

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 18 日現在

機関番号：33111

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26882048

研究課題名(和文) 高強度・短時間運動が骨格筋代謝適応をもたらす分子機序の解明

研究課題名(英文) the effect of high intensity exercise on metabolic response in skeletal muscle

研究代表者

増田 紘之 (Masuda, Hiroyuki)

新潟医療福祉大学・健康科学部・助手

研究者番号：10738561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋の糖・脂質代謝を高めるには、乳酸性作業閾値(Lactate Threshold; LT)強度の持久性運動が有効であるが、これにはAMP依存性プロテインキナーゼ(AMPK)の活性化が関与する。加えて、高強度・短時間運動は、LT強度の持久性運動に比べて運動量が少ないにも関わらず、十分な代謝適応を引き起こす。本研究では、「高強度・短時間運動はAktキナーゼ(Akt)の活性化を介して骨格筋代謝適応効果を引き起こす」との仮説を検討したが、AktはLT強度から活性化されることが示唆された。また、遅筋線維ではAMPKはLT強度未満の低強度運動から活性化される可能性も示された。

研究成果の概要(英文)：Activation of AMPK is involved in the muscle metabolic response to lactate threshold intensity (LT) exercise. Furthermore, low-volume high intensity exercise is rapid metabolic responses in muscle that are comparable to following LT exercise. Our study aimed to examine the possibility that muscle metabolic response induced by high intensity exercise is mediated by the activation of Akt. However, Akt (Thr308) is activated by LT exercise. In addition, AMPK is activated by below LT exercise because phosphorylation of ACC (Ser79) measured by a commonly used indicator of AMPK is activated by below LT exercise.

研究分野：運動生理生化学

キーワード：骨格筋 代謝適応 ラット 高強度運動 Akt

1. 研究開始当初の背景

骨格筋の糖・脂質代謝を高めるには、乳酸性作業閾値 (Lactate Threshold; LT) 強度の持久性運動が有効であると考えられてきた。持久性運動を行うと、骨格筋ではミトコンドリアが増加するので、糖質や脂質を代謝する能力が上昇する。また、GLUT4 が増加することで糖取り込み能力が上昇するので、筋グリコーゲンが増加する。これらの代謝適応は持久力向上や、糖尿病・脂質異常症などの生活習慣病を防止する効果をもたらす。但し、運動強度が低すぎれば、いくら時間を延長して運動量を増やしても、ミトコンドリアや GLUT4 は十分に増加しない (Dudley et al. J Appl Physiol 1982, 川中ら 未発表データ)。十分な運動効果を得るには、少なくとも 50 ~ 70%VO_{2max} に相当する LT 強度の運動が必要である。このような持久性運動が有効である理由は、AMP 依存性プロテインキナーゼ (AMPK) の働きによって説明することができる。AMPK は LT 強度未満の運動では活性化されず、LT 強度付近から活性化される (Fujii et al. 2000)。

一方、高強度・短時間運動は、LT 強度の持久性運動に比べて運動量が少ないにも関わらず、十分な代謝適応を引き起こすことが知られている (Terada et al., 2001)。しかし、高強度・短時間運動による骨格筋代謝適応効果は、AMPK だけでは説明できず、この分子機序は不明である。

近年の先行研究によると、従来からレジスタンス運動にともなった筋肥大のトリガーとして知られる酵素である Akt キナーゼ (以下、Akt) には、ミトコンドリアの活性化や増加を引き起こす可能性が報告されている (Barazzoni et al., 2012)。そして Akt は、LT 強度を大きく超える高強度運動時に活性化されることも報告されている (Koshinaka et al., 2008)。したがって、Akt は高強度運動特異的に活性化される骨格筋代謝適応を促す酵素であることが期待される。しかしながら、Akt がどれ位の運動強度から活性化し始め、またどのような機序で活性化を生じるのかは明らかではない。運動の分子機序を探る研究は、近年、盛んに行われているが、運動強度に応じて異なる分子機序が存在するとの仮説に基づいた研究はこれまでにない。本研究において、高強度運動が有する骨格筋代謝適応効果の分子機序を明らかにすることは、科学的知見に基づいた運動処方確立するために、また、アスリートの競技パフォーマンス向上のために有効なトレーニング方法の確立と科学的根拠の説明に繋がると期待できる。

そこで本研究では、骨格筋代謝適応に関わる因子として Akt に着目し、高強度運動は Akt の活性化を介して、骨格筋代謝適応を引き起こすとの仮説を着想した。

2. 研究の目的

高強度・短時間運動による骨格筋代謝適応効果の機序解明を目的として、Akt に着目し、以下の 2 つの項目を検討する。

(1) 先ずは、実験動物であるラットを運動させ、LT (血中乳酸が上昇を始める強度)、ならびに相対的強度を決定する。

(2) (1) の結果を利用して、トレッドミル走行の相対的強度と Akt 活性化の関係を明らかにする。また、Akt 以外に高強度運動特異的に活性化される酵素が存在するか検討する。

