

総説 筋活動による骨格筋糖輸送機能の変化

樋口 満*・川中健太郎**・田畑 泉*・勝田 茂***

The changes of skeletal muscle glucose transport capacity by muscle contractile activity

Mitsuru HIGUCHI*・Kentaro KAWANAKA**・Izumi TABATA*・Shigeru KATSUTA***

I. はじめに

骨格筋は血液より、脂肪酸とともに糖をエネルギー源として取り込んで収縮活動を行っている。人体において骨格筋が占める量的割合は非常に大きく、血液中の糖の85%以上は骨格筋において代謝されている⁶⁾。摂食後など血糖値が高まると膵臓よりインスリンが分泌され、骨格筋に作用することにより筋の糖取り込みが亢進し血糖値を低下させるが、慢性的な高血糖状態をその症状とする糖尿病は膵臓からのインスリン分泌量の低下(インスリン依存型)とともに、インスリンが作用したときに筋が糖を取り込む能力の低下(インスリン非依存型)によって発症する人が多い。運動を行うことは糖尿病の予防と治療に有効であるといわれるが、これは、1) 運動時、筋の収縮活動がインスリンの作用とは無関係に骨格筋の糖取り込みを亢進させる、2) 運動時および運動後、活動筋でインスリンの効き目が増強される、3) 運動を継続して行うとインスリンに反応して骨格筋が糖を取り込む能力が高まるためであ

る。本稿では、筋の糖輸送機能に関する、これら3つの重要な現象のメカニズムについて概説する。

II. 運動時に骨格筋の糖取り込み反応が亢進する機序

A. 筋収縮による糖取り込み反応の亢進

運動時には血中インスリンレベルは低下する場合が多い。しかし、このような場合でも活動筋における血糖取り込み反応は亢進する。この現象の説明については長い間議論がなされてきたが、筋収縮を発端としたシグナルがインスリンの作用に依存せずに局所的に糖取り込みを亢進させる作用をもつことが明らかにされている。つまり、運動時には活動筋への血流量が増すとともに筋収縮由来に糖取り込み反応が亢進することにより、骨格筋はエネルギー源としての血糖取り込みを亢進させていると考えられる。この知見は、1965年、Holloszy and Narahara²⁰⁾が血流量や体液性因子の影響を除去して実験できる in vitro の系で、カエルの縫工筋に電気刺激を加え

* 国立健康・栄養研究所 健康増進部 (〒162 東京都新宿区戸山1-23-1)

* Division of Health Promotion, National Institute of Health and Nutrition, Tokyo, Japan. 1-23-1
Shinjuku-ku, Toyama, Tokyo, 162 Japan

** 筑波大学大学院・博士課程体育科学研究科 (〒305 茨城県つくば市天王台1-1-1)

** Doctoral Program in Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan. 1-1-1
Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305 Japan

*** 筑波大学体育科学系 (〒305 茨城県つくば市天王台1-1-1)

*** Institute of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan. 1-1-1 Tennodai,
Tsukuba, Ibaraki, 305 Japan

て筋収縮させると糖の取り込みが亢進するという報告により初めて明らかにされた。しかし、当時、この見解は両生類の筋に特有な現象であり哺乳類の筋には当てはまらないのではないかという理由により一般的に受け入れられるには至らなかった。しかし、1984年、Ploug et al.³²⁾は、ラット後肢筋をインスリン抗体を含んだ溶液で灌流することにより筋にインスリンが作用しなくなった状態で、電気刺激により筋を収縮させて糖取り込み速度を測定し、インスリンの作用がなくても筋収縮によって骨格筋の糖取り込み反応が亢進することを報告した。さらに、1985年、Nesher et al.²⁹⁾はラット滑車上筋 (Epitrochlearis: 以下EPI) を用いた *in vitro* の実験系において同様な知見を示した。この筋収縮による最大糖取り込み効果とインスリンによる最大糖取り込み効果は加算的になることが示されており (図1)、筋収縮とインスリンはそれぞれ別個の情報伝達経路を介して糖の取り込みを亢進させると考えられている。

B. 糖輸送体 (グルコーストランスポーター) のトランスロケーション

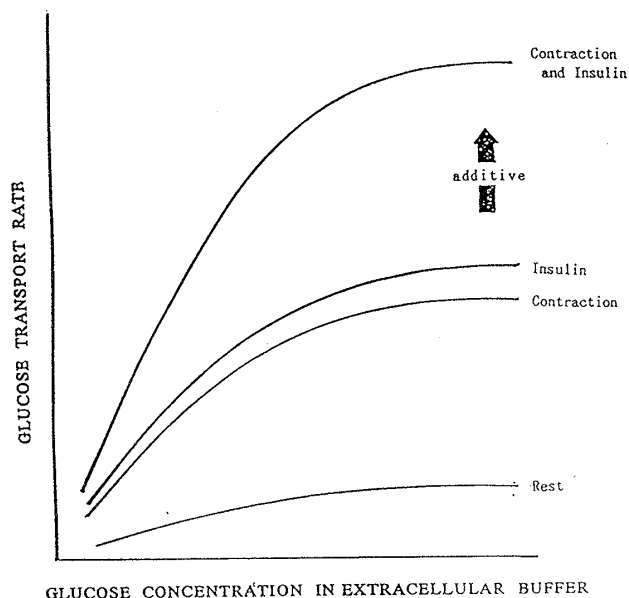


図1 *In vitro* に摘出してきたラット骨格筋EPIをインスリン刺激または電気刺激によって収縮させたときの最大糖取り込み速度。Buffer中のグルコース濃度を変化させて測定している。インスリンと筋収縮の効果は加算的になる。(Nesher et al. 1985を筆者が加筆して作成)

骨格筋が血液中から糖を取り込むメカニズムはどのようなものであろうか。糖は親水性の物質であるので、脂質二重膜からなる細胞膜を勝手に通り抜けることはできない。したがって、糖は糖輸送体と呼ばれるタンパク質キャリアを介して促進拡散的に細胞内に取り込まれる。主なインスリン感受性組織である骨格筋や脂肪細胞にはGLUT 4と呼ばれるタイプの糖輸送体が存在し、普段は細胞内ミクロソーム画分 (エンドソームやゴルジ体) にとどめられているが、インスリンの刺激により細胞膜へ移動 (トランスロケーション) してきて糖を取り込むことが報告されている^{7,13,19,23)} (図2)。もし、普段からGLUT 4が細胞膜に存在して、常時、糖を取り込んでいては低血糖になり糖を主要なエネルギー源としている中枢の脳にとっては都合が良くない。そのために、血糖を量的に最も多く取り込んでいる筋や脂肪細胞には、必要なときだけGLUT 4をトランスロケーションさせることにより糖を取り込むしくみが備わっているのだろう。このトランスロケーションのメカニズムはインスリンを注射したラットから筋を取り出しホモジナイズした後、細胞内低比重ミクロソーム画分と細胞膜画分を生化学的に分離して、それぞれの膜成分に存在するGLUT 4の量をインスリン注射前と比較定量することによって明らかにさ

