

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25750330

研究課題名(和文) トレーニングによって骨格筋代謝機能に形成されるマッスルメモリー機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms underlying exercise training-induced metabolic memory in skeletal muscle

研究代表者

寺田 新(Terada, Shin)

東京大学・総合文化研究科・准教授

研究者番号：00460048

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：持久的トレーニングは骨格筋の糖輸送体GLUT-4を増加させ、全身の糖代謝能を改善する。本研究では、トレーニングによって生じたこのような代謝機能の変化が骨格筋に長期間記憶されており、糖代謝能をいつでも良好な状態へと速やかに変えられるようになっているか、すなわち骨格筋の代謝機能にマッスルメモリーが形成されるのかどうかについて検討した。本研究の結果、持久的トレーニングを行い、GLUT-4が一度増加したラットの骨格筋においては、脱トレーニングによってそのトレーニング効果が完全に消失したとしても、再度運動刺激が加わった場合には、GLUT-4が増加しやすい状態となっていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Endurance exercise training induced glucose transporter GLUT-4 biogenesis in skeletal muscle, leading to improved whole-body insulin sensitivity. The purpose of this study was to examine the hypothesis that individuals with a history of previous endurance training can easily acquire the metabolic adaptation in skeletal muscle on retraining. This study showed that in rat skeletal muscle that had experienced endurance exercise training, GLUT-4 gene was upregulated rapidly in response to acute bout of exercise after detraining. These results suggest that effects of previous endurance exercise training can be retained as “metabolic memory” or “muscle memory”. The results observed in this study also suggest that histone hyperacetylation may not be involved in the endurance exercise training-induced metabolic memory in skeletal muscle.

研究分野：運動生理・生化学

キーワード：骨格筋 糖代謝 糖輸送体GLUT-4 ヒストン トレーニング

1. 研究開始当初の背景

ヒトの代謝機能は遺伝的要因だけではなく、環境因子による影響を強く受ける。この環境因子による影響は、一過性のもではなく、その環境因子が取り除かれた後でも、細胞内に長期的に記憶され、その後の代謝調節に影響を及ぼし続けることが近年明らかとなっている。例えば、胎児期や新生児期の栄養環境の違いが、成人期における代謝性疾患の罹患率に影響を及ぼすことや、過去の血糖コントロールの良し悪しとその後の糖尿病治療の効果を左右することなどが、その代表例として挙げられる。このような現象は、メタボリックメモリーと呼ばれ、特に栄養環境との関連で研究が勧められているが、栄養環境以外にも代謝機能に大きな影響を及ぼす因子として、身体運動トレーニングが挙げられる。身体運動トレーニングは、生体内で最大の臓器である骨格筋の代謝機能を大きく向上させる。したがって、トレーニングによるこのような骨格筋代謝機能の変化も何らかの形で長期的に記憶され、その後の代謝調節に大きな影響を及ぼす可能性があると考えられる。

スポーツ選手の間では、「筋力トレーニングを長期間中断し、筋力や筋量が少なくなっても、練習を再開すると以前の筋力・筋量まで比較的早く戻せる」ということが経験的に知られていた。このようにトレーニングを長期間中断した後でもトレーニング経験が骨格筋の中に記憶される現象は「マッスルメモリー（筋肉の記憶）」と呼ばれている。このことから、トレーニングの記憶が骨格筋に残るという現象は筋力だけに限らず、代謝系機能の適応現象においても存在する可能性が示唆される。

身体運動トレーニングを行うと、骨格筋において GLUT-4 と呼ばれる糖輸送体が増加し、血糖の処理能力が向上することが知られている。本研究では、トレーニング経験を有する骨格筋では、その記憶が残っており、トレーニングを再度行った場合に、速やかに GLUT-4 が増加し、糖代謝能をいつでも良好な状態へとすぐに変えられるようになっていであろうという仮説を立てて、これを検証することとした。

2. 研究の目的

- (1) 身体運動トレーニングにより、骨格筋の代謝機能にマッスルメモリーが形成されるのか検証する。
- (2) 身体運動トレーニングによって骨格筋の代謝機能に形成されたマッスルメモリーの分子メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

(1) 研究課題 1

トレーニングをしていた時の記憶が骨格筋の代謝機能に残されており、糖代謝能をいつでも良好な状態へと速やかに変えられる

ようになっている、という仮説を立て、これを検証することとした。

1日3時間の水泳運動トレーニングを10日間行わせたラット (Sprague-Dawley 系雄ラット) を 1) トレーニング終了直後に解剖を行う群、2) 1週間の脱トレーニング後に解剖を行う群、3) 1週間の脱トレーニング後に再度一過性の水泳運動を行い、その翌日に解剖を行う群に分けた。1) と 2) の群に対しては、トレーニングを全く行わない同週齢のラットをコントロール群として設け、3) の群に対しては、トレーニングを全く行わないラットと、トレーニングを行わないが、最後に一過性の水泳運動だけを行う群を比較対照群として設けた。麻酔下にてそれぞれのラットから水泳運動で主に動員される前肢骨格筋の一つである滑車上筋を摘出し、糖輸送体 GLUT-4 のタンパク発現量をウエスタンブロットティング法にて測定した。

