

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659449

研究課題名(和文) 有酸素運動による筋力増強効果への甲状腺ホルモンの関与

研究課題名(英文) Effect of thyroid hormone to muscle hypertrophy by aerobic training.

研究代表者

鯉淵 典之 (KOIBUCHI, NORIYUKI)

群馬大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80234681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：ラット骨格筋(ヒラメ筋)を用いて、強度の異なる運動による甲状腺ホルモン(TH)作用の変化を解析した。オスラットに一日30分の運動を12日間行った。運動強度は血中乳酸値で分類した。TSH値は有酸素運動群、無酸素運動群どちらも抑制されていた。TRbeta1のmRNA及びタンパク発現が有酸素運動群で上昇した。有酸素運動によりT3により活性化されたNaK-ATPase mRNA発現が上昇した。有酸素運動トレーニングにより少なくとも一部はTRbeta1発現の上昇を通じてTHシグナリングに影響を及ぼすことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Aerobic exercise facilitates oxidative phosphorylation and glycolysis of skeletal muscle. Thyroid hormone (TH) also facilitates such metabolic events. We studied whether TH signaling pathway is activated by aerobic training using rat treadmill exercise model. Male adult rats received 30 min/day treadmill training with different exercise intensity for 12 days. We determined exercise intensity by plasma lactate levels. TSH level was suppressed in both aerobic and anaerobic groups during the exercise. TRbeta1 mRNA and protein levels were augmented by aerobic but not anaerobic training. Aerobic training also augmented T3-activated NaK-ATPase mRNA expression. Aerobic training alters TH signaling at least in part by increasing TRbeta1 expression.

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：内分泌学

キーワード：有酸素運動 骨格筋 甲状腺ホルモン NaK-ATPase

## 1. 研究開始当初の背景

有酸素トレーニングにより骨格筋の糖代謝や酸化リン酸化が促進される。一方、甲状腺ホルモン (TH) も主に TH 核内受容体 (TR) を介し、同様な代謝過程を促進する。有酸素トレーニングにより体内の様々なホルモン環境が影響を受けるが、有酸素トレーニングにより酸化リン酸化や糖代謝促進が TH の作用により生じている可能性がある。過去の研究により、TRs ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  および  $\beta 2$ ) はすべて骨格筋に発現していることが知られている。また、TH は骨格筋において  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, myogenic differentiation factors (MyoD), insulin-like growth factor (IGF)-1 など多くの遺伝子発現を制御することも知られている。

## 2. 研究の目的

本研究ではラット骨格筋 (ヒラメ筋) を用いて、有酸素運動による甲状腺ホルモン作用の変化を解析することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 運動強度の決定: 2ヶ月齢 Wister 雄ラット (体重  $230 \pm 10$  g) を用いて麻酔下で内頸静脈より採血用カテーテルを埋め込み、背側皮膚に固定し、運動中にも採血を行えるようにした。実験開始1週間前からラットをトレッドミルに乗せ、運動に慣らした。実験当日、ラットをトレッドミルに乗せ、運動を行わせ、血中乳酸値を運動前後、及び運動中に測定した。

(2) トレーニングによる TSH 血中濃度の解析: 上記の運動強度で、1日30分の運動負荷を12日間 (5日間連続負荷のあと2日休み) 行い、運動後 1, 5, 12日目の運動負荷前、運動中 (10, 20, 30, 90分)、運動後 (150分) の血漿甲状腺刺激ホルモン (TSH) 値を ELISA 法で測定した。

(3) 運動強度による TR 発現変化の解析: 45頭のラットを3群に分け、強度の異なる運動後 1, 5, 12日後ヒラメ筋を取出し、TR 及び TH 標的遺伝子の発現を半定量的 RT-PCR 法を用いて解析した。TR $\beta 1$  については Western blot でタンパク発現についても解析した。

