度を向上させるため、様々な改良を施し、骨格筋へのグルコースの取り込みを一定程度観察できる実験系を構築した。

また 96 穴プレート上での三次元培養によって骨格筋組織を作製できる実験系を構築し、これをハイスループット化することで、ドラッグスクリーニングに応用することが可能となった。同時に、リキッドハンドラーを用いた骨格筋組織構築プロセスを用いることで、実験者の習熟度に関係なく、一定品質の筋組織を構築できるようになった。

マウス骨格筋にグルコースセンサーを発現させて、単収縮ならびに強縮の電気刺激による細胞内グルコース動態を観察した実験から、運動開始時では、糖輸送体の作用によって細胞内グルコースが増加し、運動が継続されると、筋グリコーゲンの減少に伴い、細胞外からの糖取込みによるグルコースがエネルギー基質として利用される可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tabuchi A, Tanaka Y, Takagi R, Shirakawa H, Shibaguchi T, Sugiura T, Poole DC, Kano Y.	4. 巻 322
2. 論文標題 Ryanodine receptors mediate high intracellular Ca ²⁺ and some myocyte damage following eccentric contractions in rat fast-twitch skeletal muscle.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.	6. 最初と最後の頁 R14-R27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00166.2021	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 該当する
1. 著者名 Omoto T, Yimiti D, Sanada Y, Toriyama M, Ding C, Hayashi Y, Ikuta Y, Nakasa T, Ishikawa M, Sano M, Lee M, Akimoto T, Shukunami C, Miyaki S, Adachi N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Tendon-Specific Dicer Deficient Mice Exhibit Hypoplastic Tendon Through the Downregulation of Tendon-Related Genes and MicroRNAs.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Cell Dev Biol.	6. 最初と最後の頁 898428
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2022.898428	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 Sano Masayuki, Morishita Kana, Oikawa Satoshi, Akimoto Takayuki, Sumaru Kimio, Kato Yoshio	4. 巻 26
2. 論文標題 Live-cell imaging of microRNA expression with post-transcriptional feedback control	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 547 ~ 556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2021.08.018	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 Takagi R, Tabuchi A, Asamura T, Hirayama S, Ikegami R, Tanaka Y, Hoshino D, Poole DC, Kano Y.	4. 巻 320(2)
2. 論文標題 In vivo Ca ²⁺ dynamics during cooling after eccentric contractions in rat skeletal muscle.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.	6. 最初と最後の頁 R129-R137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00253.2020	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 Ikegami Ryo, Eshima Hiroaki, Nakajima Toshiaki, Toyoda Shigeru, Poole David C., Kano Yutaka	4. 巻 320
2. 論文標題 Type 1 diabetes suppresses intracellular calcium ion increase normally evoked by heat stress in rat skeletal muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 R384 ~ R392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00168.2020	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 Schiaffino S, Reggiani C, Akimoto T, Blaauw B.	4. 巻 8(2)
2. 論文標題 Molecular Mechanisms of Skeletal Muscle Hypertrophy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Neuromuscul Dis.	6. 最初と最後の頁 169-183.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JND-200568.	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

[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 田中 嘉法, 池上 諒, 秋本崇之, 狩野 豊
2. 発表標題 連続的な筋収縮負荷による筋細胞内グルコース動態の特徴
3. 学会等名 第74回日本体力医学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐野将之, 森下加奈, 及川哲志, 秋本崇之, 須丸公雄, 加藤義雄.
2. 発表標題 転写後フィードバック制御を利用したmiRNA検出システムの開発.
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 相澤勝治, 小倉裕司, 秋本崇之.
2. 発表標題 メカニカルストレスによる骨格筋Egr2-Srd5a1経路の応答.
3. 学会等名 第74回日本体力医学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>早稲田大学筋生物学研究室 https://sem-muscle.w.waseda.jp/index.html 電気通信大学狩野研究室 http://www.ecc.es.uec.ac.jp/ 国立研究開発法人産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 構造創薬研究グループ 加藤義雄研究室 https://staff.aist.go.jp/y-kato/</p>
--

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	加藤 義雄 (Kato Yoshio) (20415657)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究グループ長 (82626)	
研究分担者	狩野 豊 (Kano Yutaka) (90293133)	電気通信大学・大学院情報理工学研究所・教授 (12612)	
研究分担者	清水 一憲 (Shimizu Kazunori) (70402500)	名古屋大学・工学研究科・准教授 (13901)	

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
---------	---------