

不活動と運動が骨格筋ビタミンD受容体発現量と 糖取り込みに及ぼす影響

研究チーム名：ビタミンDと糖取込研究チーム（課題番号：177109）

研究期間：平成28年7月27日～平成31年3月31日

研究代表者名：羅 成圭

研究員名：畑本 陽一

研究成果

(1) 研究の背景

ビタミンDは、腸管におけるカルシウム吸収や骨形成を高める働きがよく知られている。血清ビタミンD濃度は体内のビタミンDの量の指標となるが、血清ビタミンD濃度の低下は筋肉痛やミオパチー、筋力低下などに関連していることが指摘されている（Bischoff-Ferrari et al., 2004; Girgis, Clifton-Bligh, Hamrick, Holick, & Gunton, 2013）。たしかに、ビタミンDの経口摂取は高齢者における筋萎縮を抑制するようだ。骨格筋は血糖のおよそ80%を取り込み代謝する器官である。すなわち、骨格筋の機能や量の維持・増進は健全な糖代謝能力の維持に重要であるが、ビタミンDと糖代謝の関係は十分に明らかになっていない。

近年、骨格筋の核内にビタミンD受容体（Vitamin D receptor: VDR）が発現していることが知られるようになった（Bischoff-Ferrari et al., 2004; Bischoff et al., 2001; Girgis et al., 2014）。つまり、ビタミンDはVDRを介して骨格筋に直接作用して様々な生理作用を引き起こしている可能性が考えられる。このVDRは、一過性のレジスタンス運動によって一過性に増加することが明らかになっている（Makanae et al., 2015）。しかし、運動の継続（運動トレーニング）が骨格筋VDR発現量を慢性的に増加させるかは不明だ。

食事からのビタミンDの摂取は、血清ビタミンD濃度を増加させる有効な手段である。本研究では、ビタミンD摂取量ならびに運動トレーニングが骨格筋VDR発現量や糖代謝関連因子に及ぼす影響を検討することを目的とした。

(2) 結果

①経口ビタミンD摂取量の違いが糖代謝能力に及ぼす影響

実験には、7週齢のWistar系雄性ラットを用い、ビタミンD欠乏食（Low）群、ビタミンD通常食（Moderate）群、ビタミンD過剰食（High）群の3群に分けた。先行研究（Agrawal, Gupta, & Agrawal, 2013）に基づき、それぞれの群に飼料1kg当たりビタミンD含有量0、2000、10000IU/kg重量を摂取させながら8週間飼育した。

8週間の飼育後に、腹腔内糖負荷試験（IPGTT）をおこなったところ、Low群ならびにHigh群ではModerate群と比較して糖負荷15分後の血糖値が有意に高値を示した（図1）。すなわち、Low群ならびにHigh群においては耐糖能力が低下している可能性が示された。IPGTT時の血清インスリン濃度には群間に差がみられなかったため（図2）、膵臓からのインスリン分泌能力は低下していないことも明らかになった。上昇した血糖値の大半は骨格筋に取り込まれ処理されるため、経口ビタミンD摂取量の違いによる耐糖能力の変化は、骨格筋のインスリン感受性の低下による影響が大きい可能性が予想される。今後、骨格筋のインスリン情報伝達経路に

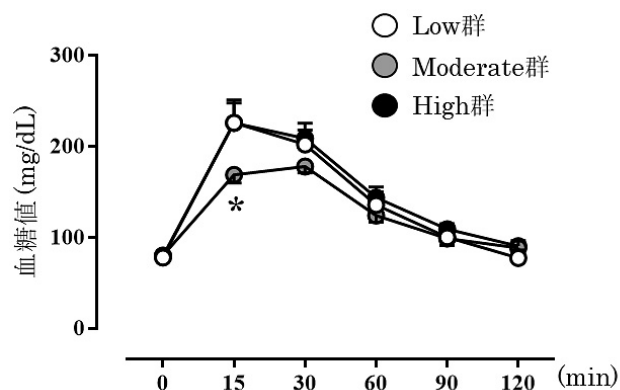


図1. 糖負荷後の血糖値の変化. *vs.Low群 and High群.

