

## 一過性の低強度・長時間水泳運動が骨格筋 Lipin-1 および YY1 の mRNA 発現量に及ぼす影響

身体科学研究領域

5006A059-5 東田一彦

研究指導教員:

樋口満教授

持久的なトレーニングにより、骨格筋のミトコンドリアが増加することが良く知られている。しかしながら、持久的トレーニングがどのような分子機序によって骨格筋のミトコンドリアを増加させているかについては不明な点が多く残されている。

近年、Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1  $\alpha$  (PGC-1  $\alpha$ ) と呼ばれる転写補助因子が褐色脂肪細胞のミトコンドリア新生において重要な役割を果たしていることが報告され(Puigserver et al., 1998)、さらに、持久的トレーニングによる骨格筋ミトコンドリア増加においても PGC-1  $\alpha$  の関与が示唆されている(Baar et al., 2002; Terada et al., 2004)。

一方で、PGC-1  $\alpha$  をノックアウトしたマウスの骨格筋では、ミトコンドリアが顕著に減少するものの、完全に消失することはないことや(Leone et al. 2005)、PGC-1  $\alpha$  のノックアウトマウスに運動を負荷すると野生型のマウスと同様にミトコンドリアが増加することが報告されている(Leick et al. 2007)。したがって、骨格筋のミトコンドリアが増加するメカニズムに関して、PGC-1  $\alpha$  以外に重要な因子が存在する可能性が考えられる。

最近、Finck et al. (2006) は、Lipin-1 という新規の転写補助因子が、肝細胞においてミトコンドリア系酵素、特に脂肪酸  $\beta$  酸化に関わる酵素の遺伝子発現調節に関与していることを報告している。また、転写因子の一つである Yin-Yang 1 (YY1) を Human Embryo Kidney (HEK) 細胞に高発現させることで、PGC-1  $\alpha$  と協働してミトコンドリア系酵素の発現量を高めることも昨年報告された(Cunningham et al., 2007)。

以上のように、ミトコンドリア新生におけるマスターレギュレーターであると考えられてきた PGC-1  $\alpha$  以外にもミトコンドリア新生に関与する因子が近年いくつか発見されており、これらの転写を活性化する因子が持久的トレーニングによる骨格筋ミトコンドリア新生においても関与している可能性が考えられる。

そこで、課題 1 では一過性の低強度・長時間水泳運動が骨格筋 Lipin-1 および YY1 mRNA 発現量に及ぼす影響を検証した。

SD 系雄性ラットをコントロール群と水泳運動群に無作為に分けた。水泳運動群には、無負荷の水泳運動を 3 時間もしくは 6 時間行わせた。運動終了直後、または 6 時間の水泳運動終了後に 6 時間回復させた後に、前肢骨格筋 Triceps を摘出し、RT-PCR 法により Lipin-1 および YY1 の mRNA 発現量を測定した。

その結果、3 時間および 6 時間の水泳運動直後の

Triceps において Lipin-1 mRNA 発現量がコントロール群に比べてそれぞれ 85% ( $p < 0.01$ )、71% ( $p < 0.05$ ) 有意に高い値を示した (Fig.1)。一方、運動終了後 6 時間の時点においては、コントロール群との間に有意な差は認められなかった。したがって、ミトコンドリアの発現調節に関与していると考えられている転写補助因子 Lipin-1 が一過性の運動により骨格筋で増加することが明らかとなった。

一方で、骨格筋 YY1 mRNA 発現量は、一過性の水泳運動終了後いずれの時点においてもコントロール群と比較して有意な差は観察されなかった。したがって、身体運動によるミトコンドリア系酵素の転写活性化には YY1 が関与していない可能性が考えられる。

運動により骨格筋ミトコンドリアが増加する機序として、①血中脂肪酸濃度の上昇による PPAR  $\delta$  の活性化、②血中カテコールアミン濃度の増加による  $\beta$  アドレナリン受容体の活性化、③高エネルギーリン酸化化合物の減少による AMPK の活性化が示唆されている。そこで、課題 2 ではこれらの情報伝達経路の活性化が Lipin-1 mRNA 発現量の増加に関与しているかどうかを検討した。

Wistar-Imamichi 系もしくは SD 系の雄ラットに、オリーブ油 (5ml)、 $\beta 2$  アドレナリン受容体活性化剤である Clenbuterol (0.1mg/100g BW) もしくは AMPK の活性化剤である AICAR (50mg/100g BW) を投与し、投与後 6~8 時間後に Triceps の Lipin-1 mRNA 発現量を測定した。

PPAR  $\delta$  を活性化する不飽和脂肪酸を多く含むオリーブ油の投与により、血清遊離脂肪酸濃度は非投与群の約 3 倍に増加した ( $p < 0.001$ ) が、Lipin-1 mRNA 発現量は増加しなかった。したがって、運動による骨格筋 Lipin-1 mRNA 発現量の増加には、血中遊離脂肪酸濃度の上昇による PPAR  $\delta$  の活性化を介した経路は関与していない可能性が考えられる。

また、Clenbuterol 投与および AICAR 投与群の骨格筋 Lipin-1 mRNA 発現量は非投与群と比較してそれぞれ、236% ( $p < 0.01$ )、136% ( $p < 0.01$ ) 有意に高い値を示した。

課題 1 と同様の水泳運動を行った場合、骨格筋の AMPK 活性 (リン酸化) の上昇および血中カテコールアミン (アドレナリン・ノルアドレナリン) 濃度の増加が認められた。先行研究において、Clenbuterol や AICAR を投与することで、骨格筋における PGC-1  $\alpha$  やミトコンドリア系酵素活性が増大することが報告されている。したがって、本研究の結果と併せて考えると、運動に

よる AMPK 活性の上昇や血中カテコールアミン濃度の増加が、骨格筋の Lipin-1、さらにはミトコンドリア系タンパクの発現量増加の機序に関与している可能性が示唆される。

本研究の結果をまとめると、ミトコンドリアの発現調節に関与していると考えられている Lipin-1 が一過性の運動により骨格筋において増加することが明らかとなった。また、Clenbuterol および AICAR 投与により骨格筋 Lipin-1 発現量が増加した。したがって、運動による骨格筋ミトコンドリア量の増加には、 $\beta 2$  アドレナリン受容体および AMPK の活性化を介した Lipin-1 発現量の増加が関与している可能性が示唆された。

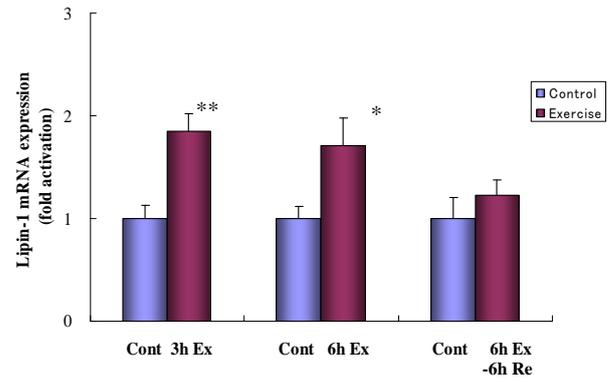


Fig.1 Lipin-1 mRNA expression level in rat triceps muscle immediately after 3-h , 6-h swimming and 6-h after 6-h swimming exercise. Values are means  $\pm$  SEM. \* Indicates significant difference in the values obtained in control group at a level of  $p < 0.05$ . \*\* Indicates significant difference in the values obtained in control group at a level of  $p < 0.01$ .