(4) 運動強度による T3 に対する感受性の解析: ラット30頭を6群に分け、1日30分、2週間の強度の異なる運動を行わせた。最終運動から6時間後にトリヨードサイロニン (T3) ( $2 \mu\text{g}/100 \text{ g bw}$ , 腹腔内投与) または、生理的食塩水を投与し、トレーニングにより TH に対する感受性が変化するか、TH 感受性遺伝子 (citrate synthase (CS),  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), myosin heavy chain

(MHC) I, IGF-1, IGF-1 receptor, MyoD) の mRNA 発現について解析した。

## 4. 研究成果

(1) 運動強度の決定: 乳酸閾値は  $20 \text{ m}/\text{min}$  であった。この結果を基に運動の強度を無酸素運動群 (AN;  $25 \text{ m}/\text{min}$ )、有酸素運動群 (A;  $15 \text{ m}/\text{min}$ )、非運動群 (SC;  $0 \text{ m}/\text{min}$ ) に分類した。

(2) 運動による TSH 値の変化: SC 群で TSH は採血開始後30分まで上昇したが、その後変化なかった。A 及び AN 群で TSH は SC 群に比べ低下した。1日目、5日目では運動後150分でも TSH は抑制されたままだったが、12日目では運動後150分で運動前の値に戻った。このことよりトレーニングにより TH 系のホメオスターシスが変化することが分かった。

(3) TR 異性体のヒラメ筋における発現に対する影響:  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  4種類すべての異性体が発現することを確認した。A 群において TR $\beta 1$  発現が最も顕著に変動した。SC 群や AN 群において TR $\beta 1$  の発現は有意差は無かった。A 群において1日目の運動後に、SC や AN 群と比べ1.2倍に上昇し、5日目で1.4倍、12日目で2倍に上昇した。一方、TR $\alpha 1$  は A 群において12日後で1.4倍に上昇した。AN 群では TR $\alpha 1$  は変化なかった。TR $\alpha 2$ ,  $\beta 2$  に関しては有意な変化はなかった。TR $\beta 1$  のタンパク発現は 1, 5, 12日目でそれぞれ1.2, 1.5, 2.2倍と mRNA 発現と同様の上昇を示した。一方、AN 群ではタンパクは 5, 12日目でそれぞれ 0.7, 0.6倍と減少した。以上から有酸素運動により TR $\beta 1$  発現が上昇することが分かった。

(4) 標的遺伝子の発現:  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase  $\beta$  の発現において T3 投与により誘導された mRNA 発現が A 群において20%顕著に増加した一方、AN 群では T3 投与と NaCl 投与で差がなく、T3 感受性が低下していることが分かった。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 16 件)

Shimokawa N, Yousefi B, Morioka S, Yamaguchi S, Ohsawa A, Hayashi H, Azuma A, Mizuno H, Kasagi M, Masuda H, Jingu H, Furudate SI, Haijima A, Takatsuru Y, Iwasaki T, Umezumi M, Koibuchi N. 2014 Altered cerebellum development and dopamine distribution in a rat

genetic model with congenital hypothyroidism. *J Neuroendocrinol* 査読有 26: 164-175. doi: 10.1111/jne.12135.

Yamazaki H, Kojima N, Kato K, Hirose E, Iwasaki T, Mizui T, Takahashi H, Hanamura K, Roppongi RT, Koibuchi N, Sekino Y, Mori N, Shirao T. 2014 Spikar, a novel drebrin-binding protein, regulates the formation and stabilization of dendritic spines. *J Neurochem* 査読有 128: 507-522, doi: 10.1111/jnc.12486.

