

# 博士論文要旨

## 論文題名：田七人参由来パナキサトリオールが骨格筋タンパク質の代謝制御機構に与える影響

立命館大学大学院スポーツ健康科学研究科  
スポーツ健康科学専攻博士課程後期課程

タカムラ ユウスケ  
高村 裕介

### 【背景】

骨格筋量の維持・増加は、筋力低下に伴う転倒予防に有効であり、QOL(生活の質)の向上に重要である。加齢に伴う筋量と筋機能の低下はサルコペニアと呼ばれており、サルコペニアの予防・改善には適切な運動と栄養摂取が非常に重要である。

骨格筋は人体で最大の組織であるが、骨格筋を構成するタンパク質は常に合成と分解を繰り返している。筋タンパク質の合成と分解の差を出納バランスと呼ぶが、合成が分解を上回った時に筋量は増加し、分解が合成を上回った時に筋量は減少する。レジスタンス運動は筋タンパク質の合成を促進する。一方、有酸素性運動は、筋タンパク質合成促進作用は弱いものの、インスリン抵抗性改善に伴う筋タンパク質分解の抑制に効果を示す可能性がある。筋タンパク質の合成や分解における分子レベルの応答としては、インスリンやIGF-1によって活性化する細胞内シグナル因子であるAktが筋タンパク質の合成と分解の双方に関与することが知られている。我々は、田七人参由来のパナキサトリオールがAktを活性化させることを動物や培養細胞を用いた評価において報告している。それゆえパナキサトリオールは筋タンパク質の合成・分解および骨格筋量に影響を与える可能性がある。そこで、本博士研究ではサルコペニアの予防・改善のための栄養・運動方法の開発を見据えて、「田七人参由来パナキサトリオールが筋タンパク質の代謝制御機構に与える影響を検討すること」を目的に、以下の研究課題を設定した。なお、パナキサトリオールは筋タンパク質の合成・分解および骨格筋量に与える影響の評価において新規の素材であるため、本博士研究では動物を用いて素材の有用性を基礎研究の観点から観察することとした。

研究課題 1: パナキサトリオール単独及びパナキサトリオールとレジスタンス運動の併用が筋タンパク質合成に与える影響

研究課題 2: パナキサトリオール単独及びパナキサトリオールと有酸素性運動の併用がインスリン抵抗性や骨格筋量に与える影響

### 【方法】

研究課題 1: 11 週齢、雄性、SD ラットの腓腹筋に対して、3 秒/10 秒電気刺激(100Hz, 30V 以下)×10 回×5 セット(セット間の休息时间 3 分) を行い、直後にパナキサトリオール

(200mg/kg)を腹腔投与した。右脚を運動脚、左脚を非運動のコントロール脚とした。投与0.5, 3時間後に腓腹筋を摘出し、ウェスタンブロット法により、筋タンパク質の合成を調節する細胞内シグナル因子のリン酸化量を評価した。また、パナキサトリオール投与2.5時間後に Puromycin (0.04  $\mu$ M / kg)を投与し、筋タンパク質の合成速度を評価した。研究課題 2: 5 週齢雄性 KKAy マウス(インスリン抵抗性発症マウス)を馴化後、安静群、パナキサトリオール摂取群、有酸素運動群、パナキサトリオール摂取と有酸素運動の併用群の4群に分けた。パナキサトリオールは0.2%混餌投与し、運動は15m/min, 45min, 傾斜角度0°, 5日/週の条件でトレッドミル走行運動を6週間行った。試験終了時に骨格筋重量, HOMA-R(インスリン抵抗性の指標), Atrogin1 の遺伝子発現量を評価した。