(2) 研究課題 2

運動トレーニングによる骨格筋メタボリックメモリー形成のメカニズムを解明することを目的とした。

栄養環境によって形成されたメタボリックメモリーの分子メカニズムとして、近年エピジェネティクスが注目されている。エピジェネティクスとは、DNA の塩基配列の変化を伴わない、後天的な遺伝子修飾 (DNA メチル化、ヒストン化学修飾など) による遺伝子発現制御のことであり、環境因子への暴露がエピゲノム修飾として記憶されると考えられている。先行研究において、子宮内発育遅延状態で生まれたラットでは、骨格筋 GLUT-4 遺伝子のプロモーター領域におけるヒストン H3 のアセチル化が成獣期においても減少しており、これにより GLUT-4 遺伝子の発現量の低下さらには糖代謝能の悪化につながっている可能性が示唆されている。これらの先行研究の知見に基づき、我々は、トレーニング刺激が、ヒストンのアセチル化を長期間にわたって亢進し、その結果 GLUT-4 遺伝子が将来のトレーニング刺激に対して速やかに応答できる (速やかに転写が活性化される) 状態になっている、という仮説を立てて検証することとした。

研究課題 1 で GLUT-4 発現量を解析した骨格筋サンプル (ラット滑車上筋) を用いて、ヒストン H3 のアセチル化量をウエスタンブロットティング法にて解析した。また、GLUT-4 遺伝子のプロモーター領域におけるヒストンのアセチル化量の変化を特異的に検出するために、クロマチン免疫沈降法 (Chromatin Immunoprecipitation Assay : ChiP Assay 法) を用いて、GLUT-4 遺伝子のプロモーター領域におけるアセチル化ヒストン量を測定した。

(3) 研究課題 3

ヒストンのアセチル化が GLUT-4 の発現調節に関与しているのであれば、人為的にヒス

トンのアセチル化を亢進させることで、GLUT-4 が発現しやすい状況を作り出すことができると考えられる。そこで、研究課題 3 ではヒストンのアセチル化を亢進することが知られている酪酸ナトリウムを摂取することで、運動トレーニングによる骨格筋の GLUT-4 がさらに増加しやすくなるかどうかを検討した。Sprague-Dawley 系雄ラットを 1) 通常飼料を摂取する群、2) 酪酸ナトリウムを 5% (wt/wt) 配合した飼料摂取する群、3) 通常飼料を摂取しながら、1 日 30 分間の水泳トレーニングを週 5 日行う群、4) 酪酸ナトリウム配合飼料を摂取しながら、3) と同様の水泳トレーニングを行う群の 4 群に分けて、4 週間飼育した。4 週間の飼育後に麻酔下にて滑車筋を摘出し、ヒストンのアセチル化および GLUT-4 タンパク発現量をウエスタンブロッティング法にて測定した。

4. 研究成果

(1) 研究課題 1 の成果

10 日間のトレーニング直後のラット滑車筋における糖輸送体 GLUT-4 のタンパク発現量は、コントロール群に比べて約 2 倍有意に高い値を示した (図 1-A、 $p < 0.01$) が、1 週間の脱トレーニングにより、GLUT-4 発現量はコントロール群と同程度にまで減少し、コントロール群の間に有意な差が認められなくなった (図 1-B)。1 週間の脱トレーニング後に再度一過性の水泳運動を行ったラットでは、コントロール群に比べて有意に高い GLUT-4 量を示したのに対し ($p < 0.05$, 図 1-C)、トレーニング経験がなく一過性運動を行っただけのラットでは、一過性運動後の GLUT-4 量の有意な増加は認められなかった (図 1-C)。以上の結果から、トレーニングによって一度 GLUT-4 が増加した骨格筋では、脱トレーニングによりその適応が消失したとしても、再度運動刺激が加わった場合には、トレーニング効果が得やすい状態となっていること、すなわちメタボリックメモリーが形成されている可能性が示唆された。

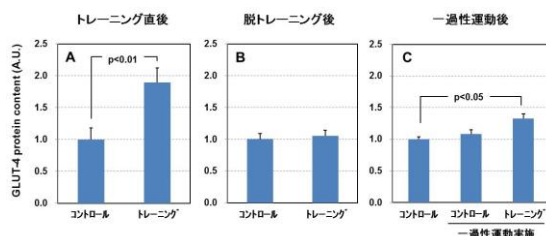


図 1: 10 日間の水泳トレーニング、1 週間の脱トレーニングおよび脱トレーニング後の一過性の水泳運動がラット骨格筋の糖輸送体 GLUT-4 発現量に及ぼす影響

(2) 研究課題 2 の成果

1 日 3 時間、10 日間の水泳トレーニングの直後および 1 週間の脱トレーニング後に解剖を行ったラットの骨格筋におけるアセチル

化ヒストン H3 量の結果を図 2 に示した。トレーニング直後および 1 週間の脱トレーニング後のラット骨格筋において、統計的に有意な差は認められなかったものの、アセチル化ヒストン H3 量がコントロール群に比べて高値を示す傾向にあった (トレーニング直後 (図 2-A) : $p = 0.06$ 、脱トレーニング後 (図 2-B) : $p = 0.09$ vs. コントロール群)。また、アセチル化ヒストン H4 量および先行研究において運動によって変化することが報告されていたヒストン H3K36 のアセチル化量の分析を試みたが、明瞭なプロット画像を得ることができなかった。

