

〔総説〕

## これまで行ってきた主な研究の総括

My study at Nagoya University

押田 芳治\*

Yoshiharu OSHIDA\*

昭和59年4月に総合保健体育科学センター助手として着任して以来、諸先輩、同僚の先生方、そして多くの大学院生、研究生とともに、研究面では「肥満・糖尿病の運動療法」、「運動と免疫能」、「ミトコンドリア遺伝子」、業務面では「学生、教職員の保健管理」に関わってきた。本年3月末をもって定年退職こととなり、総説風に総括してみた。

### I. 運動療法

我々人類は、その誕生以来、生存のため、食や富を獲得するため、身体活動（運動）を必然としていた。ところが、door to door で代表される現代生活は身体活動の必要性を大幅に減少させ、同時に飽食状態となっている。このような生活環境変化が数十年という短期間で劇的に起こり、これまで生存に有効に働いてきた、いわゆる儉約遺伝子 (thrifty gene、例えば $\beta_3$ アドレナリン受容体ミスセンス変異 (Trg64Arg) など) と相まって、肥満症、糖尿病、高血圧症、脂質異常症、動脈硬化症などの生活習慣病が増加している。

糖尿病、特に2型糖尿病の主要な病態生理学的特徴の1つにインスリン抵抗性が知られている。糖尿病運動療法は、インスリン抵抗性の改善を通して、糖尿病の発症予防（一次予防）および進展防止、すなわち糖尿病特有の細小血管障害（神経障害、網膜症、腎症）や大血管障害（動脈硬化性心血管系疾患）の発症阻止（二次予防）を目的としている、横断的あるいはコホート研究、介入研究のいずれにおいても、継続的な運動が2型糖尿病の発症の減少ばかりか、血糖コントロール改善 (HbA1c の低下) に有効であることが明らかになった。

また、近年話題になっているメタボリックシンドロームは、内臓脂肪の過剰な蓄積が慢性的に経過した結果、耐糖能異常、低HDLコレステロール血症／高中性脂肪

血症、高血圧症を複数合併し、最終的に動脈硬化症由来の心血管系イベントを発症させるものである。2型糖尿病のみならず、メタボリックシンドロームへの対策として、運動療法に優るものはないと言っても過言ではない。そこで、運動療法による改善効果を主にインスリン感受性の観点から述べていく。

#### I-1 運動時における内分泌反応

インスリンは、肝からの糖放出を抑制し、骨格筋や脂肪組織（いわゆるインスリン依存組織）では糖の取り込みを促進させる。その結果、血糖値は下降する。また、食事摂取によりインスリン分泌は刺激され、空腹時や運動時には低下する。運動中は、インスリン分泌が低下するにもかかわらず、筋への糖取り込みは増加する。in vitro においてもインスリン非存在下で運動筋での糖取り込みが増大することは以前より知られていた。近年、筋運動中に活性化されたAMP activated protein kinase (AMPK) によって、糖輸送担体 (glucose transporter: GLUT) 4が筋細胞膜上へtranslocationし、糖取り込みが惹起されると報告された。現在のところ、インスリンによるGLUT4のtranslocationとは異なる経路であると認識されている。運動による筋でのエネルギー需要の増大に伴い、インスリン非依存的にAMPKが活性化され、運動筋へエネルギー源としてブドウ糖が供給される。

一方、運動強度が大となる場合、あるいは運動時間が長く及ぶと、グルカゴン、カテコールアミンなどのインスリン拮抗ホルモンの分泌が刺激され、肝糖放出や脂肪分解による遊離脂肪酸 (free fatty acid: FFA) の供給が増大し、エネルギー源が補充される。ところが、コントロール不良な糖尿病患者がこのような運動を行うと、これらのインスリン拮抗ホルモンの影響により、血糖値の上昇のみならず、肝においてFFAからのケトン体合成の亢進が進み、糖尿病は一層悪化する。糖尿病における運

\* 名古屋大学総合保健体育科学センター

\* Research Center of Health, Physical Fitness and Sports, Nagoya University

動療法は、食事療法、薬物療法により比較的コントロール良好に至った症例や発症間もない軽症糖尿病が適応であり、運動強度は中等度以下（歩行中心）で、持続時間は10～30分間程度が望ましいと考えられている。

### I-2 運動による急性代謝効果

非運動時では、脂肪組織より動員された FFA が主なエネルギー源である。運動、すなわち筋収縮に伴うエネルギー需要の増大には、主に筋内グリコーゲン、血中グルコース（ブドウ糖）、肝での糖新生、脂肪分解による FFA の供給によって対応されている。その際のエネルギー源の選択は、運動の強度や持続時間、個体のトレーニング度とそのときの栄養状態などの要因によって決まる。