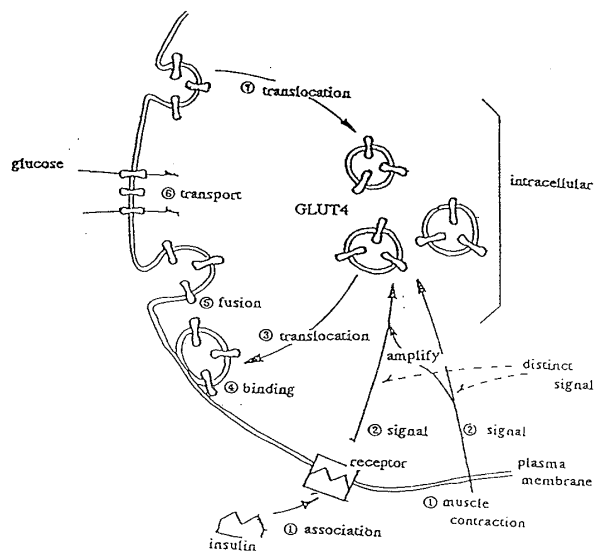


図2 インスリンまたは筋収縮刺激によって生じた何らかのシグナルは、GLUT 4を細胞内プールから細胞膜上へ動員させて糖取り込みを促進させる。(Karieli et al. 1981を筆者が加筆して作成)

れた^{7,13,19)}。最近になって、Friedman et al.⁸⁾ (1991), Marete et al.²⁸⁾ (1992) は、生化学的および免疫組織化学的手法によって、インスリン刺激により GLUT 4 がT細管上や三連構造 (Triad) 付近へとトランスロケーションする可能性を示唆している。この結果は筋細胞の内部へ深く陥入しているながらも細胞外液と直接接しているT細管の膜を介して糖を拡散させた方が、サルコレンマを介するよりも筋線維の奥の方にまで糖を行き届かせるために都合が良いことを示しているのかもしれない。筋収縮も GLUT 4 をトランスロケーションさせることによって糖取り込みを亢進させるという点ではインスリンと共通である^{7,9,12,18)}。しかし、Douen et al.⁷⁾ (1990) は、インスリンとは異なって筋収縮の場合には、細胞内ミクロソーム画分からの GLUT 4 量の減少を引き起こさずに細胞膜表面の GLUT 4 量の増加を引き起こすという知見を報告している。これについて、彼らは筋収縮とインスリンは異なった細胞内プールから GLUT 4 を動員するのではないかという仮説を提唱している。

GLUT 4 トランスロケーションをもっと詳細に観察するとどのようなになっているのだろうか。Slot et al.⁴⁰⁾ (1991) や Takata et al.⁴²⁾ (1992) の電顕を用いた免疫組織化学的研究によれば、褐色脂肪細胞や骨格筋細胞においてはインスリン刺激前は GLUT 4 の多くが細胞内の管状ないし小胞構造 (tubulovesicular structures: TV 構造) に位置しているという (図 3)。この TV 構造はエンドゾームと考えられる小胞が連なっている場所である。GLUT 4 はこのエンドゾームから小胞に包まれた状態で細胞膜へと移行を始める。小胞は細胞膜に結合し、さらに融合することによって GLUT 4 が細胞膜表面に顔を出し糖を取り込む。脂肪細胞の GLUT 4 小胞を精製して小胞内に入っているその他のタンパクを調べてみると、細胞内と細胞膜の間をリサイクルしている受容体が多くみつけられている²²⁾。細胞表面の受容体はエンドサイトーシス (小胞輸送による細胞膜から細胞内への移行) とエキソサイトーシス (細胞内から細胞膜への移行) を繰り返してリサイクルしているが、したがって、GLUT 4 もこれらの受容体と同様にリサイクルしている可能性が高い。

Yang et al.⁴⁴⁾ (1993) は、細胞膜非通過性の物質で糖輸送体と特異的結合を有する bismannose の誘導体に放射活性と光標識能を付与した 2-N-4

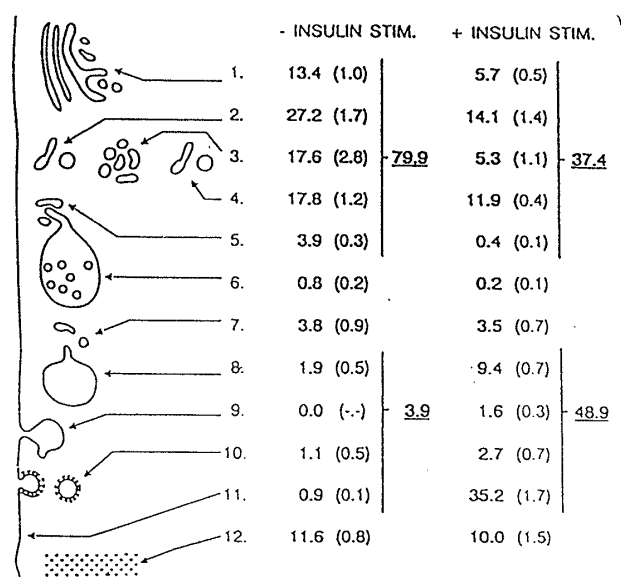


図3 ラット褐色脂肪細胞におけるインスリン非刺激時、刺激時の GLUT 4 の細胞内分布量 1: Golgi region 2: TV elements (細胞膜下0.5 μm以内に分布) 3: TV elementsの集まり 4: 細胞質内に分布するTV elements 5 & 6: late endosomal vacuolesに隣接 (5) あるいは接続 (6) するTV elements 7 & 8: early endosomal vacuolesに隣接 (7) あるいは接続 (8) するTV elements 9: 細胞膜のnoncoated invaginations 10: coated pitsとvesicles 11: 細胞膜 12: 脂肪質。値は平均値を示し、() 内はSEを示す。(Slot et al. 1991)

