

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：53101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24800079

研究課題名(和文) 軽運動および温熱処置が不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effect of moderate-intensity exercise and heat stimulation on inactivity-induced insulin resistance

研究代表者

河本 絵美 (KAWAMOTO, EMI)

長岡工業高等専門学校・その他部局等・助教

研究者番号：40634514

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：身体不活動の環境下では、筋の活動量が減少し、インスリン抵抗性が生じる。本研究では、不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性を防止・改善する手段として、AMPK活性化作用を有する軽運動と温熱刺激の効果を検証した。検証の結果、ギブス固定によって生じる筋のインスリン抵抗性を防止するには、ある一定レベル以上にAMPKを活性化させる必要があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Chronic muscle disuse - produced by the condition of physical inactivity induced insulin resistance in human skeletal muscle. I studied whether moderate-intensity exercise and heat stimulation that led to a significant amplification in phosphorylation of AMP-activated protein kinase (AMPK), prevented insulin resistance that induced in postural muscle by hindlimb immobilization. As a result, our study suggested that it was necessary to activate AMPK to a sufficiently level for preventing inactivity-induced insulin resistance.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 応用健康科学

キーワード：不活動 インスリン抵抗性 骨格筋 軽運動 温熱処置

### 1. 研究開始当初の背景

食事から摂取した糖のおよそ 80%はインスリンの刺激によって骨格筋に取り込まれて代謝されていることから、骨格筋にインスリン抵抗性が生じると 2 型糖尿病の発症リスクが高まる。したがって、筋のインスリン抵抗性を防止することは非常に重要である。

身体不活動の環境下においては、筋の活動量が減少し、インスリン抵抗性が起きる。一般に、筋のインスリン抵抗性を防止・改善するには、日常動作よりも活動強度が高い“活発な運動”が有効であると言われている。しかしながら、高齢やけがに伴う身体障害、あるいは災害に伴う被災生活によって不活動の環境下におかれた人々には、“活発な運動”を行うことは困難である。そこで、不活動誘発性の骨格筋インスリン抵抗性を防止するための安全で取り組みやすい手段を提案することが必要とされる。

申請者は、現在までに、筋細胞内のエネルギー不足 (ATP や CrP の減少) を感知して活性化する AMP 依存性プロテインキナーゼ (AMPK) の薬理的活性化剤 (AICAR) を動物に投与すると、不活動誘発性の骨格筋インスリン抵抗性を防止できることを明らかにしている。しかしながら、AMPK 薬理的活性化剤をヒトに投与することは現実的な処方ではない。そこで、AMPK 活性化作用を有する別の処方によって、不活動由来のインスリン抵抗性を防止できないかと考えた。

### 2. 研究の目的

不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性防止法を見出すために、AMPK 活性化作用を有する運動の中で、より強度が低く、時間が短い軽運動による防止効果を検討した。また、運動と同様に AMPK 活性化作用を有する温熱刺激による防止効果を検討した。

### 3. 研究の方法

(1) 軽運動の防止効果を検討するために、ラットに分速 18m の速度で 90 分間の走行運動を負荷した。運動終了後、ラットの後肢片側をギプスで固定し、0, 6, 12, 24 時間後にヒラメ筋を摘出した。また、運動時間を短く、あるいは運動強度を低く設定し、それぞれ分速 18m で 45 分間、あるいは分速 9m で 90 分間の走行運動を負荷した。運動終了後、ラットの後肢片側をギプスで固定し、6 時間後にヒラメ筋を摘出した。摘出したヒラメ筋は糖取り込み速度の測定に用いた。

(2) 温熱刺激の防止効果を検討するために、ラットの後肢片側を水温 42 度の恒温槽中で 30 分間加温した後、後肢片側のみをギプスで固定し、その 24 時間後にヒラメ筋を摘出した (温熱処置群)。一方、対照群は水温を 36 度に設定し、その他の処置については温熱処