GLUT-4 遺伝子のプロモーター領域におけるアセチル化ヒストン量の変化を、クロマチン免疫沈降法 (ChiP Assay 法) を用いて解析したが、脱トレーニング後の骨格筋ではコントロール群との間に有意な差は認められなかった。

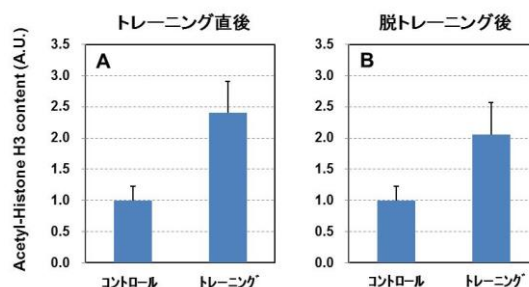


図 2: 10 日間の水泳トレーニングおよび 1 週間の脱トレーニング後におけるラット骨格筋のアセチル化ヒストン H3 量

(3) 研究課題 3 の成果

酪酸を配合した飼料を摂取したラットの骨格筋では、アセチル化ヒストン H3 量が有意に高い値を示した。したがって、酪酸摂取により骨格筋においてヒストンのアセチル化が亢進することが確認できた。研究課題 3 における GLUT-4 発現量の結果を図 3 に示した。二元配置分散分析の結果、トレーニングによる主効果が認められ、トレーニングにより骨格筋の GLUT-4 が増加することが確認できた。一方、酪酸摂取による効果も認められたが、酪酸摂取により骨格筋の GLUT-4 がむしろ減少することが明らかとなった。

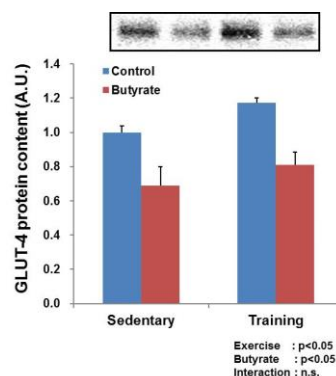


図 3: 酪酸摂取とトレーニングが骨格筋の GLUT-4 発現量に及ぼす影響

以上、研究課題2および3の結果から、トレーニングによって骨格筋の代謝機能に形成されたマッスルメモリーのメカニズムに、ヒストンのアセチル化は関与しない可能性が高いと考えられた。

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 5 件)

- ① Shin Terada, Seiji Sekine, Toshiaki Aoyama. Dietary Intake of Medium- and Long-chain Triacylglycerols Prevents the Progression of Hyperglycemia in Diabetic ob/ob Mice. *Journal of Oleo Science*, 2015 (in press) (査読有)
DOI:10.5650/jos.ess14287

- ② Yumiko Takahashi, Yutaka Matsunaga, Yuki Tamura, Eiki Urushibata, Shin Terada, Hideo Hatta. Post-exercise taurine administration enhances glycogen repletion in tibialis anterior muscle. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, 3, 2014, 531-537. (査読有)
DOI:10.7600/jpfsm.3.531

- ③ Yuki Tamura, Yutaka Matsunaga, Hiroyuki Masuda, Yumiko Takahashi, Yuki Takahashi, Shin Terada, Daisuke Hoshino, Hideo Hatta. Postexercise whole body heat stress enhances endurance training-induced mitochondrial adaptations in mouse skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 307, 2014, R931-943. (査読有)
DOI:10.1152/ajpregu.00525.2013

- ④ Kazuhiko Higashida, Izumi Tabata, Mitsuru Higuchi, Shin Terada. Regulation of skeletal muscle GLUT-4 expression by exercise and nutritional stimuli. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*. 2, 2013, 355-360. DOI:10.7600/jpfsm.2.355

- ⑤ 寺田 新、東田一彦 運動刺激に伴う骨格筋代謝機能の適応、63 巻、2013 年、608-615

[学会発表] (計 3 件)

- ① 寺田 新、運動時の脂質代謝に及ぼすトレーニングと食事の影響、第5回機能油脂懇話会、2014年11月8日、明治大学(東京都・千代田区)
- ② 野中雄大、東田一彦、寺田 新、酪酸摂

取が骨格筋における糖輸送体 GLUT-4 の発現量に及ぼす影響、第69回日本体力医学会大会、2014年9月19日、長崎大学(長崎県・長崎市)

- ③ 寺田 新、骨格筋インスリン抵抗性に対する食事療法の効果、日本農芸化学会2014年度大会、2014年3月30日、明治大学(神奈川県・川崎市)

[その他]

ホームページ等

<https://sites.google.com/site/shinteradalab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺田 新 (TERADA, Shin)

東京大学・大学院総合文化研究科・准教授
研究者番号：00460048