(1-azi-2,2,2, trifluoroethyl) benzoyl-1,3-bis (D-mannos-4-ylozy)-2-propylamin (ATB-BMPA) という標識物質を用い脂肪細胞における糖輸送体のエキソサイトーシス速度とエンドサイトーシス速度を測定した。それによると、インスリン刺激前は糖輸送体のエキソサイトーシス速度はエンドサイトーシス速度に比べて極端に遅く、これにより、糖輸送体は細胞内にとどまることになる。インスリン刺激によってエンドサイトーシス速度はほとんど変化しないがエキソサイトーシス速度が速くなるので糖輸送体は細胞膜へと移動する。また、Slot et al.⁴⁰⁾ (1991) の褐色脂肪細胞を用いた免疫組織化学的研究によれば、細胞内のTV構造の中でも場所によっては (膜表面受容体などのリサイクリングタンパクが細胞内へエンドサイトーシスしてきて取り込まれたときの) 小胞構造と考えられる初期エンドゾーム、図3の

(8)), インスリン刺激によって GLUT 4 が増加する場所がある。この知見より, GLUT 4 は普段, 細胞内 (図 3 の (2) (3) (4)) に選択的に留まっているが, インスリン刺激により初期エンドソーム (図 3 の (8)) と細胞膜をリサイクルする経路に動員されてくるのではないかという仮説が立てられている。このようなインスリン刺激に関して得られた知見が筋収縮の場合にも当てはまるかどうかは今後の検討課題である。

生化学的に分離された細胞膜からなる小胞について, *in vitro* で糖取り込み速度を測定する方法がある。このとき, 同時に細胞膜に存在する GLUT 4 量を定量したところ, インスリンや筋収縮による糖取り込み反応の亢進は細胞膜上の GLUT 4 量の増加だけでは説明できず, 個々の GLUT 4 の活性度 (intrinsic activity) の上昇を仮定しなければならないとする報告がなされている^{12,13)}。ただし, 骨格筋の場合, 純粋な細胞膜画分を得ることは非常に難しく, この結果を即受け入れることには注意を要する。最近, Wilson and Cushman⁴³⁾ (1994) は, 細胞膜を分画する方法ではなくて, ATB-BMPA を用いて細胞膜表面の糖輸送体を標識する方法により, インスリン刺激によるラットヒラメ筋における細胞膜上の糖輸送体数の増加を調べた。その結果, 膜上の糖輸送体数の増加は 8 倍に達し, 3-O-methylglucose 取り込みの 8.6 倍の亢進を全て説明できるとの知見を示している。その他, Rodnick et al.³⁸⁾ (1992) も電子顕微鏡でラットヒラメ筋における GLUT 4 のトランスロケーションを観察し, インスリンによる糖取り込み亢進は GLUT 4 のトランスロケーションによって説明できるもので, intrinsic activity の増加は関与しないという見解を示している。

C. 糖取り込みを引き起こす筋収縮由来の情報源とその伝達

持久性運動の場合, 運動時間が長くなると血液中から糖を取り込んでエネルギー源とする割合が高まる¹⁾。この理由としては, 運動時間依存的に筋グリコーゲンが減少していくことによって生じる糖質の不足をよりたくさん血糖を取り込むことによって補うという解釈が考え易い。実際, Gollnick et al.¹¹⁾ (1981) は, ヒトの自転車運動中の脚筋における糖取り込み速度は筋グリコーゲン量と逆比例の関係にあることを報告している。また, Katz et al.²⁴⁾ (1986)

はヒトの自転車運動中の脚筋の PCr レベルと糖取り込み速度の間にやはり逆比例の関係をみいだしている。このように, 筋の代謝状態がエネルギー不足の方向に傾くことが糖の取り込みを亢進させている可能性がある。しかし, Nolte et al.³¹⁾ (1994) は, ラットにエピネフリンを注入しグリコーゲン量を減少させた後, 摘出した EPI の糖取り込み速度を測定したところ, グリコーゲンの減少そのものはインスリン非依存的な糖取り込み速度をわずかしき増加させないことを報告している。また, Holloszy and Narahara²⁰⁾ (1965) は, カエルの縫工筋を電気刺激により *in vitro* で筋収縮させた際, 糖取り込み速度はなされた仕事量や PCr レベルとは関係しないことを報告している。このように, 筋収縮による糖取り込みには代謝状態の変化以外の要因も大きく関係していると推測される。Youn et al.⁴⁶⁾ (1991) はラット EPI を筋小胞体からの Ca^{2+} 放出を促進する W-7 やカフェインを含む buffer 中で *in vitro* においてインキュベーションすると糖取り込み反応が筋収縮刺激による最大糖取り込み効果と同じ程度にまで亢進することを報告している。つまり, 筋収縮のセカンドメッセンジャーである Ca^{2+} が糖取り込みのメッセンジャーの役割を果たしているという可能性が示唆されている。

糖取り込みを引き起こす筋収縮由来の情報源が何であるかが不明確なので, その後の GLUT 4 のトランスロケーションにつながる情報伝達経路はほとんどわかっていない。インスリンに関しては, 最近, インスリン受容体の自己リン酸化によるチロシンキナーゼ活性の上昇→インスリン受容体の基質タンパクである insulin receptor substrate-1 (IRS-1) のチロシン残基リン酸化→IRS-1 のリン酸化チロシン残基への phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) の結合と活性化の段階が重要であることが示唆されている (図 4)。このことは, PI3-kinase の阻害剤である wortmannin がラット EPI のインスリンによる糖取り込みを完全に阻害することからも明らかになりつつある⁴⁵⁾。しかし, 筋収縮による糖取り込みは wortmannin によって全く阻害されない⁴⁵⁾。したがって, 筋収縮とインスリンは全く異なる情報伝達経路により GLUT 4 をトランスロケーションさせるのではないかと考えられる。なお, ラット EPI を *in vitro* の低酸素条件下でインキュベーションすると糖取り込みがインスリンや筋収縮の場合とほぼ同程

