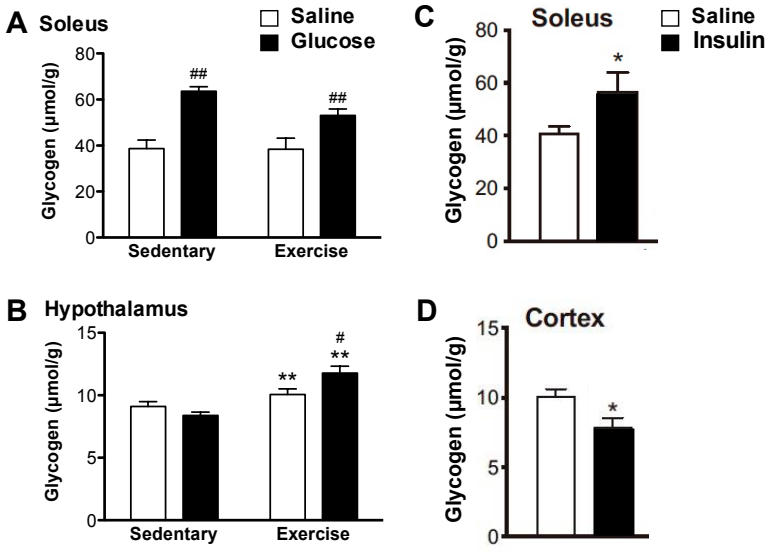
120　運動が引き出す脳グリコーゲン超回復の神経機構解明	松井　崇

【目的】脳内のアストロサイトに貯蔵されるグリコーゲンは、神経のエネルギーや修飾因子となる乳酸を産生･供給することで、記憶を担う神経－グリア連関を形成する（Magistretti ら、Nat Rev Neurosci、2018）。私は、急性運動により脳 GLY がモノアミン作動性に減少して身心の機能低下（疲労）に関与し（Matsui ら、J Physiol、2011 ; PNAS、2017）、その減少度に応じて運動前よりも高く回復する「脳グリコーゲン超回復」を見出した（Matsui ら、J Physiol、2012）。運動後の骨格筋におけるグリコーゲン超回復には、糖質摂取により高まるインスリンが重要な役割を果たし（Ivy と Kuo、Acta Physiol Scand、1998）、培養アストロサイトではインスリンがグリコーゲン合成を高めることから（Hamai ら、J Neurochem、1999）、脳でも同様に糖質摂取とインスリンが運動後のグリコーゲン超回復に関与することが想定された。

【方法】まず、成熟した雄性 Wistar ラットを運動群と安静群の 2 群に分け、疲労困憊に至るトレッドミル運動（分速 20 m）を課した。運動終了時、ラットに 50%ブドウ糖か生理食塩水を投与し、6 時間後にマイクロ波照射により屠殺後、脳（皮質、海馬、視床下部）とヒラメ筋のグリコーゲン、血中のインスリン濃度を定量した。次に、ストレスのない静脈投与を可能とするために外頸静脈にカテーテルを留置した安静ラットに、インスリン（30 U/kg）を投与し、2 時間後の脳とヒラメ筋のグリコーゲン濃度を定量した。

【結果】筋では、ブドウ糖投与が安静群のグリコーゲンを増加させ、運動群のグリコーゲン超回復を引き起こした（図 A）。脳では、グルコース投与は安静群のグリコーゲンを全く変化させず、グルコース投与無しでも生じた運動群のグリコーゲン超回復を視床下部で更に増強した（図 B）。血中インスリン濃度は筋グリコーゲン濃度と正の相関を示したが、脳グリコーゲンとは相関しなかった。さらに、インスリンの静脈投与は、筋のグリコーゲンを約 40%増加させる一方（図 C）、脳のグリコーゲンを約 30%減少させた（図 D）。これらの結果は、運動後の糖質摂取は脳グリコーゲン超回復に必須でないが、少なくとも視床下部ではグリコーゲン超回復を増強することを初めて示唆する。これは、脳の運動適応を促す代謝反応として重要かもしれない。しかしながら、血中インスリン濃度は脳グリコーゲン濃度と相関せず、インスリン投与は筋グリコーゲン量を高める一方、脳グリコーゲン量を減少させることから、脳は筋とは異なる血中インスリンとは無関係なグリコーゲン超回復機構を有する可能性がある。