3. 研究の方法

(1) ラット相対的強度の決定

12 週齢の雄性ラットに 5 日間の予備走行トレーニング (1 日 15 分間) を行わせる。運動中にストレスを加えずに採血を行うために、これらのラットの頸静脈に血液採取用カテーテルを装着する手術を行う。手術 3~4 日後にラットに漸増負荷トレッドミル走行を行わせる。ラットは分速 10m から走行を開始し、3 分毎に分速 2.5m ずつ速度を上昇させる。最終的には分速 32.5m まで速度を上昇させる。

採血を各速度毎に行い、血中乳酸値を測定する。そして LT (血中乳酸が上昇を始める強度) に相当するトレッドミル速度を決定する。

(2) 運動実験のプロトコル

上記で求めた LT に基づいて、LT 未満の低強度、LT 相当の中強度、または、LT 以上の高強度で 30 分間のトレッドミル走行運動を行わせる。

各々の運動終了直後に、下肢のヒラメ筋および足底筋を摘出して凍結保存した。対照群として、安静時の各筋を摘出した。

(3) ウェスタンブロッティング解析

摘出した筋についてホモジナイズ後に、可溶化処理を施した。サンプルを SDS ポリアクリルアミド電気泳動させて分子量に分けた後、PVDF 膜への電氣的転写を行った。PVDF 膜上の Akt のリン酸化タンパク質を Akt に対する特異的抗体を用いて検出した。同様に、AMPK, CaMK, p38 MAPK のリン酸化タンパク質についても、同様に各タンパク質の特異的抗体を用いて検出した。

4. 研究成果

(1) ラットの相対的強度

ラットに漸増負荷運動を行わせたところ、LT 強度は、速度 17.5m/分から 22.5m/分の範囲にあることが明らかとなった。そこで速度 17.5m/分から 22.5m/分での LT 強度に相当する運動を「中強度運動」と定義した。また、速度 10m/分での運動を LT 強度未満の「低強

度運動)、速度 27.5m/分での LT 強度を超える運動を「高強度運動」と、それぞれ決定した。

(2) 中強度運動における AMPK (Thr172) リン酸化上昇の確認

LT 強度に相当する中強度運動 (22.5m/分) を 30 分間行わせたところ、ヒラメ筋および足底筋において、Thr172 リン酸化部位における AMPK タンパク質発現量は、安静時と比べて増加した。この結果は、先行研究の結果を支持する (Fujii et al., 2000)。

(3) LT 強度に相当する中強度運動は、Akt (Thr308) リン酸化上昇を生じる

仮説に反して、LT 強度に相当する中強度運動 (22.5m/分) において、ヒラメ筋および足底筋の Thr308 リン酸化部位における Akt タンパク質発現量が安静時と比べて増加することが明らかとなった。

(4) 高強度運動時

LT 強度を超える高強度運動では、AMPK (Thr172) リン酸化状態ならびに Akt (Thr308) リン酸化状態は、中強度運動よりも更に上昇割合の増加が見られた。

(5) 低強度運動時

LT 強度未満の低強度運動において、遅筋線維であるヒラメ筋の Ser79 リン酸化部位における ACC タンパク質発現量が安静時と比べて増加した。AMPK の下流にこのリン酸化部位は位置するため、このリン酸化割合は AMPK 活性化の指標に用いられている。このことから低強度運動では、遅筋線維の AMPK が既に活性化を生じている可能性が考えられる。ACC のリン酸化は、運動強度の増加に伴い上昇割合が更に増加した。

また、低強度運動ではヒラメ筋における p38 (Thr180/Tyr182) の非常に大きな割合でのリン酸化上昇が認められた。このリン酸化も運動強度の増加に伴い上昇割合が更に増加した。

(6) まとめ

予想に反し、AMPK と同様に LT 強度に相当する中強度運動から Akt は活性化される可能性が示唆された。現在、Akt 以外に高強度運動で特異的に活性化される酵素が存在するか検討中である。

Akt が活性化したメカニズムは不明である。LT 強度を境にして、様々な因子が働き始めることで、AMPK や Akt が活性化されることが予想される。

また、ACC のリン酸化を見る限り、LT 強度未満の低強度運動で遅筋線維の AMPK が既に活性化されている可能性が考えられる。本当に AMPK が低強度運動から活性化されるかについても、検討の余地がある。

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0件)

[学会発表](計2件)

1. Masuda H, Yoshimura T, Kawanaka K. Low intensity exercise below lactate threshold (LT) increases AMPK and p38 MAPK signaling in rat soleus muscle. 16th International Conference Biochemistry of Exercise (Sao Paulo). Sep 7-9, 2015
2. 増田紘之, 吉村達彦, 飯澤拓樹, 川中健太郎. LT 未満の低強度運動は、ラットのヒラメ筋における AMPK 及び p38 を活性化させる。第 70 回日本体力医学会大会。(和歌山), 2015.9.18-20.

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者
増田紘之 (MASUDA HIROYUKI)
新潟医療福祉大学・健康科学部・助手
研究者番号: 10738561

(2) 研究分担者
()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号：