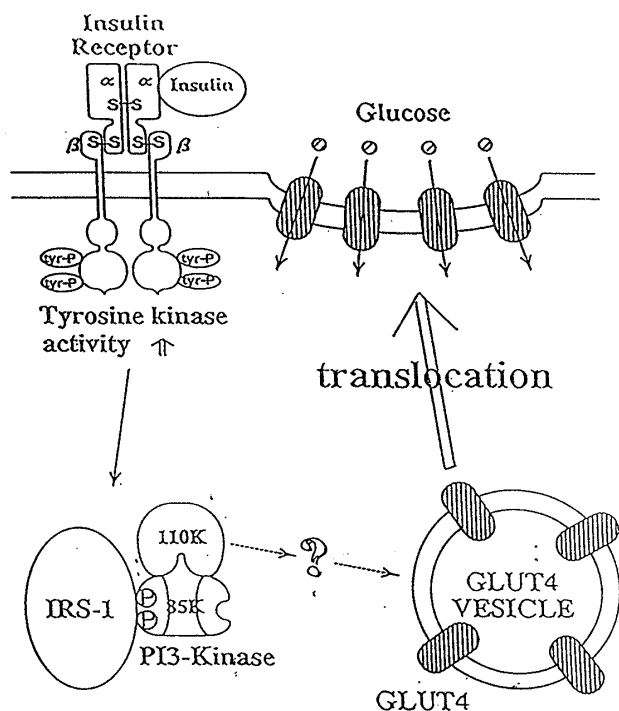


図4 インスリンが受容体に結合すると、受容体βサブユニットの自己リン酸化によるチロシンキナーゼ活性の上昇によりIRS-1のチロシン残基がリン酸化される。IRS-1のリン酸化チロシン残基にはPI3-kinaseの分子量85,000サブユニットが結合し、これにより分子量110,000サブユニットのリン酸化酵素が活性化される。この情報伝達経路がインスリン刺激によってGLUT4がトランスロケーションするために重要であると考えられている。

度にまで亢進する⁵⁾。このとき、低酸素とインスリンの最大効果には加算性がみられるが、低酸素と筋収縮の最大効果には加算性はみられない。したがって、筋収縮は低酸素条件に筋をおいた場合と同様な情報伝達経路を介して糖の取り込みを亢進させると考えられる。

D. 筋収縮によるインスリン作用の増強

筋収縮はインスリンの作用とは無関係に糖取り込みを亢進させるとともに、インスリンのもつ糖取り込み効果を局所的に増強させる働きをもつ^{15,36)} (図5)。この筋収縮によるインスリン作用の局所的増強は運動時の糖取り込み亢進に大きく貢献しているとともに¹⁷⁾、これにより、運動時に失われたグリコーゲンを筋は運動後に補償することができる。

Nolte et al.³¹⁾はラットにエピネフリンを注入して

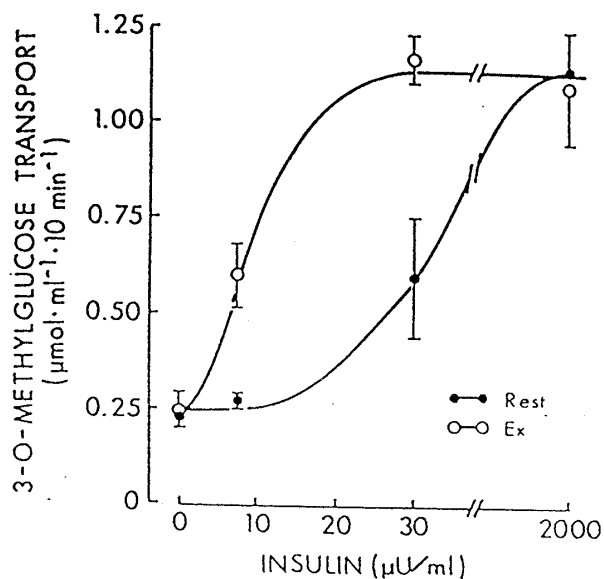


図5 水泳運動3時間後にラットEPIにおいてインスリン刺激時の糖取り込み速度をin vitroで測定している。Restは非運動群、Exは運動群。運動群と非運動群ではインスリン刺激に対する最大糖取り込み反応には差はないが、運動群のEPIはbuffer中のインスリン濃度が低いときも高い糖取り込み反応を示している。(Gulve et al. 1990)

筋のグリコーゲン量を減少させると運動後にみられるようなインスリン感受性の亢進が観察されることから、筋収縮由来にグリコーゲン量が減少することが運動後のインスリン感受性の亢進を引き起こしている可能性を示唆している。しかし、運動後、グリコーゲン量がもとのレベルにまで回復してもインスリン感受性の亢進は持続する^{10,47)}。これが、運動後のグリコーゲンの過補償現象を説明するひとつの要因と考えられる。したがって、運動後のインスリン感受性の亢進を引き起こす要因としても筋グリコーゲンの減少以外の因子を考えなければならないだろう。

インスリンによる糖取り込みを引き起こす情報伝達経路として重要と考えられているインスリン受容体の自己リン酸化によるチロシンキナーゼ活性の上昇→IRS-1のチロシン残基リン酸化→IRS-1のリン酸化チロシン残基へのPI3-kinaseの結合と活性化の段階(図4)を筋収縮は増強しないことをGoodyear et al.¹⁴⁾(1995)は報告している。したがって、筋収縮によるインスリン感受性の増強は図4で

示した情報伝達経路の下流あるいは GLUT 4 のトランスロケーションに直接拘わるステップの増強によると考えられる。Tabata et al.⁴¹⁾ は、in vitro でラット EPI をインスリン刺激するときにリチウムを加えると糖取り込みのインスリン感受性が増強されることを報告している。これは、運動と同じ効果である。リチウムはその他にも筋グリコーゲンの過補償現象を引き起こすなど運動とよく似た現象を引き起こすことが知られており、リチウムの作用機序を探ることによって筋収縮によるインスリン作用増強のメカニズム解明につながることを期待される。

Ⅲ. 身体トレーニングによる骨格筋糖輸送能力の向上

運動不足は糖尿病様の症状を引き起こす。例えば、Blotner et al.³⁾ (1945) は、86 人の非糖尿病患者が病氣により数カ月安静にただけで耐糖能が著しく低下し、なかには完全に糖尿病のパターンを示すに至った症例のあることを報告している。逆に、身体トレーニングは血糖調節機能を向上させる。Sato et al.³⁹⁾ (1986) は非鍛錬者に持久性トレーニングを負荷することにより、最大酸素摂取量とともにインスリン感受性の指標としての euglycemic clamp 法で測定したグルコース代謝量が増大することを報告している。DeFronzo et al.⁶⁾ (1981) は、euglycemic clamp 法から求められたグルコース代謝量の 85% 以上は骨格筋のグルコース取り込みにもとづくことを報告しており、不活動やトレーニングによるグルコース代謝量の変化は骨格筋の機能変化によるものと考えられる。したがって、エネルギー源として筋が糖を代謝する機能は活動量に応じて調節されていると考えられる。また、筋におけるインスリンの糖取り込み作用が減弱するインスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) を引き起こす要因として、身体活動量の不足が挙げられるだろう。骨格筋が糖を取り込む段階は細胞内の糖代謝経路の源流段階であり律速段階になる場合が多い。以下、トレーニングによって骨格筋の糖取り込み機能が向上するメカニズムについて我々の実験によって得られたデータを中心に概説する。