運動が引き出す脳グリコーゲン超回復の神経機構に関する検討：糖質摂取とインスリン投与の効果



120. 運動が引き出す脳グリコーゲン超回復の神経機構解明

松井　崇

筑波大学 体育系 健康体力学分野 運動生化学領域

Key words：運動，脳グリコーゲン，超回復，インスリン，筋

緒　言

脳内のアストロサイトに貯蔵されるグリコーゲンは、神経のエネルギーや修飾因子となる乳酸を産生･供給することで、記憶を担う神経－グリア連関を形成する［1］。私は、急性運動により脳 GLY がモノアミン作動性に減少して身心の機能低下（疲労）に関与し［2，3］、その減少度に応じて運動前よりも高く回復する「脳グリコーゲン超回復」を見出した［4］。さらに、持久力と認知をともに高める慢性運動が大脳皮質と海馬の GLY 濃度を高め［4］、2 型糖尿病ラットの認知障害を改善することも確認した［5］。これらは、骨格筋の運動適応を担う運動によるダイナミックなグリコーゲン超回復が脳でも生じ、身心への有益な効果をもたらす可能性を示唆するが、その分子神経機構は不明である。

運動後の骨格筋におけるグリコーゲン超回復には、糖質摂取により高まるインスリンが重要な役割を果たし［6］、培養アストロサイトではインスリンがグリコーゲン合成を高めることから［7］、脳でも同様に糖質摂取とインスリンが運動後のグリコーゲン超回復に関与することが想定される。

したがって、本研究では、運動が引き出す脳グリコーゲン超回復と糖質摂取・インスリンの関連を明らかにすることを目的とした。なお、本研究の成果の一部は、米国生理学会の『Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol』に公表済みである［8］。

方　法

1. 実験 1：運動後の脳グリコーゲン超回復に及ぼす糖質投与の影響

脳グリコーゲン成熟した雄性 Wistar ラット（11 週齢、250～300 g）17 匹を被験動物とした。ラットは 1 週間の飼育環境への馴化期間のあと、分速 5 m～25 m までのトレッドミル運動への馴化を 6 日間施された。最後の運動馴化の翌日、ストレスのない静脈投与と採血を可能とするために、麻酔下でラットの外頸静脈にカテーテルを留置した。

その 3 日後、ラットを運動群と安静群の 2 群に分け、運動群には疲労困憊に至るトレッドミル運動（分速 20 m）を課し、安静群は停止したトレッドミル上で 2 時間過ごさせた。運動または 2 時間の安静終了時に、ラットに 50%のグルコース溶液または生理食塩水を投与し、その 6 時間後にマイクロ波照射により屠殺した（図 1）。

その後、素早く血液を採取し、バイオケミストリーアナライザー（YSI 社）により、血糖値と血中乳酸値をそれぞれ測定した。また、血漿、ヒラメ筋、脳（皮質、海馬、視床下部）を採取し、液体窒素で凍結後－80℃で保存した。後日、血中インスリン濃度を ELISA 法により、各組織のグリコーゲン濃度を酵素法によりそれぞれ定量した。

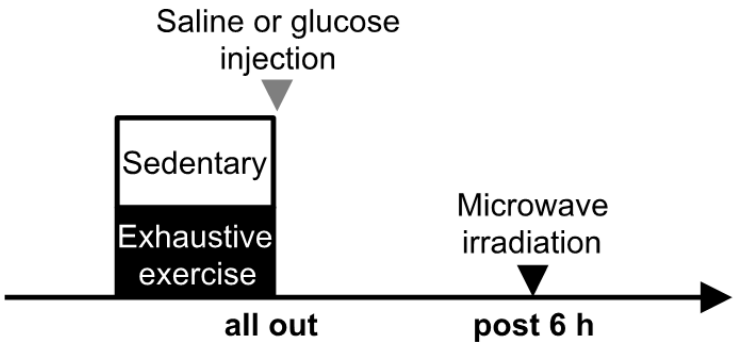


図 1. 実験 1 のプロトコール
運動または 2 時間の安静終了時に、ラットに 50%のグルコース溶液または生理食塩水を投与し、その 6 時間後にマイクロ波照射により屠殺した。

