

110. 慢性運動によるインスリン非依存的な糖代謝亢進機序

木戸 康平

福岡大学 スポーツ科学部

Key words : AMPK, GLUT4, 糖取り込み, 機能的過負荷, 骨格筋肥大

結 言

齧歯類に対するレジスタンストレーニングモデルである骨格筋への慢性的な過負荷（機能的過負荷）は、筋肥大を引き起こすとともに単位筋重量あたりのインスリン非依存的な糖取り込みも高める。しかしながら、機能的過負荷に伴う糖取り込みの亢進が生じる分子メカニズムは明らかでない。

AMPK の活性化は、骨格筋の糖取り込みを高めることから、2 型糖尿病患者の治療標的としても広く知られている [1]。さらに、AMPK は有酸素性トレーニングによる糖代謝の亢進を制御していることも報告されている [2]。レジスタンストレーニングや機能的過負荷も、ヒトおよび齧歯類において骨格筋の AMPK を活性化する [3, 4]。しかし、レジスタンストレーニングや機能的過負荷に伴う AMPK の活性化と糖取り込みの促進との因果関係は明らかでない。AMPK の活性化は、グルコーストランスポーター4 (GLUT4) 遺伝子の発現を増加させることや [5]、AMPK α 欠損マウスの骨格筋では、有酸素性トレーニングによる GLUT4 遺伝子発現の増加が減弱すること [6] などを踏まえると、レジスタンストレーニングや機能的過負荷による AMPK 活性も、骨格筋の GLUT4 発現増加を介して糖取り込みを促進している可能性が推測される。

機能的過負荷は、骨格筋の mTORC1 活性を介して筋タンパク質合成を促進し、骨格筋の肥大を引き起こす。一方で、AMPK の活性化は、mTORC1 の活性化を抑制することが細胞実験等で明らかになっている [7]。つまり、機能的過負荷に伴う AMPK 活性は、筋肥大に対して抑制的に作用することが推測される。この仮説に基づいて、AMPK 欠損モデル動物にて AMPK 活性と筋肥大の関係性を検討した先行研究がいくつか存在する。しかし、これらの先行研究の結果には一貫性がなく、その因果関係については未だに議論が続いている。

そこで本研究では、機能的過負荷による骨格筋の肥大と糖取り込み促進効果に対する AMPK の役割を、AMPK のドミナントネガティブ変異体 (AMPK DN) を発現する遺伝子改変マウスを用いて検討することを目的とした。

方 法

雄性の野生型 (WT) および AMPK DN マウスを対象とし、足底筋の協働筋であるヒラメ筋と腓腹筋を摘出し、足底筋への過負荷を施した。なお、協働筋切除手術は片脚のみに施し、対側脚には擬手術を施すことで対照コントロールとした。手術後 14 日間飼育した後、麻酔下にて放射性同位体で標識された 2 デオキシグルコースを眼窩投与することで、足底筋の糖取り込み速度を測定した。また、足底筋の湿重量も同時に測定した。

結 果

1. 機能的過負荷による足底筋の糖取り込み上昇は AMPK DN マウスで低値を示した

WT マウスにおいて、14 日間の足底筋への機能的過負荷は、単位筋重量あたりの糖取り込みを有意に亢進した (図 1a)。同様に、AMPK DN マウスの足底筋も機能的過負荷によって糖取り込みを促進したが (図 1a)、その促進の程度は WT マウスと比較して有意に低値を示した (図 1b)。