A. トレーニングによる骨格筋糖輸送機能の上昇と GLUT 4 含量の増加

最近、Hansen et al.¹⁶⁾ (1995) は、マウス受精卵に GLUT 4 遺伝子を導入し、その結果、骨格筋にお

いて GLUT 4 が約 2 ～ 4 倍過剰発現したトランスジェニックマウスではインスリンや筋収縮に反応して糖を取り込む能力が上昇していることを報告している。つまり、骨格筋に蓄えられている GLUT 4 の量が多いとそれだけインスリンや筋収縮刺激に反応してより多くの GLUT 4 をトランスロケーションさせることができるという仮説が成り立つ。ラットにトレーニングを負荷するとインスリン刺激に反応して骨格筋が糖を取り込む最大能力が増すが、この糖輸送能力の増大は GLUT 4 含量の増加とほぼ平行的に生じる^{2,4,33,35,37)}。したがって、トレーニングによる骨格筋の最大糖輸送能力の増加は GLUT 4 含量の増加によるという仮説が一般的には信じられている。それでは、筋収縮刺激に対する骨格筋の最大糖取り込み反応性もトレーニングによって GLUT 4 含量の増加に依存して上昇するのであろうか。そこで、ラットにいくつかの種類のトレーニングを負荷してトレーニング終了 2 日後に EPI の GLUT 4 含量とインスリンおよび筋収縮刺激による最大糖輸送能力の変化を検討した (川中ら 未発表資料, 図 6)。その結果、インスリン反応性は GLUT 4 含量の変化とほぼ平行的な変化を示したが、筋収縮反応性の変化は GLUT 4 含量の変化程度よりも小さかった。このように、インスリンおよび筋収縮刺激に対する糖取り込み反応性はトレーニングによってそれぞれ別個に調節されている可能性が示唆される。これは、インスリンと筋収縮のそれぞれによって動員される GLUT 4 が細胞内の別のプールに蓄えられていて、それぞれのプールにおける GLUT 4 のトレーニングによる増え方が異なる可能性を示す知見と考えられる。

最近、我々は、Ezaki et al. の研究グループより譲り受けたトランスジェニックマウスを用いて、GLUT 4 が約 2 倍過剰発現したマウス骨格筋の糖取り込み能力を測定した。このマウス骨格筋ではインスリンに反応して糖を取り込む能力が上昇していたが、その上昇程度は約 1.4 倍であり、GLUT 4 発現の増加量の程度 (約 2 倍) よりも小さかった (川中ら 未発表資料)。トレーニングの場合は GLUT 4 含量の増え方にほぼ平行的にインスリン反応性が上昇することを考えると、トレーニングは GLUT 4 を増やすとともに、増えた GLUT 4 をトランスロケーションさせるために必要な機能も同時に変えている可能性があるかもしれない。

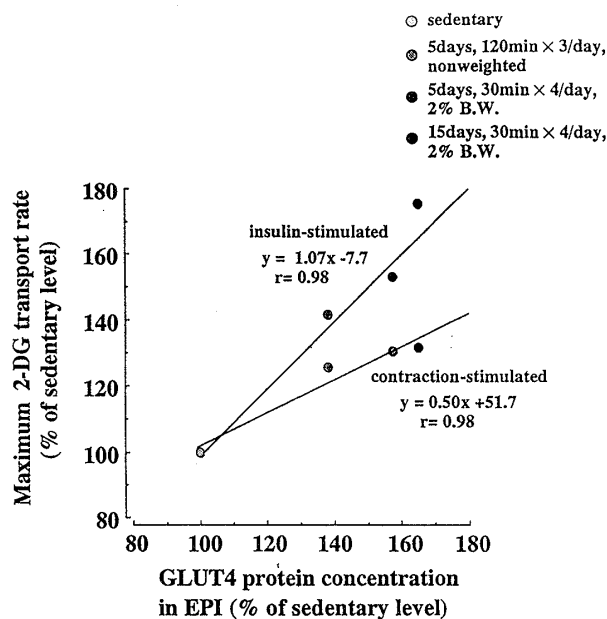


図6 EPIのGLUT 4 含量の増え方が異なる3種類のトレーニングをラットに負荷し、トレーニング終了2日後に筋収縮刺激またはインスリン刺激に対する糖取り込み最大反応性を測定した。非トレーニング群のレベルを100%として、横軸はGLUT 4 含量の増加率を、縦軸は最大糖取り込み反応の増加率を表している。インスリン反応性の増加率はGLUT 4 含量の増加率とほぼ等しかったが、筋収縮反応性の増加率はGLUT 4 含量の増加率よりも小さかった。

(川中ら, 未発表資料)

B. トレーニングによる骨格筋GLUT 4 含量増加のメカニズム

トレーニングによる骨格筋糖輸送機能の上昇にGLUT 4 含量の増加が大きく関与しているわけだが、トレーニングによってGLUT 4 タンパクが増える機序はどのようなものであろうか。これを理解するためには、まず、骨格筋のGLUT 4 含量を増加させるトレーニング由来の刺激が何であるかを整理する必要がある。ラットの片脚の腓腹筋の腱を切除すると不活動になった腓腹筋では体液性因子が同じである対側脚に比べてGLUT 4 含量が減少し、代償的に活動量が増して肥大した足底筋では対側脚に比べてGLUT 4 含量が増加した²⁵⁾。したがって、筋の活動刺激がGLUT 4 含量を調節していると考えられる。また、トレーニングを行ったときのGLUT 4 含量の増加は運動に関与した筋においてのみ生じるの

で、トレーニングによるGLUT 4 含量の増加は筋の活動刺激由来であると考えられる²⁶⁾。さらに、GLUT 4 含量は筋量と平行に増加するのではなく、持久性運動のように筋量を増さないがミトコンドリア酵素活性を高めるようなトレーニングによって特異的に増加する²⁶⁾。つまり、骨格筋のGLUT 4 含量を調節している筋の活動刺激はミトコンドリアを発達させるような持久性タイプの刺激である。骨格筋における高エネルギーリン酸化合物(ATP, PCr)の量を減少させるクレアチンアナログである β -guanidinopropionic acid (β -GPA)の投与によって、骨格筋のミトコンドリア酵素活性の亢進とともにGLUT 4 含量が増加する³⁴⁾。筋収縮は高エネルギーリン酸化合物の分解と合成を活発にし、また、 β -GPA投与と同様にPCrの濃度を減少させる。したがって、筋収縮にともなうATPやPCrのturnoverの亢進、または、PCrの減少がミトコンドリアとGLUT 4 タンパクの発現量の増加を引き起こす共通の要因のひとつとして挙げられるかもしれない。