2. 実験 2：インスリン投与が脳グリコーゲン濃度に及ぼす影響

実験 1 同様、成熟した雄性 Wistar ラット（11 週齢、250～300 g）12 匹を被験動物とした。ストレスのない静脈投与と採血を可能とするために外頸静脈にカテーテルを留置した安静状態のラットに、インスリン（30 U/kg）を投与し、その 2 時間後にマイクロ波照射により屠殺した（図 2）。バイオケミストリーアナライザー（YSI 社）により、血糖値と血中乳酸値をそれぞれ測定した。また、ヒラメ筋、脳（皮質、海馬、視床下部）を採取し、液体窒素で凍結後－80℃で保存した。後日、各組織のグリコーゲン濃度を酵素法によりそれぞれ定量した。

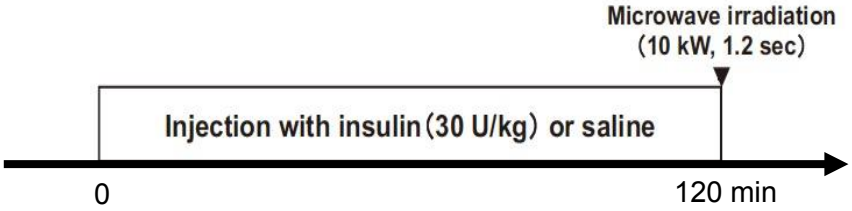


図 2. 実験 2 のプロトコール
ラットにインスリン（30 U/kg）を投与し、その 2 時間後にマイクロ波照射により屠殺した。

3. 統計処理

データは平均値±標準誤差を示した。統計処理には、GraphPad Prism 9 を利用した。実験 1 では、全てのデータにおいて二元配置分散分析を行い、有意差が確認された場合には、post-hoc テスト（Bonferroni）を実施した。実験 2 では、全てのデータにおいて対応のない t 検定を実施した。有意水準は 5%未満とした。

結果および考察

1. 実験 1：運動後の脳グリコーゲン超回復に及ぼす糖質投与の影響

血糖値は疲労困憊運動後に低下し、その 6 時間後に安静レベルに回復した。その際、ヒラメ筋では、ブドウ糖投与が安静群のグリコーゲンを増加させ、運動群のグリコーゲン超回復を引き起こした（図 3）。

脳では、グルコース投与は安静群のグリコーゲンを全く変化させず、グルコース投与無しでも生じた運動群のグリコーゲン超回復を視床下部で更に増強した（図 4）。血中インスリン濃度は筋グリコーゲン濃度と正の相関を示したが、脳グリコーゲンとは相関しなかった。

これらの結果は、運動後の糖質摂取は脳グリコーゲン超回復に必須でないが、少なくとも視床下部ではグリコーゲン超回復を増強することを初めて示唆する。これは、脳の運動適応を促す代謝反応として重要かもしれない。しかしながら、血中インスリン濃度は脳グリコーゲン濃度と相関しないことから、脳は筋とは異なる血中インスリンとは無関係なグリコーゲン超回復機構を有する可能性がある

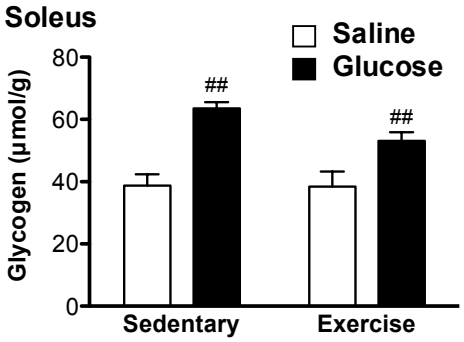


図 3. 運動 6 時間後の筋グリコーゲン濃度に及ぼす糖質投与の影響
データは全て平均値±標準誤差で示した。##p＜0.01 vs. Saline（two-way ANOVA with Bonferroni post-hoc test）。