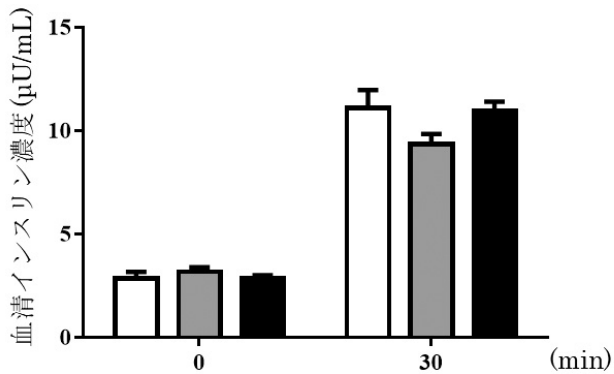


図2. 糖負荷前および糖負荷30分後の血清インスリン濃度。

関与するタンパク質発現量に変化している可能性について検証していく必要がある。内臓脂肪の蓄積は骨格筋のインスリン抵抗性を惹起するが、本研究におけるビタミンDの欠乏や過剰摂取は内臓脂肪重量に影響を及ぼさなかった (data not shown)。

②経口ビタミンD摂取量の違いが骨格筋 VDR タンパク質発現量に及ぼす影響

実験には、7週齢のWistar系雄性ラットを用い、ビタミンD欠乏食 (Low) 群、ビタミンD通常食 (Moderate) 群、ビタミンD過剰食 (High) 群の3群に分けた。先行研究 (Agrawal et al., 2013) に基づき、それぞれの群に飼料1kg当たりビタミンD含有量0、2000、10000 IU/kg重量を摂取させながら9週間飼育した。組織中のタンパク質発現量の評価はウエスタンブロッティング法を用いた。

9週間の飼育後に、ラットの下肢からヒラメ筋ならびに足底筋を摘出した。これらの筋のVDRタンパク質発

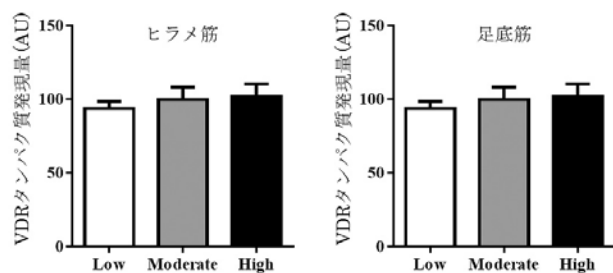


図3. ヒラメ筋ならびに足底筋のVDRタンパク質発現量。

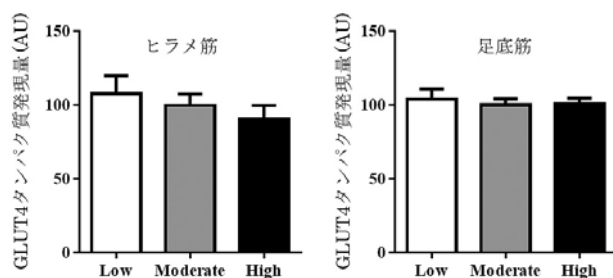


図4. ヒラメ筋ならびに足底筋のGLUT4タンパク質発現量。

現量を評価したところ、経口ビタミンD摂取量の違いはヒラメ筋ならびに足底筋のVDRタンパク質発現量に影響を及ぼさないことが確認された (図3)。また、ヒラメ筋ならびに足底筋のGLUT4タンパク質発現量も変化しなかった (図4)。すなわち、経口ビタミンD摂取量の違いによるインスリン感受性や耐糖能力の低下に、VDRやGLUT4タンパク質発現量の変化は関与していない可能性が示唆された。