ラットにストレプトゾトシン(STZ)という膵臓の β 細胞を破壊する薬剤を注入してインスリン欠乏性の糖尿病にすると骨格筋のGLUT 4 含量は減少する²⁷⁾(図7, 8)。これより、インスリンの作用が骨格筋GLUT 4 含量を調節している可能性が示唆される。筋の活動刺激はGLUT 4 含量を増やす作用をもつが、この場合、局所的にインスリンの作用を増強することによってGLUT 4 含量を増やしている可能性がある。そこで、我々は、インスリン欠乏状態にあるラットの骨格筋にトレーニングによって筋活動を負荷してGLUT 4 含量の変化を検討した²⁷⁾(図7)。その結果、インスリンの存在しない条件でもトレーニングはGLUT 4 含量を増加させたので、筋の活動刺激はインスリン非依存的にGLUT 4 含量を増加させる働きがあると考えられる。また、我々は、骨格筋GLUT 4 含量に対する除神経による筋活動の停止とインスリン欠乏の効果を検討したところ、両者の効果は加算的であった²⁷⁾(図8)。先行研究により、実験で用いた除神経とインスリン欠乏の条件はGLUT 4 含量の減少に対してそれぞれ最大効果をもたらすと考えられるので、筋活動とインスリンはそれぞれ別の経路を介してGLUT 4 含量を調節している可能性が高い。これより、インスリン非依存的に一過性に糖取り込みを亢進させる筋の収縮刺激は

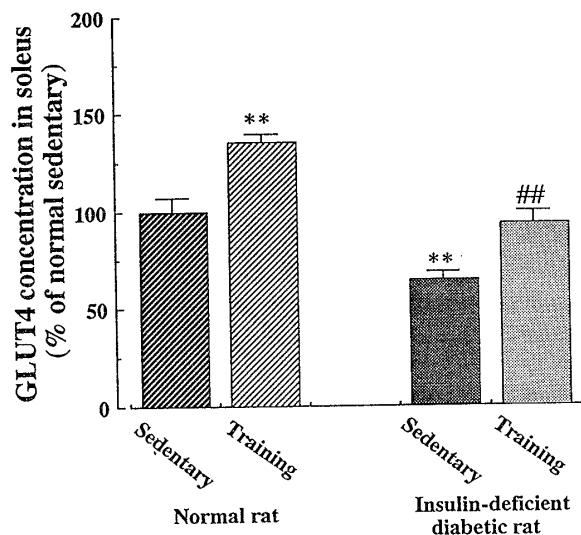


図7 インスリン欠乏ラットにトレーニングを行わせても、正常ラットと同様に骨格筋 GLUT 4 含量の増加がみられた。したがって、筋活動による GLUT 4 含量の調節にはインスリンの働きは必須ではないと推測される。**印は正常ラット非トレーニング群に対して、また、##印はインスリン欠乏ラット非トレーニング群に対して危険率 1% 以下で有意差が認められることを示す。

(Kawanaka et al. submitted)

慢性的にもインスリンとは独立した経路により GLUT 4 含量を調節しているのではないかと考えられる。

持久性トレーニングを行うと骨格筋 GLUT 4 とともに GLUT 4 mRNA 含量も増加すること³³⁾、および、持久性の運動を行った後、骨格筋における GLUT 4 mRNA の合成速度が増加していること³⁰⁾から筋活動による GLUT 4 含量の増加には DNA からの転写レベルの亢進が係わっていると考えられる。最近、GLUT 4 タンパク発現の転写レベルでの調節を司る遺伝子領域を探ろうとする研究が行われている。Ezaki et al. のグループは、内因性の GLUT 4 mRNA と区別できるように、GLUT 4 構造遺伝子に非翻訳性の外来遺伝子 (TAG) を挿入し、さらに、7 kb の 5'-flanking 部位および 1 kb の 3'-flanking 部位を接続した遺伝子 (ミニジーン) をマウス受精卵に導入した。この受精卵由来のトランスジェニックマウスでは、ミニジーン GLUT 4 mRNA はやはり骨格筋と脂肪細胞に発現しており、したがって、このミニジーンの中に組織特異的な GLUT 4 の発現に必要な

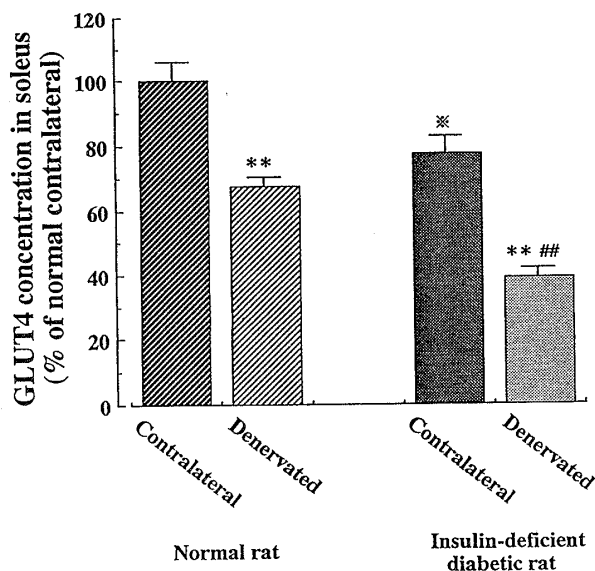


図8 除神経による筋活動の停止およびインスリン欠乏は骨格筋 GLUT 4 含量を減少させるが、これらの影響は組み合わせると加算的であった。したがって、筋活動およびインスリンによる GLUT 4 含量の調節はそれぞれ別個の経路によってなされていると推測される。*印は対側脚に対して危険率 1% 以下で有意差が認められることを示す。*印は正常ラットの対側脚に対して危険率 5% 以下で有意差が認められることを示す。##印は正常ラットの除神経脚に対して危険率 1% 以下で有意差が認められることを示す。

(Kawanaka et al. submitted)