運動筋は、他の生命活動と同様、アデノシン三リン酸（ATP）がアデノシン二リン酸（ADP）と無機リン酸に分解された際に生ずる化学的エネルギーを利用する。最大努力で数秒間しか持続できないような運動（重量挙げなど）では、分解された ATP の再補充にはクレアチンリン酸（CP）からの化学的エネルギーで充当される。数十秒間継続が可能な運動においては、筋内グリコーゲンが無酸素的にフルクトース-6-リン酸などを経てピルビン酸となり、乳酸へ転換され（解糖）、その際に発生するエネルギーで ATP が再合成される。したがって、100m から400m の短距離走では、筋内グリコーゲンの分解速度が競技成績の決定因子といえる。運動時間がさらに長くなると、消費された ATP はグリコーゲン、血中グルコース、FFA の有酸素的エネルギー代謝（酸化リン酸化）を経て再合成される。120分以上に及ぶ運動では、FFA が主なエネルギー源となる。

また、激しい運動や長時間にわたる運動では、筋肉中の蛋白質が分解され（筋損傷）、分岐鎖アミノ酸（BCAA）がエネルギー源として利用される。その際 BCAA を補給すれば、筋損傷の回復を早め、筋肉痛や筋肉疲労の防止になる。さらに BCAA には、血中乳酸値を抑える効果も認められ、筋肉疲労を防ぐ効果があるという。さらに、BCAA とともにアルギニンとグルタミンも一緒に補給すると、より効果的といわれている。後の二者はいずれも非必須アミノ酸で、アルギニンは成長ホルモンの分泌促進作用があり、グルタミンはアルギニンと同じく免疫細胞のエネルギー源として利用され、免疫細胞の活性化をもたらすことで筋組織の再生を促進する。

### I-3 運動療法の効果

#### a インスリン感受性

同一の運動強度でも、個体のトレーニングの程度によって強く感じたり、弱く感じたりする。これまで、体

力、特に全身持久力の指標として、最大酸素摂取量が測定されてきたが、インスリンランプ法（euglycemic hyperinsulinemic clamp 法、glucose clamp 法ともいう）を用いると、インスリン作用の観点からトレーニング効果の生化学的評価が可能である。すなわち全身持久力が高いほど、インスリン感受性も高値である。

また、歩行やジョギングで代表される有酸素運動の継続は、インスリン感受性を亢進させる。そのメカニズムは、骨格筋細胞内のインスリンシグナル系の IRS-1、PI-3kinase、さらにはシグナル系下部領域の Akt、protein kinase Cs（PKCs）、GLUT4 の遺伝子発現（mRNA）や蛋白量のみならずリン酸化能の改善に由来すると考えられる。

一方、無酸素運動（血圧や心拍数を急激に増やす）やレジスタンス運動（力まない、有酸素レベルの筋力トレーニング）は、むしろ筋重量が増大することで、個体全体としてインスリン感受性を高める。その一方で、レジスタンス運動は筋量の増大に関係なくインスリン作用を改善するとの報告もある。いずれにしても、骨粗鬆症、有酸素運動能力、基礎代謝量などの加齢に伴う低下は、筋力・筋量の減少が大きく影響していることから、レジスタンス運動の併用は欠かせない。ここで言うレジスタンス運動とは、低負荷、高頻度の筋力トレーニング（呼吸を止めない）であり、ダンベル（dumbbells）、リフティング（lifting）やローイング（rowing）に代表されるものである。なお、先述のように、レジスタンス運動の際に BCAA を中心としたアミノ酸の補給も一層効果を高める。

したがって、有酸素運動のみではインスリン抵抗性の改善が十分でない場合、レジスタンス運動の導入も考慮すべきである。

#### b アディポカイン

体脂肪量の減少も、大きな役割を果たしている。内臓脂肪は皮下脂肪に比して、カテコールアミンβ刺激による易分解性を有し、運動療法の継続により内臓脂肪が選択的に減量する。

脂肪細胞から分泌・放出されるサイトカイン（アディポカイン）である、FFA、TNF-α、レジスチンなどの分泌低下およびアディポネクチン分泌の回復がインスリン抵抗性改善に大きく関与していると考えられている。特に、アディポネクチンはインスリン抵抗性改善のみならず、動脈硬化症進展防止などの効果が知られ、他のアディポカインと異なり、脂肪細胞が小型になるほど分泌され、メタボリックシンドロームの進展に重要なアディポカインとして注目されている。