③運動トレーニングが骨格筋 VDR タンパク質発現量に及ぼす影響

実験には、7週齢のWistar系雄性ラットを用い、運動トレーニングをおこなわないControl群と、4週間の回転輪付きケージによる自発走トレーニング (Training) 群の2群に分けた。VDRタンパク質発現量に対する運動の急性の影響を避けるために、Training群の最後のトレーニングから24時間経過した後に、ラットの下肢から骨格筋を摘出した。遅筋線維優位筋であるヒラメ筋、速筋線維優位筋である上腕三頭筋、そして混在筋である足底筋を採取し、ウエスタンブロッティング法を用いてVDRタンパク質発現量を評価した。

まずは、Control群の筋サンプルを用いて、筋線維組成の違いによる骨格筋VDRタンパク質発現量の差を検証した。安静時の骨格筋VDRタンパク質発現量は、遅筋線維を多く含む上腕三頭筋と比較して、遅筋線維を多く含むヒラメ筋ならびに足底筋のVDRタンパク質発現量がおおよそ20%高い値を示した (図5)。

4週間の自発走トレーニングをおこなったところ、足底筋ならびに上腕三頭筋のVDRタンパク質発現量がControl群と比較して有意に増加していた (図6)。しかし、遅筋線維優位筋であるヒラメ筋のVDRタンパク質発現量は増加しなかった。先行研究では、運動トレーニングの種類によってトレーニングに用いられる筋の部位が異なる可能性が指摘されている (Hokari et al., 2010; Kawasaki et al., 2009)。本研究で用いた自発走トレーニング (回転輪) は、足底筋ならびに上腕三頭筋が主働筋として用いられることで知られている。すなわち、運動トレーニングで用いられた筋において、活動部位依存的

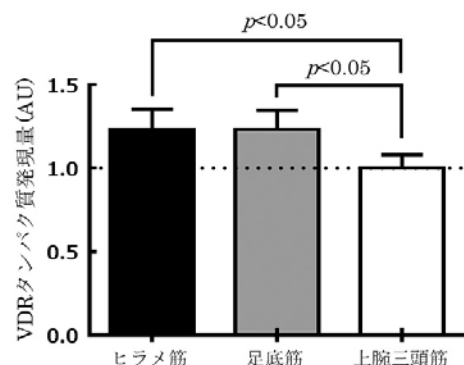


図5. 部位別のVDRタンパク質発現量の違い。

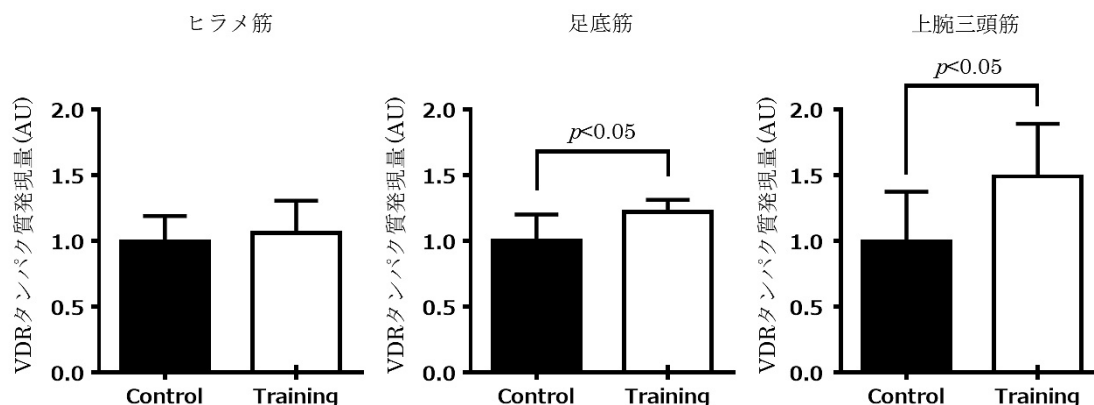


図6. 自発走トレーニングによる骨格筋 VDR タンパク質発現量の変化。

に VDR タンパク質発現量が増加したことが明らかになった。

(3) まとめ

「ビタミンDと糖取込研究チーム（課題番号：170623）」は、3年間の研究期間を予定して推奨研究プロジェクトを推進してきたものの、所属メンバーの異動にともない2年間で研究を終了することになった。そのため、当初予定していたすべての研究課題を実施することはできなかったものの、ビタミンDや運動が糖代謝に及ぼす影響についていくつかのポジティブな成果を得ることができた。