Ichinose T, Lesmana R, Yamamoto A, Kobayashi T, Shitara H, Shimoyama D, Takatsuru Y, Iwasaki T, Shimokawa N, Takagishi K, Koibuchi N. 2014 Possible involvement of IGF-1 signaling on compensatory growth of the infraspinatus muscle induced by the supraspinatus tendon detachment of rat shoulder. *Physiological Rep.* 査読有 2: e00197, doi: 10.1002/phy2.197

Lesmana R, Shimokawa N, Takatsuru Y, Iwasaki T, Koibuchi N. 2012 Lactational exposure to hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCB 106) causes hyperactivity in male rat pups by aberrant increase in dopamine and its receptor *Environ Toxicol* 査読有 doi: 10.1002/fox.21815

Xu M, Iwasaki T, Shimokawa N, Sajdel-Sulkowska EM, Koibuchi N. 2013. The effect of low dose lipopolysaccharide on thyroid hormone-regulated actin cytoskeleton modulation and type 2 Iodothyronine deiodinase activity in astrocytes. *Endocrine J* 査読有 60: 1221-1230 [https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/60/11/60\\_EJ13-0294/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/60/11/60_EJ13-0294/_pdf)

Xu M, Sulkowski ZL, Parekh P, Khan A, Chen T, Midha S, Iwasaki T, Shimokawa N, Koibuchi N, Zavacki AM, Sajdel-Sulkowska EM. 2013 Effects of perinatal lipopolysaccharide (LPS) exposure on the developing rat brain; modeling the effect of maternal infection on the developing human CNS. *Cerebellum* 査読有 12: 572-586, doi: 10.1007/s12311-013-0465-z.

Koibuchi N. The role of thyroid hormone on functional organization in the cerebellum. 2013 *Cerebellum* 査読有 12: 304-306. doi: 10.1007/s12311-012-0437-8.

Takatsuru Y, Nabekura J, Koibuchi N. 2013 Activity of the layer II/III neurons in the somatosensory cortex (SSC) plays a critical role on functional recovery after focal stroke in the contralateral SSC. *Neurosci Lett* 査読有 543: 168-171, doi: 10.1016/j.neulet.2013.03.049.

Hirooka-Masui K, Lesmana R, Iwasaki T, Xu M, Hayasaka K, Haraguchi M, Takeshita A, Shimokawa N, Yamamoto K, Koibuchi N. 2013 Interaction of silencing mediator for retinoid and thyroid receptors with steroid and xenobiotic receptor on multidrug resistance 1 promoter. *Life Sci* 査読有 92: 911-915, doi: 10.1016/j.lfs.2013.03.007.

Takatsuru Y, Eto K, Kaneko R, Masuda H, Koibuchi N, Nabekura J. 2013 Critical role of the astrocyte for functional remodeling in contralateral hemisphere of somatosensory cortex after stroke. (NK & JN equal contribution) *J Neurosci* 査読有 33: 4683-4692, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2657-12.2013.

Itoh M, Shimokawa N, Tajika Y, Murakami T, Aotsuka N, Lesmana R, Farenia R, Iwasaki T, Okada J, Yorifuji H, Koibuchi N. 2013 Alterations of biochemical marker levels and myonuclear numbers in rat skeletal muscle after ischemia-reperfusion. *Mol Cell Biochem* 査読有 373: 11-18, doi: 10.1007/s11010-012-1470-0.

鯉淵典之 2012 甲状腺ホルモン合成・分泌の分子機構 日本臨床 査読無 70: 1844-1848.

Takeshita A, Igarashi-Migitaka J, Koibuchi N, Takeuchi Y. 2013 Mitotane induces CYP3A4 expression via activation of steroid and xenobiotic receptor. *J Endocr* 査読有 216: 297-305, doi: 10.1530/JOE-12-0297.

鯉淵典之 2013 環境因子と甲状腺ホルモン受容体異常(転写共役因子含む) カレントセラピー 査読無 31: 89-90.

Ibhazeheibo K, Koibuchi N. 2012. DE71 suppresses thyroid hormone-mediated dendritogenesis and neuritogenesis in the developing cerebellum. *Niger J Physiol Sci.* 査読有 27: 123-128.

