

氏 名	みやもと りひと 宮 本 理 人
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1945 号
学位授与の日付	平 成 20 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Effect of Acute Activation of 5'-AMP-Activated Protein Kinase on Glycogen Regulation in Isolated Rat Skeletal Muscle (ラット骨格筋における急性の AMPK 活性化がグリコーゲン制御におよぼす効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 稲 垣 暢 也 教 授 野 間 昭 典 教 授 岩 田 想

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】骨格筋において筋収縮時に活性化される分子、5'AMP-activated protein kinase (AMPK) が運動の効果を媒介し、糖代謝制御の鍵となる分子として近年注目されている。そこで、骨格筋における糖代謝の重要な要素であるグリコーゲンの制御に着目し、AMPK 活性化作用を持つ化合物である 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside (AICAR) を用いることにより、未だ不明な点の多い筋収縮時のグリコーゲン制御における AMPK の役割を明らかにすることを試みた。

【方法】一晩絶食させた雄性 SD ラット (130 g) から単離した epitrochlearis 筋に対し、2 mM AICAR および、1 μ M insulin 等の薬物刺激または、電気刺激による筋収縮を行い、ホモジネート上清画分におけるグリコーゲン合成酵素 (GS) および、分解酵素 (GP) の活性を測定した。さらに、各刺激後、筋肉中のグリコーゲンを酸加水分解し、hexokinase 法にて定量した。以上の検討において、グルコースの代謝産物による二次的な影響を除くため、刺激時のバッファーにはグルコースのかわりにピルビン酸を用いた。また、グルコースを添加したバッファー中で単離筋を刺激したときに放出される乳酸量を lactate oxidase-peroxidase 法にて測定した。

【結果】AICAR 刺激により、筋収縮時と同程度の AMPK 活性化および、糖取り込みの促進が認められた。しかし、GS の強い活性化が認められた筋収縮時やインスリン刺激時とは逆に、AICAR 刺激時には GS 活性の抑制が認められた。また、この GS 活性抑制はインスリン同時刺激時にも認められた。GP に関しても、強い活性化が認められた筋収縮時とは異なり、AICAR 刺激時には GP 活性上昇は認められなかった。さらに、AICAR 刺激時にはグリコーゲン量の変化も認められなかった。また、単離筋から放出された乳酸量は筋収縮時同様、AICAR 刺激時にも増加していた。

【考察】In vitro にて AICAR 代謝物である ZMP をホモジネートに直接暴露したところ、GS 活性は変化しなかったことから、AICAR 刺激時に起こる GS 活性抑制は ZMP による非特異的作用ではなく、AMPK 活性化によるものであると示唆された。よって、筋収縮時に生じる GS 活性の上昇は AMPK を介して生じているのではなく、むしろ、AMPK の活性化はグリコーゲン合成の抑制を引き起こすと考えられる。一方、グリコーゲン分解系においても筋収縮時と異なり、AICAR 刺激時には GP 活性上昇が認められなかった。グリコーゲン量の変化もそれに対応し、減少が認められなかった。GS と同様に、ZMP をホモジネートに直接暴露したところ、GP 活性の上昇が認められた。これらのことから、筋収縮時に生じる GP 活性上昇は AMPK 活性化によるものではないと考えられる。最後に、AICAR 刺激時に乳酸の放出量が上昇していたことから、解糖系が促進されている可能性が示唆された。よって、筋収縮時に生じる AMPK 活性化は糖の取り込みを促進する一方で、グリコーゲン合成をむしろ抑制することにより解糖系に多くの糖を送り込み、ATP 合成を促進する機能を担っている可能性が明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

5'AMP-activated protein kinase (AMPK) は骨格筋において筋収縮時の糖代謝制御の鍵となる分子として近年注目されている。しかし、グリコーゲン制御における AMPK の役割は不明な点が多い。本研究では、AMPK 活性化作用を持つ、5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside (AICAR) を用い、ラット単離骨格筋において、急性の AMPK 活性化がグリコーゲン代謝制御に及ぼす効果を検討した。

AICAR 刺激による AMPK 活性化と糖取り込みの促進は筋収縮時と同程度であった。筋収縮時やインスリン刺激時にはグリコーゲン合成酵素 (GS) の活性化が認められたのに対し、AICAR 刺激時には GS 活性はむしろ抑制された。筋収縮時にはグリコーゲン分解酵素 (GP) の活性化が認められたのに対し、AICAR 刺激時には GP 活性の上昇は認められず、グリコーゲン量の減少も認められなかった。AICAR 刺激により、単離筋から放出される乳酸量は筋収縮時と同様に増加し、AMPK 活性化による解糖系の促進が示唆された。

以上の研究は、筋収縮時に生じる AMPK 活性化が糖の取り込みを促進する一方で、グリコーゲン合成を抑制し、解糖系により多くの糖を送り込むことにより ATP 合成を促進する機能を担っている可能性を明らかにし、糖代謝制御の分子機構解明に寄与するものである。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成19年11月9日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。