本研究では、経口ビタミンD摂取量の違いならびに運動トレーニングが骨格筋の VDR タンパク質発現量ならびに糖代謝に及ぼす影響について検証をおこなった。本研究の結果から、ビタミンDの摂取量は欠乏状態でも過剰状態でも耐糖能力に悪影響を及ぼす可能性が示された。ビタミンD摂取量の違いによって GLUT 4 タンパク質発現量には違いがなかったことから、現在、GLUT 4 のトランスロケーションに関与するシグナル伝達物質（Akt キナーゼや Foxo 1 など）のタンパク質発現量ならびに活性レベルについて検証を進めている。

経口ビタミンD摂取量の増加は、安静時の骨格筋 VDR 受容体発現量を増加させなかった。しかし、運動トレーニングは、トレーニングに用いられた部位の骨格筋 VDR タンパク質発現量を増加させた。経口摂取したビタミンDは、肝臓や腎臓で代謝された後に活性型ビタミンDとなって VDR に作用し、様々な生理作用を引き起こす。すなわち、運動トレーニングによって骨格筋の VDR が増加した状態でビタミンDを摂取すれば、経口摂取したビタミンDの効果をより高めることができるかもしれない。将来的には、運動と経口ビタミンD摂取の相加的な効果について検証していく必要がある。

謝辞

本研究の一部は、福岡大学研究推進部の研究経費によるものである（課題番号：177109）。

研究業績

特になし

引用文献

- Agrawal, T., Gupta, G. K., & Agrawal, D. K. (2013). Vitamin D supplementation reduces airway hyperresponsiveness and allergic airway inflammation in a murine model. *Clin Exp Allergy*, 43 (6), 672-683. doi: 10.1111/cea.12102
- Bischoff-Ferrari, H. A., Borchers, M., Gudat, F., Durmuller, U., Stahelin, H. B., & Dick, W. (2004). Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res*, 19 (2), 265-269. doi: 10.1359/jbmr.2004.19.2.265
- Bischoff, H. A., Borchers, M., Gudat, F., Duermueller, U., Theiler, R., Stahelin, H. B., & Dick, W. (2001). In situ detection of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in human skeletal muscle tissue. *Histochem J*, 33 (1), 19-24.
- Girgis, C. M., Clifton-Bligh, R. J., Hamrick, M. W., Holick, M. F., & Gunton, J. E. (2013). The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocr Rev*, 34 (1), 33-83. doi: 10.1210/er.2012-1012
- Girgis, C. M., Mokbel, N., Cha, K. M., Houweling, P. J., Aboud, M., Fraser, D. R., . . . Gunton, J. E. (2014). The vitamin D receptor (VDR) is expressed in skeletal muscle of male mice and modulates 25-hydroxyvitamin D (25 OHD) uptake in myofibers. *Endocrinology*, 155 (9), 3227-3237. doi: 10.1210/

en.2014-1016

- Hokari, F., Kawasaki, E., Sakai, A., Koshinaka, K., Sakuma, K., & Kawanaka, K. (2010). Muscle contractile activity regulates Sirt 3 protein expression in rat skeletal muscles. *J Appl Physiol* (1985), 109 (2), 332-340. doi: 10.1152/jappphysiol.00335.2009
- Kawasaki, E., Hokari, F., Sasaki, M., Sakai, A., Koshinaka, K., & Kawanaka, K. (2009). Role of local muscle contractile activity in the exercise-induced increase in NR4A receptor mRNA expression. *J Appl Physiol* (1985), 106 (6), 1826-1831. doi: 10.1152/jappphysiol.90923.2008
- Makanae, Y., Ogasawara, R., Sato, K., Takamura, Y., Matsutani, K., Kido, K., ... Fujita, S. (2015). Acute bout of resistance exercise increases vitamin D receptor protein expression in rat skeletal muscle. *Exp Physiol*, 100 (10), 1168-1176. doi: 10.1113/ep085207