

2003年1月10日

人間科学研究科委員長 殿

寺田 新氏 博士学位申請論文審査報告書

寺田 新氏の学位申請論文を下記の審査委員会は、人間科学研究科の委嘱をうけて審査をしてきましたが、2002年12月19日に審査を終了しましたので、ここにその結果をご報告します。

記

1. 申請者氏名 寺田 新

2. 論文題名 異なる強度の身体運動トレーニングによる骨格筋代謝機能の変化とその機序

3. 本論文の主旨

身体トレーニングは、骨格筋の基質代謝機能を亢進する作用を持つことから、糖尿病予防に効果的であることが知られている。これまで、骨格筋の基質代謝機能を高める運動形態は、主に低強度で長時間行う運動であると考えられてきており、高強度運動トレーニングが骨格筋基質代謝機能に及ぼす影響について検討した報告はない。さらに、身体トレーニングに関するこの種の研究では、トレーニングによって代謝機能がどの程度改善されたかといった記述的なものが多く、そのメカニズムを明らかにしようとしたものも少ない。

そこで本研究は、高強度・短時間トレーニングが骨格筋の糖輸送体 (GLUT-4) 濃度、糖取り込み速度、およびミトコンドリアの代表的な酸化系酵素活性に及ぼす影響について、これまでの骨格筋の基質代謝機能を高める主な運動形態と考えられている低強度・長時間トレーニングと比較検討すること、さらには、両トレーニングによる骨格筋基質代謝機能改善の機序を明らかにすることを目的として行われた。

4. 本論文の概要

本論文は、第1章の緒言、第2章の文献考証、第3章の研究の目的および研究課題、第4章～第7章の4つの研究課題、第8章の総合討論、第9章の総括、および第10章の結

論から構成されている。

第2章の文献考証では、骨格筋における糖取り込み機能、身体運動トレーニングによる GLUT-4 とミトコンドリアの増加機序、および GLUT-4 とミトコンドリアの増加を引き起こす細胞内情報伝達経路等について、これまでの動物実験およびヒトでの結果を併せて、従来の知見を極めて詳細に記述している。そして、先行研究における問題点を指摘するとともに、これまでの研究において十分に解明されていない点を浮きぼりにしている。その上で、高強度・短時間運動ならびにミトコンドリアの新生に重要な役割を果たすと考えられる Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 (PGC-1)に着目し、身体トレーニングによる骨格筋基質代謝機能改善の機序を明らかにすることを目的に、4つの研究課題を設定した。

第4章～第7章では、4つの研究課題それぞれについて詳細に記述している。以下にその概要を記す。

【研究課題1】研究課題1では、骨格筋の GLUT-4、糖取り込み機能ならびにミトコンドリアの代表的な酸化系酵素であるクエン酸合成酵素活性に及ぼす高強度・短時間水泳トレーニングの影響について、これらの骨格筋基質代謝機能を高める上で最も効果的であると考えられている低強度・長時間水泳トレーニングと比較検討した。そこで、Sprague-Dawley (SD) 系雄ラットに体重あたり 14～16%に相当する重りを装着して繰り返しの高強度・短時間 (20 秒×14 回) 水泳トレーニング、もしくは、無負荷での低強度・長時間 (3 時間×2 回) 水泳トレーニングを 8 日間行わせた。その結果、高強度・短時間水泳トレーニングにより、前肢骨格筋 epitrochlearis (EPI) の GLUT-4 濃度、最大筋収縮およびインスリン刺激による糖取り込み速度、さらにはクエン酸合成酵素活性が、低強度・長時間水泳トレーニングと同程度に上昇した。このことにより、総運動時間が 280 秒と短時間のトレーニングでも強度が高い場合には、6 時間の低強度・長時間トレーニングと同程度に、骨格筋の糖取り込み機能ならびにミトコンドリア酸化系酵素活性が増加することが明らかとなった。

【研究課題2】研究課題2では、身体運動トレーニングに伴う骨格筋ミトコンドリアの増加に関わる PGC-1 の影響について検討した。そこで、SD 系雄ラットに【研究課題1】と同様の低強度・長時間水泳運動を行わせた。その結果、運動直後における EPI の PGC-1 mRNA の発現量は、コントロール群およびイマージョン群 (水泳群と同じ時間 35℃の水に剣状突起部位まで浸水させた群) と比較して約 7 倍高い値を示した。また、骨格筋 PGC-1 タンパク発現量も運動直後において 85%増加し、運動後 18 時間目の段階においてもコントロール群と比較して有意に高い値を維持していた。これらの結果から、身体運動は PGC-1

の発現量を増加させることで、ミトコンドリアの増加を引き起こしていると考えられた。また、高強度・短時間水泳運動が、低強度・長時間水泳運動と同程度に骨格筋 PGC-1 発現量を増加させることも明らかにしており、このことから、身体運動はその運動強度や時間が異なっても、PGC-1 の発現量に依存してミトコンドリア酸化系酵素を増加させていること、さらには、身体運動がミトコンドリアと GLUT-4 を増加させる同一の機序として、PGC-1 はその有力な候補であると考えられた。