調節領域が存在すると考えられる²¹⁾。また、このトランスジェニックマウスにトレーニングを行わせるとミニジーン GLUT 4 mRNA の発現が増加した。したがって、トレーニングに反応する調節領域もこのミニジーンの中に存在すると考えられる²¹⁾。今後、様々なミニジーンを作製し調節領域を細かく検討していけばトレーニングによる GLUT 4 含量の増加のためにどの調節領域が重要であるかが明らかになると考えられる。また、調節領域が明らかになればその領域に結合するタンパクを同定することも可能であろう。さらに上流をたどることによってトレーニングによって GLUT 4 含量が増加するための情報伝達経路を明らかにできる可能性もあるだろう。

Ⅳ. おわりに

筋活動による骨格筋糖輸送機能の変化に関して

は、まだ、その現象の一部が解明されただけに過ぎない。運動のタイプや条件に着目して現象を十分に把握するとともに、GLUT4のトランスロケーションおよび量的変化の面からのメカニズム解明が急務であろう。

本稿は第3回日本運動生理学会における特別講演「骨格筋の糖代謝機能 — 筋活動による生理学的、生化学的変化 —」（樋口 満ら）の発表内容をもとに構成したものである。また、本稿に掲載した川中らの研究に要した費用は、平成4, 5, 6年度ヒューマンサイエンス基礎研究事業受託費（受領責任者 樋口 満）および平成5年度明治生命厚生事業団研究助成（受領責任者 川中健太郎）によるものである。

参考文献

- 1) Ahlborg, G., Felig, P., Hagenfeldt, L., Hendler, R. and Wahren, J. (1974): Substrate turnover during prolonged exercise in man. splanchnic and leg metabolism of glucose, free fatty acids, and amino acids. *J. Clin. Invest.* 53 : 1080-1090.
- 2) Banks, E. A., Brozinick, J. T., Jr., Yaspelkis III, B. B., Kang, H. Y. and Ivy, J. L. (1992): Muscle glucose transport, GLUT-4 content, and degree of exercise training in obese Zucker rats. *Am. J. Physiol.*, 263 (Endocrinol. Metab. 26): E1010-E1015.
- 3) Blotner, H. (1945): Effect of prolonged physical inactivity on tolerance of sugar. *Arch. Intern. Med.* 75 : 31-44.
- 4) Brozinick, Jr., J. T., Etgen, Jr., G. J., Yaspelkis III, B. B., Kang, H. Y. and Ivy, J. L. (1993): Effects of exercise training on muscle GLUT-4 protein content and translocation in obese Zucker rats. *Am. J. Physiol.*, 265 : E419-E427.
- 5) Cartee, G. D., Douen, A. G., Ramlal, T., Klip, A. and Holloszy, J. O. (1991): Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. *J. Appl. Physiol.* 70 : 1593-1600.
- 6) DeFronzo, R. A., Jacot, E., Jequier, E., Maeder, E., Wahren, J. and Felber, J. P. (1981): The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes*, 30 : 1000-1007.
- 7) Douen, A. G., Ramlal, T., Rastogi, S., Bilan, P. J., Cartee, G. D., Vranic, M., Holloszy, J. O. and Klip, A. (1990): Exercise induces recruitment of the "insulin-responsive glucose transporter". *J. Biol. Chem.*, 265 : 13427-13430.
- 8) Friedman, J. E., Dudek, R. W., Whitehead, D. S., Downes, D. L., Frisell, W. R., Caro, J. F. and Dohm, G. L. (1991): Immunolocalization of glucose transporter GLUT4 within human skeletal muscle. *Diabetes*, 40 : 150-154.
- 9) Fushiki, T., Wells, J. A., Tapscott, E. D. and Dohm, G. L. (1989) : Changes in glucose transporters in muscle in response to exercise. *Am. J. Physiol.*, 256 : E580-E587.
- 10) Garetto, L. P., Richter, E. A., Goodman, M. N. and Ruderman, N. B. (1984): Enhanced muscle glucose metabolism after exercise in the rat: the two phases. *Am. J. Physiol.* 246 : E471-E475.
- 11) Gollnick, P. D., Pernow, B., Essen, B., Jansson, E. and Saltin, B. (1981): Availability of glycogen and plasma FFA for substrate utilization in leg muscle of man during exercise. *Clin. Physiol.*, 1 : 27-42.
- 12) Goodyear, L. J., King, P. A., Hirshman, M. F., Thompson, C. M., Horton, E. D. and Horton, E. S. (1990): Contractile activity increases plasma membrane glucose transporters in absence of insulin. *Am. J. Physiol.*, 258 : E667-E672.
- 13) Goodyear, L. J., Hirshman, M. F., Smith, R. J. and Horton, E. S. (1991): Glucose transporter number, activity, and isoform content in plasma membranes of red and white skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 261 : E556-E561.
- 14) Goodyear, L. J., Giorgino, F., Balon, T. W., Condorelli, G. and Smith, R. J. (1995): Effects of contractile activity on tyrosine phosphoproteins and PI3-kinase activity in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 268 : E987-E995.
- 15) Gulve, E. A., Cartee, G. D., Zierath, J. R., Corpus, V. M. and Holloszy, J. O. (1990): Reversal of enhanced muscle glucose transport after exercise: role of insulin and glucose. *Am. J. Physiol.*, 259 : E685-691.
- 16) Hansen, P. A., Gulve, E. A., Marshall, B. A., Gao, J., Pessin, J. E., Holloszy, J. O. and Mueckler, M. (1995) : Skeletal muscle glucose transport and metabolism are enhanced in transgenic mice over-expressing the Glut4 glucose transporter. *J. Biol. Chem.*, 270 : 1679-1684.
- 17) Hespel, P., Vergauwen, L., Vandenbergh, K. and Richter, E. A. (1995): Important role of insulin and flow in stimulating glucose uptake in contracting skeletal muscle. *Diabetes* 44 : 210-215.