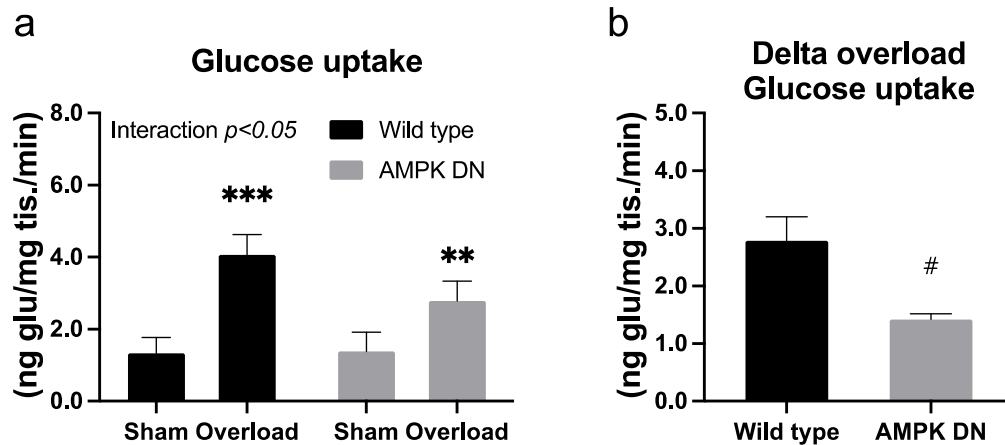


図1. 14日間の機能的過負荷後の足底筋の糖取り込み

a) Wild type および AMPK DN の足底筋の糖取り込み速度。

b) Overload による足底筋の糖取り込み速度の変化量。

Sham : 擬手術、Overload : 機能的過負荷、Wild type : 野生型。統計処理は、二元配置分散分析の後、Bonferroni-Sidak 法による多重比較検定により実施した。値は、平均値 ± 標準誤差で示した。*** $P < 0.001$ 、* $P < 0.01$ vs. Sham ; # $P < 0.05$ vs. Wild type。

2. 機能的過負荷による筋グリコーゲンの増加応答は AMPK DN で消失した

WT マウスにおいて、14日間の足底筋への機能的過負荷は、筋グリコーゲン量を有意に高めた (図2a)。しかしながら、AMPK DN マウスでは機能的過負荷に伴う筋グリコーゲン量の増加が確認されなかった (図2a)。さらに、機能的過負荷による筋グリコーゲンの変化量を確認したところ、WT マウスと比較して AMPK DN マウスで有意に低値を示した (図2b)。

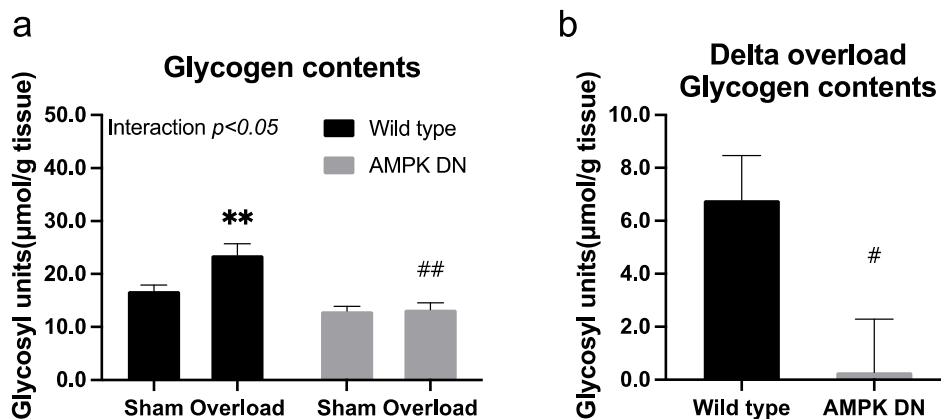


図2. 14日間の機能的過負荷後の足底筋のグリコーゲン貯蔵量

a) Wild type および AMPK DN の足底筋内グリコーゲン量。

b) Overload による足底筋内グリコーゲンの変化量。

Sham : 擬手術、Overload : 機能的過負荷、Wild type : 野生型。統計処理は、二元配置分散分析の後、Bonferroni-Sidak 法による多重比較検定により実施した。値は、平均値 ± 標準誤差で示した。** $P < 0.01$ vs. Sham ; ## $P < 0.01$ 、# $P < 0.05$ vs. Wild type。

3. 機能的過負荷に伴う GLUT4 発現量増加に対する AMPK の影響

WT マウスおよび AMPK DN マウスの足底筋に対する機能的過負荷は、GLUT4 の発現量を有意に高めた (図 3a)。しかしながら、機能的過負荷による GLUT4 発現増加の程度は、WT マウスと比較して AMPK DN マウスで有意に低値を示した (図 3b)。

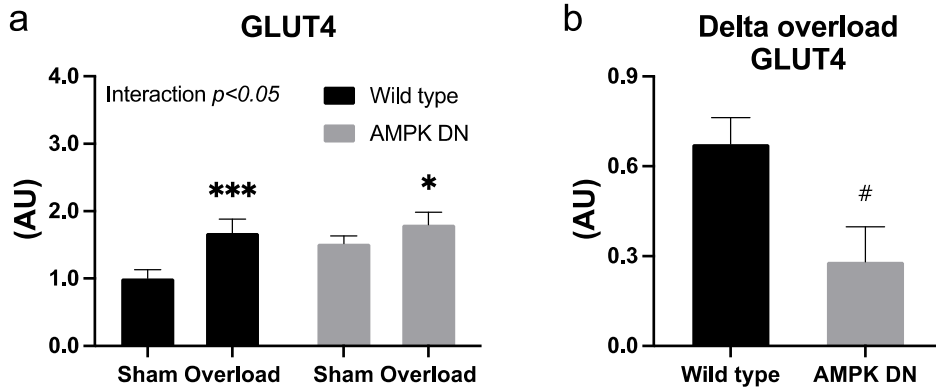


図 3. 機能的過負荷に伴う GLUT4 発現量の変化

- a) Wild type および AMPK DN の足底筋内 GLUT4 発現量。
- b) Overload による足底筋内 GLUT4 発現の変化量。

Sham : 擬手術、Overload : 機能的過負荷、Wild type : 野生型。統計処理は、二元配置分散分析の後、Bonferroni-Sidak 法による多重比較検定により実施した。値は、平均値 ± 標準誤差で示した。*** $P < 0.001$ 、* $P < 0.05$ vs. Sham ; # $P < 0.05$ vs. Wild type。

4. 14 日間の機能的過負荷に伴う筋肥大は AMPK DN で促進されない

WT マウスおよび AMPK DN マウス骨格筋に対する機能的過負荷は、足底筋重量を有意に高めた (図 4a)。しかしながら、足底筋の絶対筋重量および肥大の程度に対する AMPK DN の影響は観察されなかった (図 4a、b)。

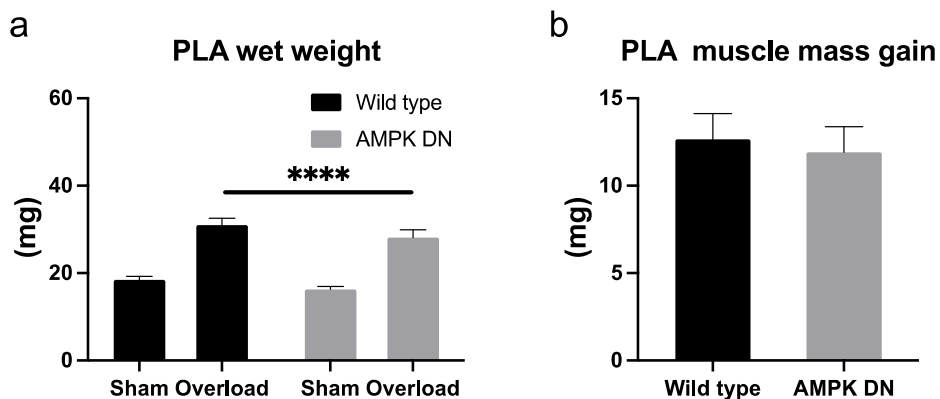


図 4. 機能的過負荷に伴う足底筋湿重量の変化

- a) Wild type および AMPK DN の足底筋湿重量。
- b) Overload による足底筋湿重量の変化量。

Sham : 擬手術、Overload : 機能的過負荷、Wild type : 野生型。統計処理は、二元配置分散分析の後、Bonferroni-Sidak 法による多重比較検定により実施した。値は、平均値 ± 標準誤差で示した。**** $P < 0.01$ vs. Sham (横線は主効果を示す)。

考 察

本研究では、14 日間の機能的過負荷によって足底筋の糖取り込み速度とグリコーゲン貯蔵量の増大が確認された。同様に、5 日間もしくは 14 日間の機能的過負荷が骨格筋の糖取り込みとグリコーゲン貯蔵量を増加させることが先行研究でも報告されている [8, 9]。Riedl らは、14 日間の機能的過負荷が骨格筋の AMPK 活性を高めることを報告している [8]。さらに本研究では、過負荷に伴う骨格筋の糖取り込み速度とグリコーゲンの増加は、AMPK DN マウスで減弱することが明らかになった。つまり本研究は世界で初めて、骨格筋への過負荷に伴う AMPK の活性化が、糖取り込みの亢進とグリコーゲン量の増大を制御していることを直接的に明らかにした。

一般的に、糖は細胞膜に局在する GLUT を介して、細胞内に取り込まれる。GLUT にはさまざまな分子種が存在するが、GLUT4 は骨格筋に最も多く発現している GLUT の分子種である。先行研究にて、AMPK の活性化は GLUT4 の遺伝子発現を増加させることが報告されている [5]。本研究では、機能的過負荷に伴う GLUT4 の発現増加の程度が、WT マウスと比較して AMPK DN マウスで有意に低値を示した。このことから、過負荷に伴う糖取り込みおよび筋グリコーゲン量の増加は、AMPK 活性-GLUT4 発現増加を介した分子メカニズムで一部説明できる可能性が示唆された。

AMPK は mTORC1 の活性化を抑制し、その結果としてタンパク質合成が抑制されることが細胞実験などの結果から定説となっている。このことから、AMPK の活性化は筋肥大応答を抑制すると考えられてきた。しかしながら、生理学的な刺激による AMPK 活性が骨格筋肥大に与える影響については一貫した実験結果が得られてこなかった。本研究の結果は、機能的過負荷に伴う AMPK の活性化は筋肥大に影響を与えないという先行研究の結果を支持する結果となった [8]。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、京都大学大学院人間・環境学研究科健康運動学研究室の江川達郎助教および京都大学大学院人間・環境学研究科運動医科学研究室の林達也教授である。

文 献

- 1) Winder WW, Hardie DG. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol.* 1999 Jul;277(1):E1-10. doi: 10.1152/ajpendo.1999.277.1.E1. PMID: 10409121.
- 2) Hingst JR, Kjøbsted R, Birk JB, Jørgensen NO, Larsen MR, Kido K, Larsen JK, Kjeldsen SAS, Fentz J, Frøsig C, Holm S, Fritzen AM, Dohmann TL, Larsen S, Foretz M, Viollet B, Schjerling P, Overby P, Halling JF, Pilegaard H, Hellsten Y, Wojtaszewski JFP. Inducible deletion of skeletal muscle AMPK α reveals that AMPK is required for nucleotide balance but dispensable for muscle glucose uptake and fat oxidation during exercise. *Mol Metab.* 2020 Oct;40:101028. doi: 10.1016/j.molmet.2020.101028. Epub 2020 Jun 3. PMID: 32504885; PMCID: PMC7356270.
- 3) Wilkinson SB, Phillips SM, Atherton PJ, Patel R, Yarasheski KE, Tarnopolsky MA, Rennie MJ. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. *J Physiol.* 2008 Aug 1;586(15):3701-17. doi: 10.1113/jphysiol.2008.153916. Epub 2008 Jun 12. PMID: 18556367; PMCID: PMC2538832.
- 4) McGee SL, Mustard KJ, Hardie DG, Baar K. Normal hypertrophy accompanied by phosphorylation and activation of AMP-activated protein kinase α 1 following overload in LKB1 knockout mice. *J Physiol.* 2008 Mar 15;586(6):1731-41. doi: 10.1113/jphysiol.2007.143685. Epub 2008 Jan 17. PMID: 18202101; PMCID: PMC2327866.

- 5) McGee SL, van Denderen BJ, Howlett KF, Mollica J, Schertzer JD, Kemp BE, Hargreaves M. AMP-activated protein kinase regulates GLUT4 transcription by phosphorylating histone deacetylase 5. *Diabetes*. 2008 Apr;57(4):860-7. doi: 10.2337/db07-0843. Epub 2008 Jan 9. PMID: 18184930.
- 6) Fentz J, Kjøbsted R, Kristensen CM, Hingst JR, Birk JB, Gudiksen A, Foretz M, Schjerling P, Violette B, Pilegaard H, Wojtaszewski JF. AMPK α is essential for acute exercise-induced gene responses but not for exercise training-induced adaptations in mouse skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015 Dec 1;309(11):E900-14. doi: 10.1152/ajpendo.00157.2015. Epub 2015 Sep 29. PMID: 26419588.
- 7) Inoki K, Zhu T, Guan KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell*. 2003 Nov 26;115(5):577-90. doi: 10.1016/s0092-8674(03)00929-2. PMID: 14651849.
- 8) Riedl I, Osler ME, Björnholm M, Egan B, Nader GA, Chibalin AV, Zierath JR. AMPK γ 3 is dispensable for skeletal muscle hypertrophy induced by functional overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2016 Mar 15;310(6):E461-72. doi: 10.1152/ajpendo.00387.2015. Epub 2016 Jan 12. PMID: 26758685; PMCID: PMC4796264.
- 9) McMillin SL, Schmidt DL, Kahn BB, Witzak CA. GLUT4 Is Not Necessary for Overload-Induced Glucose Uptake or Hypertrophic Growth in Mouse Skeletal Muscle. *Diabetes*. 2017 Jun;66(6):1491-1500. doi: 10.2337/db16-1075. Epub 2017 Mar 9. PMID: 28279980; PMCID: PMC5440020.