

〈2010年度大学院スポーツ健康科学研究科博士論文要約〉

Summaries of Doctor's Theses Completed in 2010

一過性の温熱負荷が骨格筋における mTOR シグナル伝達に及ぼす影響

Effects of acute heat stress on mTOR signaling in skeletal muscle

スポーツ科学領域 柿木 亮
論文指導教員 内藤 久士

1. 緒言

近年、温熱負荷が、筋力トレーニングの効果を高める手段として有効に働く可能性が示されている。これまでの動物実験モデルでは、温熱負荷が、骨格筋のタンパク量や重量を増加させたこと⁶⁾、また筋損傷からの回復を促進したこと³⁾から、温熱負荷がトレーニング効果の獲得に直接あるいは間接的に影響を及ぼす可能性が伺えるが、その詳細なメカニズムについては明らかではない。

ところで、骨格筋の肥大のメカニズムの一つとして、ラパマイシンの哺乳類標的 (mammalian target of rapamycin: mTOR) を含む細胞内シグナル伝達経路が重要な役割を果たしていることが注目を集めている。mTOR シグナル伝達経路では、成長ホルモンやインスリンなどの多くの細胞外刺激を受けて細胞内の Akt/protein kinase B (Akt/PKB) というタンパク質の活性化を経て mTOR がリン酸化される。そして mTOR が活性化するとその下流標的である ribosomal protein S6 kinase 1 (S6K1) や eukaryotic initiation factor (eIF) 4E binding protein 1 (4E-BP1) がリン酸化され、mRNA の翻訳の開始や伸長が促進し、タンパク質合成が促進することが知られている⁴⁾。さらに、mTOR シグナル伝達の活性化は、タンパク質合成の促進のみならず筋サイズの増加にも重要であることも示されている¹⁾²⁾⁵⁾。したがって、温熱負荷の筋肥大効果や筋損傷からの回復効果は mTOR シグナル伝達の活性化を介して生じることが推察されるものの、温熱負荷が骨格筋 mTOR シグナル伝達に及ぼす影響について検討した研究は極めてわずかであり、特にヒト骨格筋でレジスタンス運動後の mTOR シグナル伝達に対する温熱負荷の効果について検討した研究は見当たらない。

そこで、本研究は、はじめに温熱負荷が骨格筋 mTOR シグナル伝達に及ぼす影響をラット骨格筋を用いて検討し、さらに、温熱負荷がレジスタンス運動後のヒト骨格筋 mTOR シグナル伝達に及ぼす影響について明らかにすることを目的として行った。

2. 方法

ラット骨格筋を対象とした実験

実験 1: 14週齢の Wistar 雄性ラットを、コントロール群 (n=6) およびプピバカイン処置群 (n=6) に分類した。筋損傷を誘発するために、プピバカイン処置群の両脚の前脛骨筋に0.5%塩酸プピバカインを0.5 ml 注入した。プピバカイン注入後 2, 4 および 6 日後に、それぞれのラットの後肢の片脚のみをおよそ43°Cに維持した温水に30分間浸漬した。反対脚は、浸漬させず室温に維持した。最終の温熱負荷直後に、全てのラットより、前脛骨筋を摘出し、ウェスタンブロット法を用いて mTOR シグナル伝達物質 (Akt, mTOR, S6K1, 4E-BP1) のリン酸化を分析した。

実験 2: 14週齢の Wistar 雄性ラット (n=18) に対して実験 1 と同様に温熱を負荷した。温熱負荷直後、30および60分後に各ラットの後肢からヒラメ筋 (遅筋) および足底筋 (速筋) を摘出し、ウェスタンブロット法を用いて mTOR シグナル伝達物質のリン酸化を分析した。

ヒト骨格筋を対象とした実験

実験 3: 8名の健康な成人男性を対象とし、レジスタンス運動 (膝伸展運動, 6回×4セット) 条件およびレジスタンス運動+温熱負荷条件をクロスオーバーデザインで行った。レジスタンス運動前および中に、温熱負荷はマイク

口波温熱治療器を用いて30分間大腿四頭筋外側部に与えた。運動前、運動直後および1時間後に大腿四頭筋外側部より筋を摘出し、ウェスタンブロット法を用いてmTORシグナル伝達物質のリン酸化を分析した。

3. 結果

ラット骨格筋を対象とした実験

実験1では、温熱負荷は、コントロール群およびプピバカイン処置群のいずれにおいてもAkt, mTOR, S6K1 および4E-BP1リン酸化を有意に増加させた。実験2では、温熱負荷は、ヒラメ筋および足底筋のAktリン酸化を有意に増加させたが、30分以降において影響は見られなかった。ヒラメ筋のS6K1リン酸化の有意な増加は温熱負荷直後において観察された一方で、足底筋のS6K1リン酸化の有意な増加は、温熱負荷30分後において認められた。これらの結果は、これまで報告されてきた温熱負荷の筋の肥大効果や筋損傷の回復促進効果のメカニズムの一つに、mTORシグナル伝達の活性化が重要な役割を果たしていることを示唆する。

ヒト骨格筋を対象とした実験

実験3: 温熱負荷は、レジスタンス運動1時間後にAkt, mTOR およびS6リン酸化を有意に増加させた。また、温熱負荷は、レジスタンス運動によって減少した4E-BP1リン酸化を運動1時間後に回復させた。さらに、レジスタンス運動直後において、温熱負荷はS6K1リン酸化を有意に増加させた。これらの結果は、温熱負荷をレジスタンス運動に組み合わせることで、レジスタンス運動のみと比較して骨格筋mTORシグナル伝達が増強されることを示している。すなわち、温熱負荷を組み合わせたレジスタンス運

動は、同じ運動強度でも筋タンパク質合成を促進する刺激としては大きい可能性が示唆される。

4. 結論

以上の結果から、温熱負荷は、1) 骨格筋mTORシグナル伝達の活性化をもたらすこと、また、2) レジスタンス運動後のmTORシグナル伝達の活性化を増強することが示唆された。

5. 文献

- 1) Bodine SC, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol*, 3(11), 1014-1019, 2001.
- 2) Ohanna M, et al. Atrophy of S6K1(-/-) skeletal muscle cells reveals distinct mTOR effectors for cell cycle and size control. *Nat Cell Biol*, 7(3), 286-294, 2005.
- 3) Oishi Y, et al. Heat stress increases myonuclear number and fiber size via satellite cell activation in rat regenerating soleus fibers. *J Appl Physiol*, 107(5), 1612-1621, 2009.
- 4) Proud CG. Signalling to translation: how signal transduction pathways control the protein synthetic machinery. *Biochem J*, 403(2), 217-234, 2007.
- 5) Rommel C, et al. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. *Nat Cell Biol*, 3(11), 1009-1013, 2001.
- 6) Uehara K, et al. Heat-stress enhances proliferative potential in rat soleus muscle. *Jpn J Physiol*, 54(3), 263-271, 2004.