- 18) Hirshman, M. F., Wallberg-Henriksson, H., Wardzala, L. J., Horton, E. D. and Horton, E. S. (1988): Acute exercise increases the number of plasma membrane glucose transporters in rat skeletal muscle. *FEBS LETTERS*, 238 : 235-239.
- 19) Hirshman, M. F., Goodyear, L. J., Wardzala, L. J., Horton, E. D. and Horton, E. S. (1990): Identification of an intracellular pool of glucose transporters from basal and insulin-stimulated rat skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, 265 : 987-991.
- 20) Holloszy, J. O. and Narahara, H. T. (1965): Studies of tissue permeability. X. Changes in permeability to 3-methyl-glucose associated with contraction of isolated frog muscle. *J. Biol. Chem.*, 240 : 3493-3500.
- 21) Ikemoto, S., Thompson, K. S., Itakura, H., Lane, M. D. and Ezaki, O. (1995): Expression of an insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) minigene in transgenic mice: effect of exercise and role in glucose homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 92 : 865-869.
- 22) James, D. E., Piper, R. C. and Slot, J. W. (1994): Insulin stimulation of GLUT4 translocation: a model for regulated recycling. *Trends Cell Biol.*, 4 : 120-126.
- 23) Karnieli, E., Zarnowski, M. J., Hissin, P. J., Simpson, J. A., Salans, L. B. and Cushman, S. W. (1981): Insulin-stimulated translocation of glucose transport systems in the isolated rat adipose cell. *J. Biol. Chem.*, 256 : 4772-4777.
- 24) Katz, A., Broberg, S., Sahlin, K. and Wahren, J. (1986): Leg glucose uptake during maximal dynamic exercise in humans. *Am. J. Physiol.*, 251 : E65-E70.
- 25) 川中 健太郎, 樋口 満, 勝田 茂 (1993): 局所的な筋活動量の変動による骨格筋糖輸送体濃度の変化. *体力科学*, 42 : 389-395.
- 26) 川中 健太郎, 樋口 満, 大森 肇, 勝田 茂 (1994): 筋の活動量および種類による糖輸送体濃度の変化. *体力科学*, 43 : 269-276.
- 27) Kawanaka, K., Higuchi, M., Ohmori, H. and Katsuta, S. (1995): Independent effect of muscle contractile activity and blood insulin level on muscle GLUT4 protein content. *Horm. Metab. Res.* submitted.
- 28) Marette, A., Burdett, E., Douen, A., Vranic, M. and Klip, A. (1992): Insulin induces the translocation of GLUT4 from a unique intracellular organelle to transverse tubules in rat skeletal muscle. *Diabetes*, 41 : 1562-1569.
- 29) Nesher, R., Karl, I. E. and Kipnis, D. M. (1985): Dissociation of effects of insulin and contraction on glucose transport in rat epitrochlearis muscle. *Am. J. Physiol.*, 249 : C226-C232.
- 30) Neuffer, P. D. and Dohm, G. L. (1993): Exercise induces a transient increase in transcription of the GLUT-4 gene in skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 265 : C1597-C1603.
- 31) Nolte, L. A., Gulve, E. A. and Holloszy, J. O. (1994): Epinephrine-induced in vivo muscle glycogen depletion enhances insulin sensitivity of glucose transport. *J. Appl. Physiol.* 76 : 2054-2058.
- 32) Ploug, T., Galbo, H. and Richter, E. A. (1984): Increased muscle glucose uptake during contractions: no need for insulin. *Am. J. Physiol.*, 247 : E726-E731.
- 33) Ploug, T., Stallknecht, B. M., Pedersen, O., Kahn, B. B., Ohkuwa, T., Vinten, J. and Galbo, H. (1990): Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 259 : E778-E786.
- 34) Ren, J.-M., Semenkovich, C. F. and Holloszy, J. O. (1993): Adaptation of muscle to creatine depletion: effect on GLUT-4 glucose transporter expression. *Am. J. Physiol.*, 264 : C146-C150.
- 35) Ren, J.-M., Semenkovich, C. F., Gulve, E. A., Gao, J. and Holloszy, J. O. (1994): Exercise induces rapid increases in GLUT4 expression, glucose transport capacity, and insulin stimulated glycogen storage in muscle. *J. Biol. Chem.*, 269 : 14396-14401.
- 36) Richter, E. A., Garetto, L. P., Goodman, M. N. and Ruderman, N. B. (1984): Enhanced muscle glucose metabolism after exercise: modulation by local factors. *Am. J. Physiol.*, 246 : E476-E482.
- 37) Rodnick, K. J., Henriksen, E. J., James, D. E. and Holloszy, J. O. (1992): Exercise training, glucose transporters, and glucose transport in rat skeletal muscles. *Am. J. Physiol.*, 262 : C9-C14.
- 38) Rodnick, K. J., Slot, J. W., Studelska, D. R., Hanpeter, D. E., Robinson, L. J., Geuze, H. J. and James, D. E. (1992): Immunocytochemical and biochemical studies of GLUT4 in rat skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, 267 : 6278-6285.
- 39) Sato, Y., Hayamizu, S., Yamamoto, C., Ohkuwa, Y., Yamanouchi, K. and Sakamoto, N. (1986): Improved insulin sensitivity in carbohydrate and lipid metabolism after physical training. *Int. J. Sports Med.*, 7 : 307-310.
- 40) Slot, J. W., Geuze, H. J., Gigengack, S., Lienhard, G.

- E. and James, D. E. (1991): Immuno-localization of the insulin regulatable glucose transporter in brown adipose tissue of the rat. *J. Cell Biol.*, 113 : 123-135.
- 41) Tabata, I., Schluter, J., Gulve, E. A. and Holloszy, J. O. (1994): Lithium increases susceptibility of muscle glucose transport to stimulation by various agents. *Diabetes*, 43 : 903-907.
- 42) Takata, K., Ezaki, O. and Hirano, H. (1992): Immunocytochemical localization of fat/muscle-type glucose transporter (GLUT4) in the rat skeletal muscle: Effect of insulin treatment. *Acta. Histochem. Cytochem.*, 25 : 689-696.
- 43) Wilson, C. M. and Cushman, S. W. (1994): Insulin stimulation of glucose transport activity in rat skeletal muscle: increase in cell surface GLUT4 as assessed by photolabelling. *Biochem. J.*, 299 : 755-759.
- 44) Yang, J. and Holman, G. D. (1993): Comparison of GLUT4 and GLUT1 subcellular trafficking in basal and insulin-stimulated 3T3-L1 cells. *J. Biol. Chem.*, 268 : 4600-4603.
- 45) Yeh, J.-I., Gulve, E. A., Rameh, L. and Birnbaum, M. J. (1995): The effects of wortmannin on rat skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, 270 : 2107-2111.
- 46) Youn, J. H., Gulve, E. A. and Holloszy, J. O. (1991): Calcium stimulates glucose transport in skeletal muscle by a pathway independent of contraction. *Am. J. Physiol.*, 260 : C555-C561.
- 47) Young, D. A., Henriksson, H. W., Sleeper, M. D. and Holloszy, J. O. (1987): Reversal of the exercise-induced increase in muscle permeability to glucose. *Am. J. Physiol.*, 253 : E331-E335.
- (平成7年8月17日受理)