Xiong Y, Ibhazehiebo K, Iwasaki T, Koibuchi N. 2012 An in vitro method to study the effects of thyroid hormone-disrupting chemicals on neuronal development. *Neurotoxicology* 査読無 33: 753-757. doi: 10.1016/j.neuro.2012.04.021.

〔学会発表〕(計 47 件)  
(国際学会)

Koibuchi N. How useful the animal models are to study the role of thyroid hormone on cerebellar development. Inaugural Scientific Conference of the Sri Lanka Association for Laboratory Animal Science. January 25, 2014. Colombo, Sri Lanka. (The Sunday Times March 23, 2014 掲載)

Koibuchi N. Neurotoxic effects of environmental chemicals on cerebellar function. The 10<sup>th</sup> Biennial Conference of the Chinese Neuroscience Society. September 19-22, 2013, Beijing, China. (Invited Speaker)

Koibuchi N, Nakashima A, Ishimatsu M, Okumura S, Okumura T, Kawai Y, Kuno M, Koizumi A, Shiibashi M, Suzuki A, Matsuda T, Morita H, Yamashita T, Yamanaka A. New challenge of Physiological Society of Japan – Reform of annual meeting and establishment of Physiology Educator role. 37<sup>th</sup> International Congress of Physiological Society. July 21-26, 2013. Birmingham, UK.

Koibuchi N, Nakashima A, Ishimatsu M, Okumura S, Okumura T, Kawai Y, Kuno M, Koizumi A, Shiibashi M, Suzuki A, Matsuda T, Morita H, Yamashita T, Yamanaka A. New challenge of Physiological Society of Japan – Reform of annual meeting and establishment of Physiology Educator role. The IUPS and ADInstruments Teaching Workshop. July 18-21, 2013. Bristol, UK.

Koibuchi N. Toxicology of environmental chemicals, especially PCBs – their interaction with thyroid hormone function and its impact on neurodevelopment. Ruhr-University Cloloquium. July 8, 2013. Bochum, Germany. (Invited Speaker)

Koibuchi N. Thyroid hormone and cerebellar development. Internatinal Gduate School of Neuroscience Symposium “Impacts of thyroid hormone on the decelopment of the nervous system”. July 8, 2013. Bochum, Germany. (Invited Speaker)

Koibuchi N, Haijima A, Lesmana R, Amano I, Takatsuru Y, Iwasaki T, Shimokawa N. Hyperactivity of rat and mouse induced by lactational exposure to hydorxylated PCB (OH-PCB106). 52th annual Meeting and ToxExpo, Society of Toxicology. March 10-14, 2013. San Antonio, USA.

Amano I, Takatsuru Y, Haijima A, Koibuchi N. Aberrant cerebellar development in dual oxidase maturation factor (DUOXA) knockout mice. 10<sup>th</sup> Asia and Oceania Thyroid Association Congress. Oct 21-24, 2012, Bali, Indonesia.

Lesmana R, Iwasaki T, Shimokawa N, Koibuchi N. Aerobic training (AT) influences plasma concentration of thyroid hormone and potentiates thyroid hormone (TH) responsiveness to several genes in rat skeletal muscle. 10<sup>th</sup> Asia and Oceania Thyroid Association Congress. Oct 21-24, 2012, Bali, Indonesia.

Xu M, Iwasaki T, Sajdel-Sulkowska E, Shimokawa N, Koibuchi N. Abnormal cerebellar neurotrophin expression in autism patients and LPS-treated rat model. 55<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry. Sept. 29-Oct 2, 2012. Kobe, Japan.

Xu M, Iwasaki T, Shimokawa N, Koibuchi N. Abnormal cerebellar neurotrophin expression in autism patients and LPS-treated rat model. 5<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Research on the Cerebellum. Sept. 22-24, 2012. Hangzhou, China (Masao Ito award)

Koibuchi N. The role of thyroid hormone on functional organization in the cerebellum. 5<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Research on the Cerebellum. Sept. 22-24, 2012. Hangzhou, China (Invited Speaker)

Koibuchi N. The effect of thyroid hormone

status on behavioral alteration during development and exercise training. Cardiovascular and Metabolic Disease Seminar, Duke-NUS. Sept. 4, 2012, Singapore.