置群と同様に行った (対照群)。温熱刺激後、ヒラメ筋を摘出し、糖取り込み速度を測定した。

(3) AMPK を薬理的に活性化させると不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性を防止できる。この分子メカニズムを明らかにするために、AMPK の薬理的活性化剤である AICAR を投与したときのヒラメ筋におけるインスリン情報伝達分子の発現量を測定した。AICAR は体重 1g あたり 0.25mg を生理食塩水に溶かして皮下投与し、投与 90 分後にギプス固定を行った。摘出したヒラメ筋は、ホモジナイズ後に可溶化処理を施し、サンプルを SDS ポリアクリルアミド電気泳動に流して分子量によってわけた後、PVDF 膜へ転写し、特異的抗体を用いて膜上のタンパク質を検出した。

### 4. 研究成果

#### (1) 軽運動による防止効果

ラットに分速 18m の速度で 90 分間の走行運動を負荷したところ、その後 6, 12, 24 時間のギプス固定によって生じるはずのインスリン抵抗性が防止できた (図 1, 2)。とくに、ギプス固定開始から 6 時間後に、インスリン抵抗性の顕著な防止効果が観察された (図 1)。

運動時間を短く設定した時の防止効果を検討するため、分速 18m の速度で 45 分間の走行運動を行った結果、90 分間の場合と同程度の効果を示した (図 2)。しかし、運動強度を低く設定し、分速 9m の速度で 90 分間の走行運動を負荷した時には、ギプス固定によって生じたインスリン刺激時の糖取り込み速度低下を抑制することはできなかった (図 3)。

分速 18m の運動は、分速 9m に比べて AMPK 活性化レベルが高いと考えられる。このことが防止効果に影響を与えた可能性がある。以上のことから、不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性の防止には、不活動に陥る前に、ある一定レベル以上に AMPK を活性化させる必要があることが示唆される。

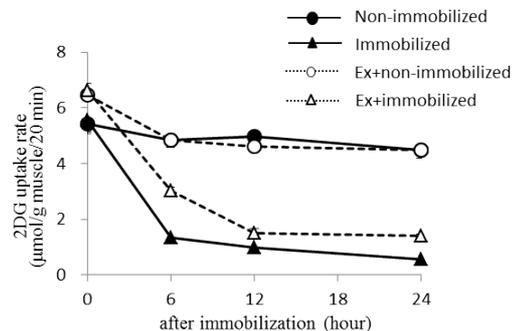


図 1. ギプス固定後のヒラメ筋におけるインスリン刺激時の糖取り込み速度は、ギプス固定開始前の運動 (分速 18m 90 分走行) によって、減少量が抑制された。とくに、ギプス固定開始から 6 時間後に顕著な防止効果が示された (control : 72.5%減少, pre-exercise : 37.5%減少,  $p < 0.05$ )。

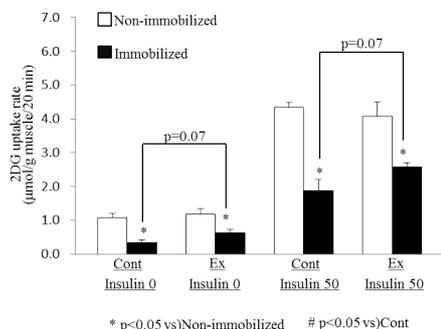


図 2. ギプス固定後のヒラメ筋におけるインスリン刺激時の糖取り込み速度は、ギプス固定開始前の運動（分速 18m 45 分走行）によって、減少量が抑制される傾向を示した。