### c ミオカイン (マイオカイン)

骨格筋においても、脂肪細胞と同様に、サイトカイン (ミオカイン) を分泌することが知られている。IL-6 は、運動筋からも分泌され、脂肪分解、脂肪酸の  $\beta$  酸化、肝でのグリコーゲン分解の各作用を有し、さらには、TNF $\alpha$  誘発インスリン抵抗性の減弱、IL-10 を介する動脈壁への抗炎症効果も報告されている。ところが、身体トレーニングにより、筋からの IL-6 分泌が減少するとも報告され、さらに、脂肪細胞から放出される IL-6 は、動脈壁の慢性炎症、すなわち動脈硬化に関与することも知られ、IL-6 に関しては今後一層の検討が必要である。

また、身体トレーニングによる、内皮型一酸化窒素 (NO) 合成酵素の発現増加や動脈壁に対する生物学的活性の増大が知られ、NO とインスリン感受性との相互作用のみならず、運動による骨格筋内の毛細血管新生との関連性にも注目されている。NO は GLUT4 を translocation させ、糖取り込みを刺激するという。インスリンシグナル系の PI-3kinase を介しても生成される。

また、イリシンも運動筋から分泌され、白色脂肪細胞の褐色細胞化、脳内の海馬へ働きかけ認知機能低下を抑制するという。

## II 運動と免疫能

### II-1 鍛練者、非鍛練者の免疫能の相違

運動による急性効果およびトレーニング効果の双方を検討する目的で行った。鍛練者 (1年以上、週5日以上、10km/日ランニングを行なっている者) および非鍛練者を対象に、各人の体力に応じた中等度運動負荷 (具体的には最大酸素摂取量の60%程度のエルゴメータ運動) を課し、その前後における各種免疫学的パラメータの変動について検索が加えられた。両群とも、総白血球数、リンパ球数、好中球数は負荷直後に著増したものの、24時間後には運動負荷前値までに回復した。また、T細胞に関して、運動負荷直後、鍛練者、非鍛練者いずれにおいても、T細胞機能は抑制され、とくにPHAによるリンパ球幼若化反応は著しく低下した。したがって、運動トレーニングの有無にかかわらず、運動は一過性にT細胞の機能低下を招くと考えられた。しかしながら、ウイルス感染細胞や腫瘍細胞の攻撃に主要な働きをするNK細胞の比率は、鍛練者においてのみ負荷直後著明な増大を呈した。一方、非鍛練者では有意な変動がみられなかった。以上の成績は、鍛練者では運動負荷などのストレスにおいて、T細胞の機能低下という一種の免疫能の減弱がおこるが、NK細胞というもう一種の免疫能が代償している可能性を示し、さらに、鍛練者のNK細胞活性は、非鍛練者に比べて有意に増大しているとの報告も

あり、身体トレーニングによる免疫学的優位性を示唆しているといわれている (Int. J. Sports Med., 1988)。

しかし、先述より一層高い運動強度の負荷を課すと、負荷直後はトレーニングの有無に関係なく、NK細胞活性は、運動直後に一過性に著増するものの、その後は激減するという。また、強度の高い運動後には鼻腔や口腔内などの局所免疫能の減弱も明らかにされており、鍛練者といえども、激しいトレーニング後や競技会出場後には、ウイルスなどに対して易感染性の危険をはらんでいると認識されている。したがって、過激な運動は、鍛練者においても一過性ながら免疫能を低下させ、易感染性の危険性があるが、運動強度が中等度以下の身体トレーニングの継続は、免疫能を増強させる可能性がある。このような観点から、運動トレーニングの継続はガン予防に期待できる。最近、疫学的調査で10種類以上のガンにその有効性が確認された (JAMA, 2016)。

## III ミトコンドリア遺伝子

遺伝子に塩基置換が生じることを遺伝子型が変化するという。塩基置換のうち、遺伝子産物の機能を損なうものは有害変異であり、自然選択によって淘汰される。分子進化的中立説の単純な定義によれば、集団の中に蓄積する塩基置換の多くは遺伝子産物の機能に影響を及ぼさない中立変異である。アミノ酸置換をもたらさない同義置換は中立変異と見なすことができるが、アミノ酸置換を伴う非同義置換は遺伝子産物の機能に何らかの影響を与える可能性を否定できない。

最近の分子進化学説では、実際に集団の中に蓄積する塩基置換には弱有害変異も含まれているとされている。塩基置換が自然淘汰を受けずに、その塩基置換が定着すれば、新しい遺伝子型が生まれる。この異なる塩基配列を一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) という。我々の身長や体重が千差万別であるように、DNAの塩基配列もかなりの部位で異なっている。一般的にこの違いを多型と呼んでいるが、これは母集団において1%以上の頻度で生じた場合を指し、1%未満のまれなものは変異と定義されている。

