

規則的な身体運動が骨格筋オートファジー機構に 及ぼす影響とその加齢変化

聖マリアンナ医科大学	小倉裕司
(共同研究者) 順天堂大学	内藤久士
同	柿木亮
聖マリアンナ医科大学	杉山仁
同	明間立雄

Effects of Regular Endurance Exercise on Autophagy in Skeletal Muscles of Adult and Old Rats

by

Yuji Ogura, Hitoshi Sugiyama, Tatsuo Akema
St. Marianna University School of Medicine
Hisashi Naito, Ryo Kakigi
Juntendo University

ABSTRACT

Macroautophagy is a major pathway of autophagy in the cells. It plays roles in breaking down of proteins or organelles using lysosomal proteases. This study investigated the effects of chronic exercise training on macroautophagy in skeletal muscles of both adult and older rats. Adult (18 mo) and old (28 mo) male Fischer 344 rats were assigned to either a sedentary control or an endurance training group (n = 6 per group). Animals in the training groups ran on a treadmill for 8 weeks. The training intensity was adjusted to be identical between the adult and old groups. After completing the training program, the soleus and plantaris muscles were taken for subsequent analyses of autophagy-related

proteins. In the plantaris muscle, Beclin 1, microtubule-associated protein light chain 3 (LC3) -I and LC3-II were elevated by aging. Aging lowered Atg7 but exercise training restored the Atg7 expression in the plantaris muscle. In the soleus muscle, aging increased only LC3-I. Taken together, the results show that the expression of macroautophagy protein can be altered by both aging and exercise training. Importantly, the manner of alteration is not entirely consistent among examined proteins and muscle types.

要 旨

マクロオートファジーは、細胞内小器官およびタンパク質の分解を行うオートファジーの主経路である。本研究では、長期的な運動トレーニングがオートファジーに及ぼす影響を、成熟および老齢動物の骨格筋を対象に検討した。成熟（18月齢）および老齢（28ヶ月齢）の雄性Fischer 344ラットが運動群と対照群にそれぞれ群分けされた（各群n=6×4群）。運動群の動物には、8週間同一の相対的運動強度で持久的なトレーニングを行わせた。トレーニング期間終了後、ヒラメ筋と足底筋を摘出し、オートファジー関連タンパク質を分析した。足底筋において、Beclin 1, microtubule-associated protein light chain 3 (LC3) -IおよびLC3-IIは加齢により増加した。また、加齢はAtg7を低下させたが、運動トレーニングはその低下を抑制した。他方、ヒラメ筋においては、加齢がLC3-Iの増加させたこと以外の変化は観察されなかった。これらの結果は、マクロオートファジーを制御するタンパク質発現が運動と加齢により改変されることを示唆する。また、これらの改変は、タンパク質の種類、あるいは骨格筋の種類により異なる可能性がある。

1. はじめに

細胞内におけるタンパク質分解は、損傷を受けたタンパク質や機能不全に陥ったタンパク質の除去を行うなど細胞の正常機能を維持する上で必須

である。これらにかかわる機序として特にユビキチンプロテアソーム系とオートファジー系がよく知られている。前者は、一連の酵素反応によってタンパク質を選択的に識別し、プロテアソームを介してアミノ酸まで分解する^{10, 12)}。一方、後者は本質的に非選択的なタンパク質あるいは細胞内小器官の分解系である。オートファジー系は、主に3つの大きな様式に分別される（マクロオートファジー、マイクロオートファジー、シャペロン介在性オートファジー）。それぞれの様式は、異なる経路によって活性化されると考えられるが、最終的にリソソームを介する反応に帰着する^{3, 13, 17)}。

マクロオートファジー（以後オートファジー）は、中でも主要な経路と見なされており、したがって比較的よく研究されている^{3, 13, 17)}。オートファジーを刺激するトリガーについてはいまだ議論の最中であるが、オートファジーが進行する過程についてはよく知られている。すなわち、何らかのトリガーが細胞内に生じることにより、単位膜（ファゴフォア）が細胞質に形成される。単位膜は、一連のオートファジー関連酵素反応により伸張し、その過程でタンパク質や細胞内小器官を囲って取り込み（オートファゴソーム）、最終的にリソソームと融合する（オートリソソーム）。その結果、内包物はリソソーム内のタンパク質分解酵素によりアミノ酸へと分解される^{3, 13, 17)}。

オートファジーは平常時においてもわずかに活性化されているものの、その劇的な活性上昇をも

たらず主要なトリガーの一つは、細胞内の栄養状態の悪化である。マウスを用いた研究では、飢餓状態に陥った際、多くの組織でオートファジーが活性化されたことを見いだされている⁸⁾。また、別の研究では、オートファジーの進行に必須であるタンパク質をコードする *atg5*⁶⁾ あるいは *atg7*⁵⁾ 遺伝子を欠損させた場合には、生後の飢餓状態における生存率が著しく低下することを示している。これらの報告は、細胞内の栄養状態がオートファジーの活性調節に関与することを強く示唆している。

骨格筋は、当然ながら運動時にエネルギーの需要が急速に高まる器官である。また、他の細胞と同様に骨格筋においても飢餓時に顕著なオートファジーが活性化されることが確認されている⁸⁾。したがって、エネルギー源を急速に消費する骨格筋活動は骨格筋細胞内でのオートファジー系を活性化させる可能性が考えられるが、運動とオートファジーを関連づけた研究はこれまでに報告されていない。

また、オートファジーの活性水準は加齢によっても影響を受けることが最近になって示唆されている。例えば、肝臓におけるオートファジーの活性化は老齢動物で低下する^{1,2)}。また、McMullen et al.⁷⁾ は、ラットの外輪筋において、加齢がオートファジーの進行に必須である *microtubule-associated protein light chain 3 (LC3)* タンパク質発現量を低下させ、同様に *atg5* および *atg7* 遺伝子発現を減少させることを示している。したがって、下肢骨格筋においても同様に加齢がオートファジーに関連するタンパク質群に影響を与える可能性が示唆されるが、両者の関連性を検討した研究は見られない。

以上のことから、本研究では、ラットの下肢骨格筋を対象に、加齢と運動トレーニングがオートファジー関連タンパク質の発現量に及ぼす影響について検討することを目的とした。