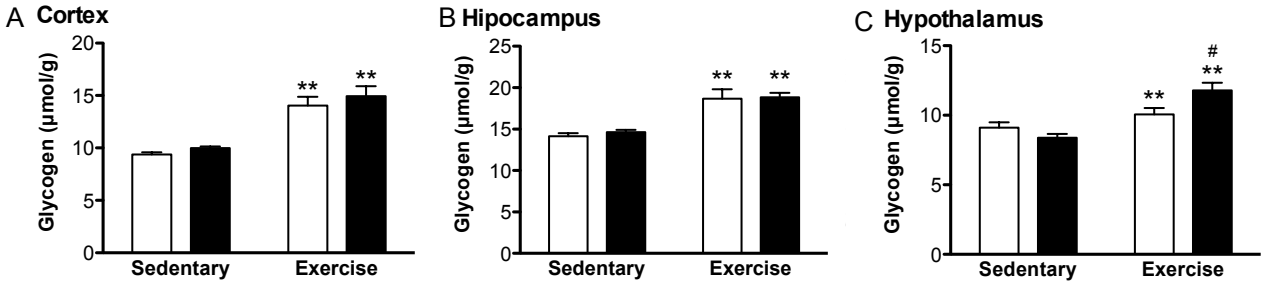


図 4. 運動 6 時間後の脳グリコーゲン濃度に及ぼす糖質投与の影響
A）大脳皮質。B）海馬。C）視床下部。データは全て平均値±標準誤差で示した。
**p＜0.01 vs. Sedentary（two-way ANOVA with Bonferroni post-hoc test）。
#p＜0.05 vs. Saline（two-way ANOVA with Bonferroni post-hoc test）。

2. 実験 2：インスリン投与が脳グリコーゲン濃度に及ぼす影響

インスリンの静脈投与は低血糖を引き起こした。その際、ヒラメ筋のグリコーゲンは約 40%増加した（図 5）。一方、脳のグリコーゲンは分析したどの部位においても約 30%減少した（図 6）。これらの結果は、脳は筋とは異なる血中インスリンとは無関係なグリコーゲン超回復機構を有する可能性をより強く示唆する。

面白いことに、ノルアドレナリンは培養アストロサイトで cAMP を介してグリコーゲン分解を引き起こしながら、グリコーゲン標的タンパク質（PTG）の誘導し、その後にグリコーゲンの再合成をも促進することが知られる［9］。運動は、脳ノルアドレナリン、セロトニン等のグリコーゲン分解因子を高めることから［2，10］、PTG の発現を高めるのかもしれない。脳では、運動後にインスリンに代わって PTG がグリコーゲン超回復に関与するかどうかは今後の重要な課題となる。

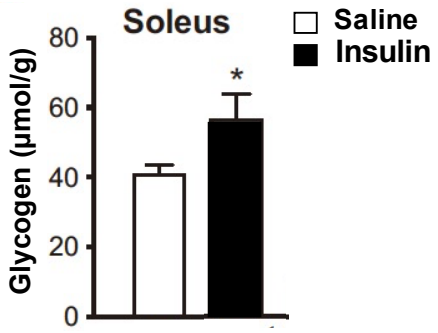


図 5. インスリン投与が筋グリコーゲン濃度に及ぼす影響
データは全て平均値±標準誤差で示した。
*p＜0.05 vs. Saline（unpaired t-test）。

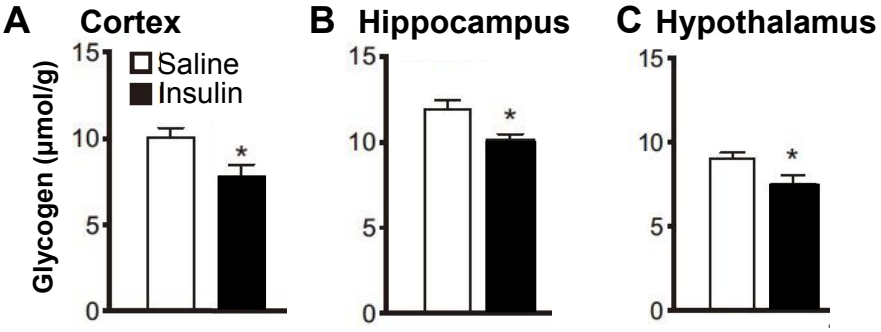


図 6. インスリン投与が脳グリコーゲン濃度に及ぼす影響
A）大脳皮質。B）海馬。C）視床下部。データは全て平均値±標準誤差で示した。
*p＜0.05 vs. Saline（unpaired t-test）。