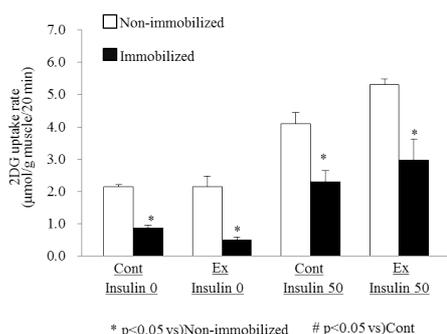


図 3. ギプス固定後のヒラメ筋におけるインスリン刺激時の糖取り込み速度は、ギプス固定開始前に運動（分速 9m 90 分走行）を行っても、その減少を抑制することはできなかった。

## (2) 温熱刺激による防止効果

インスリン非刺激時の糖取り込み速度を測定した結果、温熱処置群におけるギプス固定側の糖取り込み速度は対側に比べて 82%減少し、対照群においても 67%減少した。また、インスリン刺激時の糖取り込み速度については、温熱処置群において 86%減少し、対照群においても 84%の減少が見られた。

これらの結果から、ギプス固定によって筋活動量が減少したヒラメ筋には不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性が生じるが、たとえ、ギプス固定前の温熱刺激によって AMPK を活性化させても、ヒラメ筋に生じた不活動誘発性インスリン抵抗性を防止することはできないことが示された。温熱刺激が運動のような防止効果を示さなかったのは、AMPK 活性化レベルの増大効果や刺激時間の違いが影響しているのかもしれない。

## (3) AICAR 投与による不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性防止効果の分子メカニズム

ギプス固定によってインスリン抵抗性が生じるとき、細胞内インスリン情報伝達分子のひとつである Akt のリン酸化レベルが低下する。AICAR 投与によって AMPK を薬理的に活

性化させると、筋に生じるはずのインスリン抵抗性を防止できることから、その低下も抑制できると思われた。しかしながら、AICAR を投与しても、ギプス固定側に生じる Akt リン酸化レベルの低下は抑制されなかった（図 4）。この結果については、今後、他のインスリン情報伝達分子についても検討する必要がある。

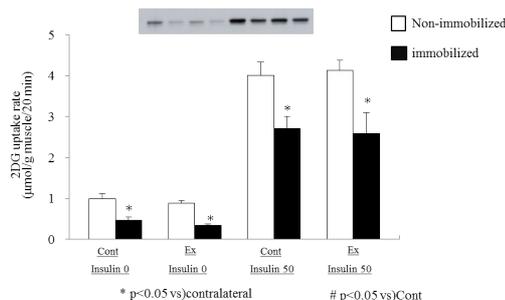


図 4. ギプス固定後のヒラメ筋における Akt リン酸化レベルは、ギプス固定開始前に AICAR を投与しても、その低下を抑制することはできなかった。

## (4) まとめ

不活動誘発性骨格筋インスリン抵抗性を防止するためには、不活動に陥る前に、ある一定レベル以上に AMPK を活性化させる必要があることが示唆された。また、その防止効果を説明するメカニズムについては、今後、関連する複数の細胞内情報伝達分子の動態を調べていく必要がある。

## 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 1 件)

1. Koshinaka K, Kawamoto E, Abe N, Toshinai K, Nakazato M, Kawanaka K. Elevation of muscle temperature stimulates muscle glucose uptake in vivo and in vitro. *J. Physiol Sci.* 63: 409-418, 2013 (査読有)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 河本絵美. 身体不活動が骨格筋にインスリン抵抗性を引き起こす分子機序に関する研究. 平成 25 年女性研究者交流会 (東京), 2013.12.20.

2. 越中敬一, 河本絵美, 阿部夏希, 十枝内厚次, 中里雅光, 川中健太郎. 熱刺激による骨格筋の糖取り込み亢進作用は AMPK と PI3K を介する. 第 67 回日本体力医学会大会, (岐阜) 2012.9.14 ~ 16.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

長岡高専物質工学科ホームページ  
<http://www.nagaoka-ct.ac.jp/mb/>

6．研究組織

(1)研究代表者

河本絵美（KAWAMOTO EMI）  
長岡工業高等専門学校 物質工学科 助教  
研究者番号：40634514

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし