

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 11日現在

機関番号：32713

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21700662

研究課題名（和文）骨格筋 α アクチニン 3 タンパク質の加齢に伴う発現変化とその運動適応に関する研究研究課題名（英文）Effect of ageing and exercise training on α -actinin-3 in rat skeletal muscle

研究代表者

小倉 裕司（OGURA YUJI）

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号：90509952

研究成果の概要（和文）：本研究では、速筋線維特異的なタンパク質、 α アクチニン 3 の運動および加齢による変化についてラット動物モデルにより検討した。本研究の結果、加齢による筋の萎縮および遅筋化は α アクチニン 3 発現量減少を伴うことが明らかとなり、サルコペニアの因子として α アクチニン 3 の変化を考慮する必要性が示唆された。その一方、持久性トレーニングは α アクチニン 3 を変化させなかったため、 α アクチニン 3 への介入を目的とした運動様式には適さないことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to clarify the effect of ageing and exercise training on α -actinin-3 in rat skeletal muscle. Our results suggest that ageing-induced muscle atrophy and fast-to-slow shift of the plantaris muscle accompanied with decrease in α -actinin-3, suggesting sarcopenia might be associated with α -actinin-3. However, endurance exercise that we selected did not alter α -actinin-3 expression. Thus, endurance-type exercise may not be effective as intervention to α -actinin-3.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

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：筋線維組成、加齢、骨格筋

1. 研究開始当初の背景

加齢とともに骨格筋の質的量的な低下（サルコペニア）が生じる。サルコペニアは高齢期の活動性および生活の質（QOL）とも密接に関係することから、その程度をいかに減弱するかは現在の体力医学研究における課題の一つとなっている。サルコペニアは主に速

筋線維の加齢性の萎縮に起因することが示唆されており、運動はその進行速度を遅延させることが知られている。それゆえ、サルコペニア対策を確立するためには、速筋線維特有に発現するタンパク質の加齢動態と運動の影響およびそれらの相互関連性に着目することが必要であると思われた。 α アクチニンはそのようなタンパク質とし

て興味深い。骨格筋における α アクチニンは筋節のZ線上に位置しアクチンフィラメント同士を架橋する構造タンパク質であり、筋収縮力の発生や伝達に関与していると考えられている。骨格筋 α アクチニンには、 α アクチニン2および α アクチニン3という二つのアイソフォームが存在することが知られている。両者の機能的な違いは明確ではないものの、 α アクチニン2は全筋線維タイプに発現する一方で、 α アクチニン3は速筋線維にのみ発現するという特徴を有することが明らかとなっている (Mills et al., 2001)。

最近、アクチニン3の調節遺伝子であるACTN3多型調査による報告は、 α アクチニン3を骨格筋に保持することが短時間高強度運動時の筋出力に有利である可能性を指摘していること (MacArthur & North, 2007)、そして、 α アクチニン3が速筋線維にのみ特異的に発現するという特性を持っていること (Mills et al., 2001) を報告している。本項の冒頭で述べたように、サルコペニアの主要な要因の一つには速筋線維の選択的な萎縮があり、その結果筋力低下のような実際の症状につながると考えられている。したがって、速筋線維の改変によるサルコペニアの進行に対して α アクチニン3が関与する可能性は否定できないものと思われるが、これまでに加齢に伴う骨格筋萎縮と α アクチニン3の関連性に着目した研究はなされていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、 α アクチニン3が加齢に伴う筋萎縮と並行して変化するかどうか、また、持久性運動介入は α アクチニン3および筋量に影響を及ぼすかどうかを明らかにすることであった。

3. 研究の方法

18ヶ月齢および28ヶ月齢の雄Fischer 344ラットに、8週間の持久性トレーニングを負荷した。トレーニングの強度は、各動物の最大酸素摂取量を元に、相対的に同一強度に実施した。

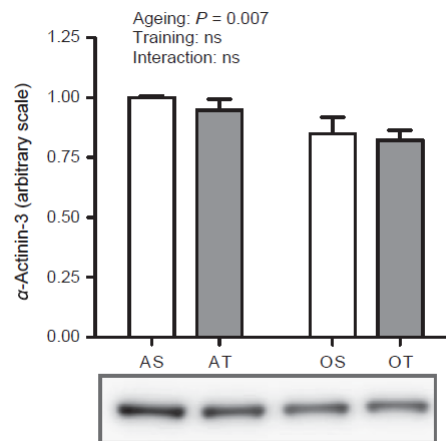
トレーニング終了後に下肢骨格筋である足底筋を摘出した。足底筋は、本研究で用いたトレーニングにตอบสนองしやすいことが知られている。足底筋を氷冷下でホモジナイズ・遠心後の上清を可溶性分画として採取し、筋有酸素能力の指標として分光光度法によるクエン酸合成酵素 (CS) 活性の測定に利用した。また、残りの沈殿は、ウェスタンブロッティング法により α アクチニン3の発現量およびグリセロール SDS-PAGE 法によるミオシン重鎖 (MyHC) 組成 (筋線維組成) の分析に利用した。

なお、8週間のトレーニングを負荷しているので、筋摘出時の動物の月齢は20ヶ月齢および30ヶ月齢である。結果は、同月齢の対照群とともに月齢 \times トレーニング有無による二元配置分散分析により分析した。

4. 研究成果

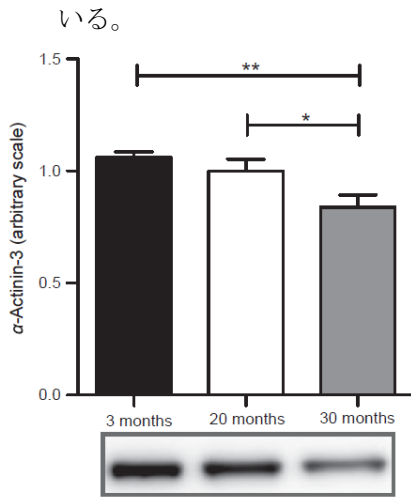
本研究では、有意な交互作用が観察されなかったため、結果は全て主効果にて解釈した。

筋湿重量は、20ヶ月齢群よりも有意に低く加齢に伴う筋萎縮が生じていた。type IIb MyHCは30ヶ月齢群で20ヶ月齢群よりも有意に低く、一方、type I MyHCは30ヶ月齢群で20ヶ月齢群よりも有意に高かった。30ヶ月齢群の α アクチニン3発現量は20ヶ月齢群よりも有意に低かった。一方、トレーニング群では非トレーニング群と比べてtype II MyHCの中でもよりslowerなアイソフォームの割合が増加しているが、両者の間に α アクチニン3発現量に差は無かった。なお、 α アクチニン3に関する結果を図①に示した。



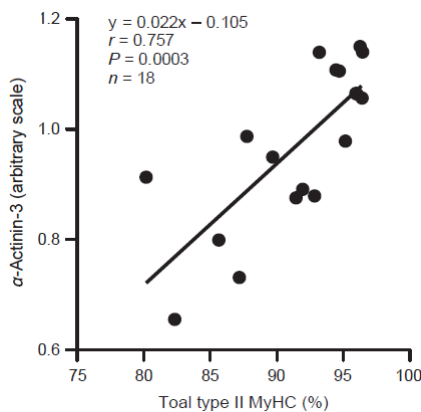
図①アクチニン3のタンパク発現変化

研究開始時においては、加齢に伴う筋萎縮は速筋線維の減少に起因することから、本研究で、 α アクチニン3発現が30ヶ月齢群で減少したことは、理にかなっている。なお、この事実は、上記成果よりも若齢の動物を加えた分析でより明確である (図②)。すなわち、 α アクチニン3発現量は、30ヶ月齢の動物では、3ヶ月齢および18ヶ月齢の何れの動物よりも有意に低く、同様に、速筋線維の含有量も低値であった。実際に、加齢に伴って低下する速筋線維量と α アクチニン3発現量の間には、統計的に有意な相関関係が観察された (図③)。また、3ヶ月齢および18ヶ月齢の間に有意な差はなかったが、18ヶ月齢の動物で低下傾向にあった。これらのことは、加齢は、 α アクチニン3の減少因子であることを示して



図② αアクチニン 3 タンパク発現の加齢変化: * p < 0.05、 **P < 0.01

まとめれば、本研究の成果により、サルコペニアに一因子として、骨格筋のαアクチニン3の発現変化が関与している可能性が示唆された。



図③速筋型ミオシン重鎖アイソフォームとαアクチニン3タンパク発現量の関係

一方、本研究で、持続性トレーニングがαアクチニン3に変化を及ぼさなかった(図①)。我々は、以前に、より高強度の走トレーニングを課した動物でも、αアクチニン3が変化しなかったこと(業績雑誌論文①)を報告していることから、この様式の運動はαアクチニン3発現変化させ得る刺激とならないことが示唆される。これは、αアクチニン3を介した筋機能調節メカニズムが存在すると仮定すると、持続性トレーニングによるその介入が難しいことを示唆している。しかしながら、運動様式、あるいは強度など、αアクチニン3の発現を変化し得る運動手段について

は、さらに検討が必要である。

なお、本研究では、もう一つのαアクチニンアイソフォームであるαアクチニン2の発現量についても同時に分析したが、これには加齢の影響は観察されず、また、持久トレーニングにより足底筋にて増加していた。この結果は、我々先行研究(業績雑誌論文①)を再現するものであり、αアクチニン2は運動応答が顕著なαアクチニンアイソフォームであると考えられる。αアクチニン3の応答と併せて、今後は、種々の骨格筋適応因子との関連を検討する予定である。

αアクチニン3は、従来その遺伝子多型と筋パフォーマンスの観点からの研究が多く、タンパク質自体の発現変化を追った検討は我々を除いて検討が無い。本研究成果は、αアクチニン3の筋含有量が筋に影響する可能性を提示する。

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2件)

- ① Ogura Y., Naito H, Kakigi R, Ichinoseki-Sekine N, Kurosaka M, Yoshihara T, Akema T. Effects of ageing and endurance exercise training on alpha-actinin isoforms in rat plantaris muscle. *Acta Physiol. (Oxf.)* 202(4):683-690 2011年8月査読有
- ② Ogura Y., Naito H., Kakigi R., Akema T., Sugiura T., Katamoto S., Aoki J. Different adaptations of alpha-actinin isoforms to exercise training in rat skeletal muscles. *Acta Physiol. (Oxf.)* 196(3):341-349, 2009年7月 査読有

[学会発表](計5件)

- ① 関根紀子、吉原利典、柿木亮、小倉裕司、杉浦孝夫、内藤久士: ラット横隔膜におけるαアクチニン3タンパク質の筋線維特異的発現、第66回日本体力医学会大会(下関海峡メッセ)2011年9月17日
- ② 小倉裕司、内藤久士、柿木亮、関根紀子、黒坂光寿、明間立雄: 加齢および持久性トレーニングがラット足底筋のαアクチニンアイソフォームに及ぼす影響、第66回日本体力医学会大会(下関海峡メッセ)2011年9月18日
- ③ Ogura Y., Naito H, Kakigi R, Ichinoseki-Sekine N, Akema T. :

Adaptation of Alpha-Actinin Isoforms
to Endurance Exercise Training in
Adult and Old Rat Plantaris Muscle、
第 58 回アメリカスポーツ医学会大会
(於デンバーコンベンションセンター)

2011年6月1日

- ④ 小倉裕司：筋線維組成との関わりから見た骨格筋 α アクチニン3の適応性、筋肉の会（朱鷺メッセ）2009年9月17日
- ⑤ 小倉裕司、内藤久士、柿木亮、明間立雄：運動トレーニングに伴うラット骨格筋 α アクチニンアイソフォームの適応、第64回日本体力医学会大会（新潟朱鷺メッセ）2009年9月19日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小倉 裕司 (OGURA YUJI)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号：90509952

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし