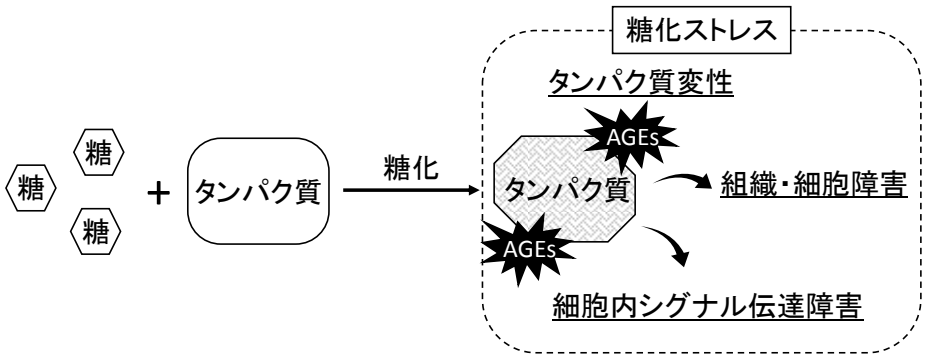
109　自発運動による糖化ストレス軽減作用の検証	江川　達郎

【目的】糖化反応に起因する組織、細胞障害やタンパク質変性、細胞内シグナル伝達障害などの生体ストレスは糖化ストレスと呼ばれ、生活習慣病や加齢性疾患の病態形成に関与している。糖化反応の最終生成物である終末糖化産物（advanced glycation end products：AGEs）の体内への蓄積は高齢者の筋量や筋力、歩行速度の低下と相関することが報告されており、糖化ストレスはサルコペニアの誘発因子であると考えられている。運動トレーニングは骨格筋機能維持に有益であるが、これまでに運動トレーニングが糖化ストレスの除去・緩和に有効であるかについては明確になっていない。そこで本研究では、自発的な運動トレーニングが骨格筋の AGEs 蓄積量や AGEs 受容体発現量、AGEs 分解酵素活性に与える効果を検討し、運動トレーニングが骨格筋の糖化ストレスの軽減に有効であるのかについて明らかにすることを目的とした。

【方法】5 週齢雄性 C57BL/6NCr マウスを、ランダムに 1）コントロール群、2）自発運動群、3）糖化ストレス負荷群、4）糖化ストレス負荷＋自発運動群の 4 群に分類し、4 週間飼育した。糖化ストレス負荷群には糖化産物の一種である methylglyoxal（MGO、0.1％w/w）を添加した飲料水を自由摂取させた。自発運動群には、飼育ケージ内に回転ケージを設置し自発運動を行わせた。

【結果】非運動群では糖化ストレス負荷によるヒラメ筋の AGEs 蓄積状態は変化しなかったものの、運動群では糖化ストレス負荷状態において AGEs 量が有意に減少した。糖化ストレス負荷により、AGEs 生成に関わる AGEs 受容体 receptor for AGEs 発現が増加したが、運動群ではその増加が抑えられた。AGEs 除去や分解に関わる AGEs 受容体 oligosaccharyltransferase-48 に関しては、MGO 負荷により減少し、運動により増加した。以上の結果は、運動トレーニングが骨格筋の AGEs 受容体発現変化をもたらし、AGEs の生成抑制や分解能の向上に有効であることを示唆している。

糖化ストレスの生成機序



109. 自発運動による糖化ストレス軽減作用の検証

江川　達郎

京都大学 大学院人間・環境学研究科

Key words：糖化，運動，骨格筋，AGEs

緒　言

生体内のタンパク質は、グルコースなどの還元糖と結合することにより性質が変化する。この反応は「糖化」と呼ばれ、生体内で常に生じている化学反応である。糖化反応が進むことにより糖化反応の最終生成物である終末糖化産物（advanced glycation end products：AGEs）の修飾を受けたタンパク質が生成する。糖化反応に起因する生体ストレス（組織・細胞障害やタンパク質変性、細胞内シグナル伝達障害など）は糖化ストレスと呼ばれ、生活習慣病や加齢性疾患の病態形成に関与する［1］。糖化ストレスと骨格筋に関する研究では、体内へのAGEsの蓄積が高齢者の筋量や筋力、歩行速度の低下と相関することが報告されており［2，3］、糖化ストレスはサルコペニアの誘発因子であると考えられている。

適切な運動の実施は、身体機能を向上させ様々な疾病の予防に貢献することは周知の事実である。しかし、運動が糖化ストレスの除去・緩和に有効であるかについての十分なエビデンスは整っていない。これまでに、持久トレーニングを行っている人ほど皮膚へのAGEs蓄積量が少ないこと［4］、1日60分、週5回、5週間の持久トレーニングにより、肥満糖尿病モデルマウスにおいて血中 AGEs 量が低下することが明らかになっているが［5］、その分子メカニズムは不明であるとともに、運動の主体器官である骨格筋を対象にした検討は行われていない。

そこで本研究では、自発的な運動トレーニングが骨格筋のAGEs蓄積量やAGEs受容体発現量、AGEs分解酵素活性に与える効果を検討し、運動トレーニングが骨格筋の糖化ストレスの軽減に有効であるのかについて明らかにすることを目的とした。

方　法

5週齢雄性C57BL/6NCrマウスを、ランダムに1）コントロール群、2）自発運動群、3）糖化ストレス負荷群、4）糖化ストレス負荷＋自発運動群の4群（各群 n = 6）に分類し、4週間飼育した。糖化ストレス負荷群には糖化産物の一種であるmethylglyoxal（MGO、0.1％w/w）を添加した飲料水を自由摂取させた。自発運動群には、飼育ケージ内に回転ケージを設置し自発運動を行わせた。4週間の飼育後、麻酔下でヒラメ筋を摘出し、筋湿重量を測定した後、液体窒素で急速凍結させ、解析に用いるまで−80℃の冷凍庫で保存した。

結　果

1. 筋中のAGEs蓄積量

筋中へのAGEsの蓄積状態を評価するために、AGEsの代表物質であるNε-carboxy-methyl-lysine（CML）およびNε-carboxy-ethyl-lysine（CEL）量をELISA法により測定した。その結果、非運動群ではMGO負荷によるCML、CEL蓄積状態は変化しなかったものの、運動群ではMGO負荷状態においてCML量とCEL量が有意に減少した（図1）。

2. 筋中のAGEs受容体発現量

AGEsを認識する受容体は大きく分類すると、AGEsと結合して炎症性シグナルを惹起するものとAGEsを除去す

るものがある。前者では receptor for AGEs（RAGE）、後者では oligosaccharyltransferase-48（OST-48）が知られている。このため、本研究においても RAGE および OST-48 発現量をウエスタンブロット法により測定し、AGEs に対する感受性変化を検討した。結果、MGO 負荷により RAGE 発現が増加した（図 2）。一方、運動群では MGO 負荷による RAGE 発現増加は起こらなかった（図 2）。OST-48 に関しては、MGO 負荷により有意に減少し、運動により有意に増加した（図 2）。

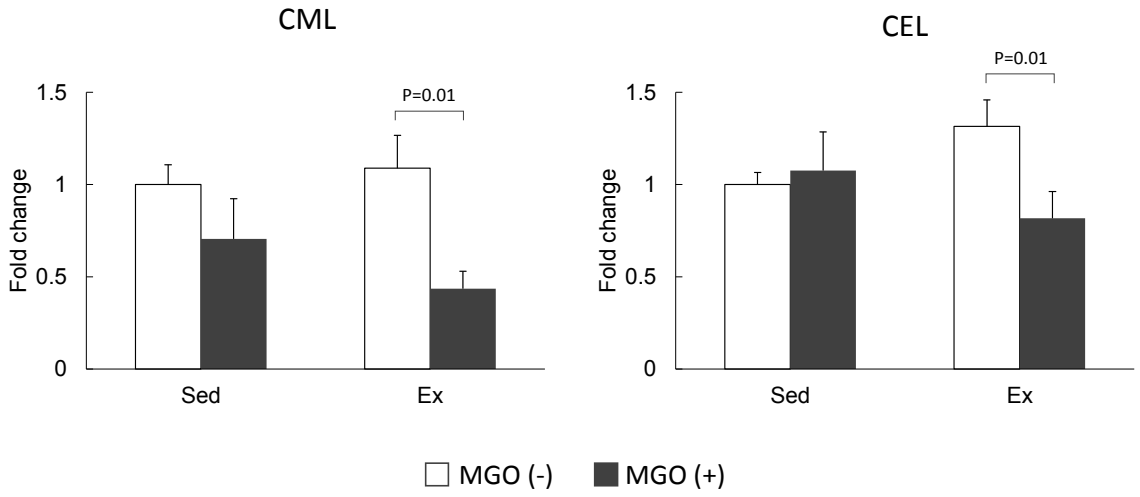


図 1. 筋中の AGEs 蓄積量

（左）Nε-carboxy-methyl-lysine（CML）（右）Nε-carboxy-ethyl-lysine（CEL）。

Sed：非運動群、Ex：運動群、MGO：methylglyoxal。

統計処理は two-way ANOVA（Tukey's post hoc test）を行った。

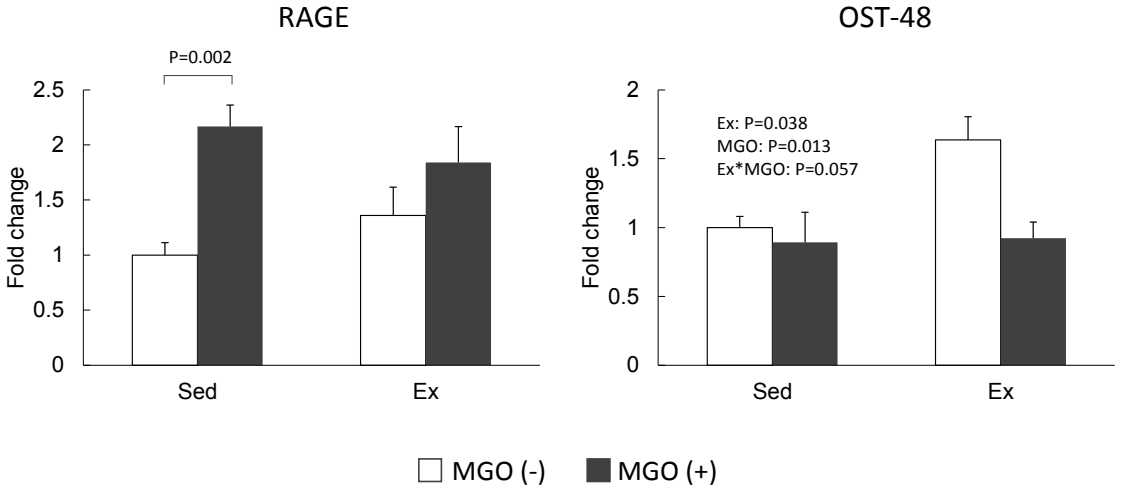


図 2. 筋中の AGEs 受容体発現

（左）receptor for AGEs（RAGE）（右）oligosaccharyltransferase-48（OST-48）。

Sed：非運動群、Ex：運動群、MGO：methylglyoxal。

統計処理は two-way ANOVA（Tukey's post hoc test）を行った。

3. 筋中の glyoxalase 1 活性

AGEs 蓄積を抑制する働きを持つ酵素として glyoxalase 1 がある。Glyoxalase 1 は MGO を分解して無害な乳酸に変換する作用があり、結果として AGEs の生成および蓄積を抑制する。次に、この glyoxalase 1 の活性変化について検討した。結果、glyoxalase 1 活性は MGO 負荷により低下し、運動群でも低下が認められた（図 3）。

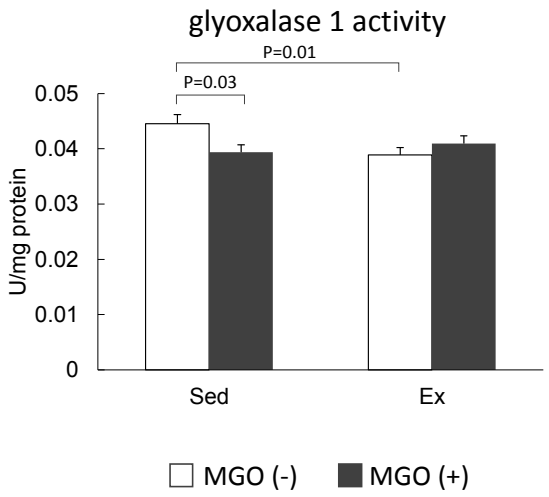


図 3. 筋中の glyoxalase 1 活性

Sed：非運動群、Ex：運動群、MGO：methylglyoxal。

統計処理は two-way ANOVA（Tukey's post hoc test）を行った。

考　察

本研究の結果、骨格筋中の AGEs 蓄積状態は運動トレーニング単独では変化しなかった（図 1）。しかし、糖化ストレス負荷を施した場合、運動単独よりも有意に蓄積量が減少した（図 1）。これは興味深い結果であり、運動と糖化ストレス負荷が相乗的に作用し合い、AGEs の生成抑制や分解亢進をもたらした可能性が考えられる。この変化を引き起こした要因としては、RAGE 発現の変化が関与している可能性がある。RAGE 発現は非運動群では糖化ストレス負荷により増加したが、運動群ではその増加が抑えられた（図 2）。RAGE は炎症性シグナルを惹起するとともに、酸化ストレスを増強させるため、RAGE 発現の増加は AGEs 生成と密接にかかわっている。運動トレーニングにより RAGE 発現の増加が抑制されたために、AGEs－RAGE－酸化ストレス－AGEs 生成という負のループが回避された可能性がある。一方、AGEs 除去に関わる OST-48 は運動トレーニングにより増加した（図 2）。したがって、長期的な持久トレーニングを実施することは、AGEs 除去能を高めることに有効であることが示唆される。

一方、MGO の分解に関わる glyoxalase 1 活性は運動および MGO 負荷のいずれの刺激によっても低下した（図 3）。これは予想外の結果であったが、MGO 負荷により glyoxalase 1 活性が低下した点に関しては、MGO の長期負荷により身体への MGO 耐性が構築され、そのために MGO を分解するシステムの働きが抑制された可能性がある。また、運動による glyoxalase 1 活性が低下した点に関しては、運動により受容体を介した AGEs 除去能が高まったために MGO を分解する能力が代償的に抑制された可能性が考えられる。

本研究の結果、自発的な運動トレーニングは骨格筋の AGEs 受容体発現変化をもたらし、AGEs の生成抑制や分解能の向上に有効である可能性が示された。今後は、運動による糖化ストレス軽減効果が筋機能の向上に有益であるかについて検討を進める必要がある。

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・環境学研究科運動医科学研究室の林達也教授および豊橋創造大学大学院健康科学研究科生理学研究室の後藤勝正教授である。

文 献

1) Fleming TH, Humpert PM, Nawroth PP, Bierhaus A. Reactive metabolites and AGE/RAGE-mediated cellular dysfunction affect the aging process: a mini-review. Gerontology. 2011;57(5):435-43. Epub 2010/10/22. doi: 10.1159/000322087. PubMed PMID: 20962515.

2) Momma H, Niu K, Kobayashi Y, Guan L, Sato M, Guo H, et al. Skin advanced glycation end product accumulation and muscle strength among adult men. Eur J Appl Physiol. 2011;111(7):1545-52. Epub 2010/12/29. doi: 10.1007/s00421-010-1779-x. PubMed PMID: 21188413; PubMed Central PMCID: PMC3114099.

3) Kato M, Kubo A, Sugioka Y, Mitsui R, Fukuhara N, Nihei F, et al. Relationship between advanced glycation end-product accumulation and low skeletal muscle mass in Japanese men and women. Geriatrics & gerontology international. 2017;17(5):785-90. Epub 2016/04/28. doi: 10.1111/ggi.12787. PubMed PMID: 27119258.

4) Couppe C, Svensson RB, Grosset JF, Kovanen V, Nielsen RH, Olsen MR, et al. Life-long endurance running is associated with reduced glycation and mechanical stress in connective tissue. Age. 2014;36(4):9665. Epub 2014/07/06. doi: 10.1007/s11357-014-9665-9. PubMed PMID: 24997017; PubMed Central PMCID: PMC4150896.

5) Boor P, Celec P, Behuliak M, Grancic P, Kebis A, Kukan M, et al. Regular moderate exercise reduces advanced glycation and ameliorates early diabetic nephropathy in obese Zucker rats. Metabolism. 2009;58(11):1669-77. Epub 2009/07/18. doi: 10.1016/j.metabol.2009.05.025. PubMed PMID: 19608208.