共同研究者・謝辞

本研究は、筑波大学体育系健康体力学分野運動生化学領域で実施されたものです。関係の皆様に感謝の意を表します。

文　献

1） Magistretti PJ, Allaman I. Lactate in the brain: from metabolic end-product to signalling molecule. Nat Rev Neurosci. 2018 Apr;19(4):235-249. doi: 10.1038/nrn.2018.19. Epub 2018 Mar 8. PMID: 29515192.

2） Matsui T, Soya S, Okamoto M, Ichitani Y, Kawanaka K, Soya H. Brain glycogen decreases during prolonged exercise. J Physiol. 2011 Jul 1;589(Pt 13):3383-93. doi: 10.1113/jphysiol.2010.203570. Epub 2011 Apr 26. Erratum in: J Physiol. 2011 Aug 15;589(Pt 16):4079. PMID: 21521757; PMCID: PMC3145946.

3） Matsui T, Omuro H, Liu YF, Soya M, Shima T, McEwen BS, Soya H. Astrocytic glycogen-derived lactate fuels the brain during exhaustive exercise to maintain endurance capacity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jun 13;114(24):6358-6363. doi: 10.1073/pnas.1702739114. Epub 2017 May 17. PMID: 28515312; PMCID: PMC5474817.

4） Matsui T, Ishikawa T, Ito H, Okamoto M, Inoue K, Lee MC, Fujikawa T, Ichitani Y, Kawanaka K, Soya H. Brain glycogen supercompensation following exhaustive exercise. J Physiol. 2012 Feb 1;590(3):607-16. doi: 10.1113/jphysiol.2011.217919. Epub 2011 Nov 7. PMID: 22063629; PMCID: PMC3379704.

5) Shima T, Matsui T, Jesmin S, Okamoto M, Soya M, Inoue K, Liu YF, Torres-Aleman I, McEwen BS, Soya H. Moderate exercise ameliorates dysregulated hippocampal glycometabolism and memory function in a rat model of type 2 diabetes. Diabetologia. 2017 Mar;60(3):597-606. doi: 10.1007/s00125-016-4164-4. Epub 2016 Dec 8. PMID: 27928614.
6) Ivy JL, Kuo CH. Regulation of GLUT4 protein and glycogen synthase during muscle glycogen synthesis after exercise. Acta Physiol Scand. 1998 Mar;162(3):295-304. doi: 10.1046/j.1365-201X.1998.0302e.x. PMID: 9578375.
7) Hamai M, Minokoshi Y, Shimazu T. L-Glutamate and insulin enhance glycogen synthesis in cultured astrocytes from the rat brain through different intracellular mechanisms. J Neurochem. 1999 Jul;73(1):400-7. doi: 10.1046/j.1471-4159.1999.0730400.x. PMID: 10386993.
8) Matsui T. Exhaustive endurance exercise activates brain glycogen breakdown and lactate production more than insulin-induced hypoglycemia. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2021 Apr 1;320(4):R500-R507. doi: 10.1152/ajpregu.00119.2020. Epub 2021 Feb 3. PMID: 33533310.
9) Allaman I, Pellerin L, Magistretti PJ. Protein targeting to glycogen mRNA expression is stimulated by noradrenaline in mouse cortical astrocytes. Glia. 2000 Jun;30(4):382-91. PMID: 10797618.
10) Matsui T, Soya S, Kawanaka K, Soya H. Brain Glycogen Decreases During Intense Exercise Without Hypoglycemia: The Possible Involvement of Serotonin. Neurochem Res. 2015 Jul;40(7):1333-40. doi: 10.1007/s11064-015-1594-1. Epub 2015 Jun 3. PMID: 26037553.