【研究課題 3】研究課題 3 では、運動に伴う PGC-1 発現量の増加が、GLUT-4 やミトコンドリアと同様に、筋収縮活動そのものによって引き起こされているのか否かについて検討した。そこで、SD 系雄ラットに低強度・長時間の水泳運動とトレッドミル走行運動を行わせた。その結果、水泳運動では前肢の EPI においてのみ、一方、走行運動では後肢のヒラメ筋においてのみ、PGC-1 の発現量が増加することが明らかとなった。さらに、体液性因子の影響を除去できる *in vitro* の実験系において、単離した EPI に 10 秒間の強縮を 1 分間に 1 回の割合で 30 回行わせたとこ、PGC-1 mRNA の有意な増加が認められた。これらの結果は、運動による骨格筋 PGC-1 発現量の増加は、GLUT-4 やミトコンドリアと同様に、体液性因子によるものではなく、筋収縮活動そのものによって引き起こされていることを示唆するものである。

【研究課題 4】研究課題 4 では、筋収縮活動によって惹起される細胞内情報伝達経路のうち、どの経路が PGC-1 発現量を増加させ、さらには GLUT-4 およびミトコンドリアを増加させるのかについて検討した。そこで、5'-AMP 依存性プロテインキナーゼ (AMPK) と Ca^{2+} が骨格筋 PGC-1 発現量に及ぼす影響を明らかにするため、AMPK を活性化させる 5-Aminoimidazole-4-Carboxamide ribonucleoside (AICAR) および筋小胞体から Ca^{2+} を放出させる Caffeine とともに、摘出した EPI を 18 時間組織培養液でインキュベーションした。その結果、AICAR および Caffeine 投与ともに、PGC-1 タンパク発現量を有意に増加させることが明らかとなった。また、同様の方法でヒラメ筋についても検討した結果、EPI における結果とは異なり、PGC-1 発現量は AICAR では増加しなかったが、Caffeine では有意に増加することが明らかとなった。このことは、筋線維組成により、骨格筋 PGC-1 を増加させる細胞内シグナル伝達経路が異なる可能性を示唆するものである。

第 8 章では、各研究課題によって得られた成果を相互に検討し、1) 高強度・短時間トレーニングが骨格筋 GLUT-4 濃度、糖取り込み速度ならびにミトコンドリア酸化系酵素活性に及ぼす影響について、2) 高強度・短時間および低強度・長時間トレーニングが骨格筋基質代謝機能を改善させる機序の解明、の 2 つの観点から総合討論を行い、その上で、今後さらに検討すべき課題等についても言及している。

5. 本論文の評価

本論文における主な知見は、1)総運動時間が280秒と極めて短い運動であっても、強度が高い場合には、6時間の低強度運動と同程度に骨格筋の GLUT-4 ならびにミトコンドリア酸化系酵素活性が増加すること、2)PGC-1 が高強度・短時間および低強度・長時間運動でともに同程度に増加することから、身体運動トレーニングによる GLUT-4 とミトコンドリアの増加も、転写補助因子 PGC-1 の発現量による調節を受けている可能性が示唆されること、3)運動による骨格筋 PGC-1 発現量の増加は、体液性因子によるものではなく、筋収縮活動そのものによって引き起こされること、4)筋収縮が骨格筋 PGC-1 を増加させる細胞内情報伝達経路として AMPK と Ca^{2+} の 2 つが存在し、筋線維組成によって、それぞれの情報伝達経路による PGC-1 発現増加に対する貢献度が異なる可能性が示唆されたことである。

このように本論文は、分子生物学的手法等を駆使するとともに綿密な実験計画により、これまで最も適切と考えられてきた低強度・長時間運動と同等に、高強度・短時間運動でも骨格筋基質代謝機能を改善させることを初めて明らかにしたという点で、さらには、そこに関わる主要なメカニズムと筋線維組成による細胞内情報伝達経路の違いを示唆したという点で意義深いものである。そして、これらの成果は既に国際的な学会誌 (J.Appl.Physiol., Biochem.Biophys.Res.Commun.) 等に発表され、関連する分野の研究者からも極めて高い評価を得ている。また、本論文は、骨格筋の基質代謝機能の向上を目的とした運動処方において、これらの細胞内情報伝達経路をどの程度活性化させられるかという視点をも提示するものである。以上のことから、本論文は博士 (人間科学) の学位論文として相応しいと判断される。

以上

寺田 新 氏 博士学位申請論文審査委員会

(主査) 早稲田大学教授 博士(医学)(東医大) 村岡 功

(副査) 早稲田大学教授 理学博士(東京大) 木村 一

(副査) 早稲田大学教授 教育学博士(東京大) 中村 好男

(副査) 国立健康・栄養研究所室長

教育学博士(東京大) 田畑