ミトコンドリアは核とは別に独自の遺伝情報を持っている。ミトコンドリア内で働くタンパク質のほとんどは核にコードされているが、酸化的リン酸化機能を担う中核的な部分はミトコンドリアDNA (mtDNA) にコードされている。mtDNAは、16,569塩基対からなる環状二重鎖DNAである。mtDNAには、蛋白質を規定する13種の遺伝子と、ミトコンドリア内での蛋白質の合成に必要な2種のrRNA遺伝子および22種のtRNA遺伝子がある。MtDNAの進化速度は核DNAに比して5~10倍高いと



いう。また、mtDNA は二本鎖間の非対称性が高いため、個体間での塩基配列の多様性は顕著である。さらに、mtDNA は母性遺伝するため、母親の遺伝子のみが子に伝わる。

### Ⅲ－１ 肥満学生と mtDNA

学生の保健管理に関連して、肥満学生の mtDNA を調査した。個体の肥満度 (BMI) は父親の BMI より母親の BMI の影響を受けることを明らかとなっている。したがって、母性遺伝によって伝えられた mtDNA の遺伝子型が肥満度に関与している可能性を示唆していると考えられる。

肥満学生に30カ所で塩基置換が認められた。そのうちアミノ酸置換を伴うものは12カ所であった。なかでも高頻度の塩基置換は5カ所で検出された。第1の塩基置換は Mt8414C → T transition (35/96, 36%) であり、Leu → Phe 置換を、第2の塩基置換は Mt8563A → G transition (7/96, 7%) であり、Thr → Ala 置換を、第3の塩基置換は Mt8584G → A transition (8/96, 8%) であり、Ala → Thr 置換を、第4の塩基置換は Mt8701A → G transition (54/96, 56%) であり、Thr → Ala 置換を、第5の塩基置換は mt8794C → T transition (8/96, 8%) であり、His → Tyr 置換を、各々伴っていた。また、1名のみ認められ、アミノ酸置換を伴う、いわゆる低頻度 SNPs は8名 (8%) にみられた。一方、非肥満学生では、Mt8414C → T transition, Mt8563A → G transition, Mt8701A → G transition, mt8794C → T transition の出現率は肥満学生と同一レベルであったが、Mt8584G → A transition は1/36 (3%) と低値であった。低頻度 SNPs は2名のみ確認された。

したがって、肥満学生の mtDNA にコードされている ATP 合成酵素遺伝子 (ATP 6/8) に多様な塩基置換を認めた。特に、肥満学生に多くみられ、ATP 合成酵素機能への影響が大と予想される低頻度 SNPs は、BMI を規定する要因の一つの可能性を示唆していると思われた。

### Ⅲ－２ Ellite Runner と mtDNA

実業団や大学の陸上競技部に所属する各種目の競技者86名と非鍛錬健常者13名を対象に、MtDNA を比較検討した。その結果は以下の通りであった。

MtDNA の ATP (6/8) 上には56個の SNPs が確認された。そのうちアミノ酸置換を伴うものは27個であった。この27個の SNPs のなかで、5%以下の低頻度や95%以上の高頻度の SNPs を除くと、Mt8414C → T、Mt8701A → G、Mt8794C → T が検出された。これらの SNPs を競技種目や成績に応じて検討を加えると、Ellite Runner 群で Mt8794C → T の頻度が50%と、他の群に比して有意に高値であった (vs. Non-Ellite Runner (8.5%):  $p = 0.005$ , vs. Other Athlete (11.1%):  $p = 0.02$ , vs. Control (5.0%):  $p = 0.01$ )。Mt8794C → T への置換は ATP6 遺伝子の90番目のアミノ酸をヒスチジンからチロシンへ変換する多型であり、このヒスチジンは哺乳類動物においてよく保存されている。以上の事実から、Mt8794 の SNPs が ATP 合成酵素の立体構造に変化をもたらし、ATP 産生に影響を及ぼすことで、持久性能力と関連性があると示唆された。

### さいごに

私が医師になった頃は、例えば慢性腎不全で血液透析に至る主な疾患は慢性糸球体腎炎であった。ところが、今や透析導入の原因の第1位は糖尿病腎症である。さらに、最近では CKD (慢性腎臓病) の概念が導入され、CKD による腎不全が問題となりつつある。また、肝硬変・肝癌の原因疾患が B 型肝炎や C 型肝炎から、近い将来、脂肪肝、そこから進展した脂肪肝炎に置き換わると予想される。生活習慣の変化も大きく起因していると考えられ、今こそ、我が総合保健体育科学センターが「運動療法」必要性について情報を発信しなければならないと痛感している。