Koibuchi N. The effect of perinatal hypothyroidism on neuronal development and plasticity. International Neuroscience Symposium 2012. July 23-25, 2012. Kota Kinabaru, Malaysia. (Invited Speaker)

Koibuchi N, Iwasaki T, Takatsuru Y, Umezu M, Shimokawa N Congenital hypothyroidism causes behavioral disorders by impaired cerebellar function and aberrant axonal transport of dopamine. 8<sup>th</sup> Federation of European Neuroscience Societies Forum of Neuroscience. July 14-18, 2012. Barcelona, Spain

Takatsuru Y, Toya S-T, Nabekura J, Koibuchi N. Synaptic instability is induced by maternal separation in somatosensory cortex. 8<sup>th</sup> Federation of European Neuroscience Societies Forum of Neuroscience. July 14-18, 2012. Barcelona, Spain

(国内学会)

天野出月, 高鶴祐介, 戸谷秀太郎, はい島旭, 鯉淵典之 先天性甲状腺機能低下症マウスにおいて、parallel fiber-Purkinje シナプスの短期可塑性に異常がみられた第91回日本生理学会大会 2014年3月16-18日 鹿児島

岩崎俊晴, レスマナロニー, 下川哲昭, 鯉淵典之 ラット骨格筋における異なる強度のトレッドミル運動による甲状腺ホルモンシグナリングの変化 第91回日本生理学会大会 2014年3月16-18日 鹿児島

岩崎俊晴, はい島旭, 宮坂勇平, Yu Lu, 高鶴裕介, 下川哲昭, 鯉淵典之 新たな機序による Perfluorooctane Sulfonate (PFOS)の脳発達への影響 環境ホルモン学会第16回研究発表会 2013年12月12-13日 東京

岩崎俊晴, Ronny Lesmana, 下川哲昭, 鯉淵典之 ラット骨格筋における有酸素運動の甲状腺ホルモン制御系に与える影響 第86回日本内分泌学会学術総会 2013年4月25-27日 仙台

竹下彰, 五十嵐潤子, 鯉淵典之, 竹内靖博 ラット vivo モデルを用いた, 骨吸収抑制剤がビタミン D 代謝に及ぼす影響の検討 第86回日本内分泌学会学術総会 2013年4月25-27日 仙台

岩崎俊晴, 徐明, 下川哲昭, 鯉淵典之 アストロサイトにおける甲状腺ホルモン制御機構に対するリポポリサッカライドの影響 第90回日本生理学会大会 2013年3月27-29日 東京

岩崎俊晴, 宮坂勇平, 原口瑞樹, Ronny Lesmana, はい島旭, 下川哲昭, 鯉淵典之 Perfluorooctane sulfonate (PFOS) と Perfluorooctanoic acid (PFOA)による脳発達に与える影響 環境ホルモン学会第15回研究発表会 2012年12月18-19日 東京

宮崎航, 岩崎俊晴, 加藤貴彦, 鯉淵典之 甲状腺ホルモン受容体を介する転写における Arnt および AhR の関与 環境ホルモン学会第15回研究発表会 2012年12月18-19日 東京

岩崎俊晴, 徐明, 下川哲昭, Sadel-Sulkowska EM, 鯉淵典之 アストロサイトにおける甲状腺ホルモンおよびリポ多糖(LPS)の影響 第85回日本内分泌学会学術総会 2012年4月19-21日 名古屋

(他 22 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

鯉淵 典之 (KOIBUCHI, Noriyuki)  
群馬大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 80234681

### (2)研究分担者

岩崎 俊晴 (IWASAKI, Toshiharu)  
群馬大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号: 80375576