### 【結果と考察】

研究課題 1: レジスタンス運動0.5, 3h 後において、Akt のリン酸化レベルに変化は認められなかったが、パナキサトリオール投与を併用することで運動後0.5h でコントロール群、運動群と比較して Akt のリン酸化レベルが有意に高値を示した( $P<0.05$ )。Akt の下流にあり筋タンパク質合成を促進させる p70S6K のリン酸化レベルがレジスタンス運動0.5, 3h 後に高値を示し、パナキサトリオール投与を併用することで、運動群よりも p70S6K のリン酸化レベルが高値を示した( $P<0.05$ )。筋タンパク質合成速度が、レジスタンス運動3h 後において高値を示し、パナキサトリオールを併用させる事で、運動群よりも有意に高値を示した( $P<0.05$ )。またパナキサトリオール単独では Akt, p70S6K のリン酸化レベルおよび筋タンパク質合成速度を活性化させなかった。パナキサトリオールとレジスタンス運動を併用する事で、相乗的に筋タンパク質合成を促進させると考えられた。研究課題 2: 6 週間の有酸素性運動により、インスリン抵抗性の指標である HOMA-R が改善し、筋重量が増加した( $P<0.05$ )。更にはパナキサトリオール摂取を併用する事で有酸素性運動単独よりも、HOMA-R が改善し、筋重量が増加した( $P<0.05$ )。加えて、有酸素性運動により、筋タンパク質分解を亢進させる Atrogin1 の mRNA 量が低下し、更にパナキサトリオール摂取を併用する事で有酸素性運動単独よりも Atrogin1 の mRNA 量が低下した( $P<0.05$ )。またインスリン抵抗性の指標である HOMA-R と Atrogin1 発現量に有意な相関関係が確認された( $r=0.50, P<0.01$ )。以上のことからパナキサトリオール摂取と有酸素性運動の併用によりインスリン抵抗性の改善に伴う筋タンパク質分解が抑制され、筋量の維持・増加に効果を示す可能性が示された。

### 【結論】

パナキサトリオール投与とレジスタンス運動を併用することで、レジスタンス運動単独よりも、健常ラットの筋タンパク質合成を促進させることが明らかとなった。またパナキサトリオールと有酸素性運動をインスリン抵抗性発症マウスに6週間負荷することで、有酸素性運動単独よりインスリン抵抗性が改善し、骨格筋量が高値を示すことを明らかとした。加齢動物を用いた検証や高齢者を対象としたヒト試験での検証が必要であるが、パナキサトリオールと運動の組みあわせはサルコペニアの予防・改善のための新たな介入方法のひとつになりうる可能性があると考えられる。

# Abstract of Doctoral Thesis

## Title : Effect of panaxatriol derived from *Panax notoginseng* on skeletal muscle protein metabolism

Doctoral Program in Sport and Health Science  
Graduate School of Sport and Health Science  
Ritsumeikan University

タカムラ ユウスケ  
TAKAMURA Yusuke

### 【Background】

The maintaining/increasing muscle mass is important for reducing the risk of falls and for maintaining the quality of life. Decrease in muscle mass and function associated with aging is called sarcopenia. Appropriate exercise and nutritional intake is critical for preventing the sarcopenia.

The difference between protein synthesis and degradation is referred to as a net balance, and muscle mass is increased when protein synthesis rate is above the protein degradation rate and vice versa. Acute bout of resistance exercise stimulates muscle protein synthesis. On the contrary, effect of aerobics exercise on the protein synthesis is small, but it may inhibit the protein degradation via improving the insulin resistance. Mechanism of muscle protein synthesis and degradation shares common signal protein Akt. Akt is activated by both insulin and insulin-like growth factor which regulates muscle protein synthesis as well as protein breakdown. Our previous study has shown that panaxatrol (PT) from *Panax notoginseng* stimulates Akt signaling in animals and cultured cells. Therefore PT may regulate muscle protein synthesis and degradation and subsequent change in skeletal muscle mass. Accordingly, the aim of this study was to elucidate the effect of panaxatriol on the skeletal muscle protein metabolism. Animal experiments are initially carried out in order to assess molecular regulations of PT in relation to muscle protein synthesis and degradation.

Research question1: To elucidate the PT alone and the combined effect of PT and resistance exercise on the muscle protein synthesis.

Research question2: To elucidate the PT alone and the combined effect of PT and aerobics exercise on the insulin resistance and muscle mass.

### 【Methods】

Research question 1: After a 12-hour overnight fast, male Sprague-Dawley rats aged 11-week underwent a bout of resistance exercise by isometric exercise via percutaneous electrically stimulation (100Hz, 3 sec × 10 contractions per set for 5sets, with 3min rest interval), while the left gastrocnemius muscle served as the control. PT (200 mg/kg) was injected intraperitoneally immediately after exercise. The muscle was removed 0.5 and 3hr after exercise. Western blotting analysis was used to assess the phosphorylation of mTORC1 signaling factors.

Research question 2: Five-week-old male KK-A<sup>y</sup>/Ta Jcl (KKA<sup>y</sup>) mice were divided into control

group, PT group, aerobics exercise group and PT + aerobics exercise group. PT and PT + aerobics exercise group was fed a standard diet containing 0.2% PT. The mice ran on the treadmill for 45 min at 15 m/min without incline 5 days/week for 6weeks. After intervention of PT intake and exercise, tissue weight of soleus, HOMA-R and mRNA expression of Atrogin1 were assessed.

### **【Results and discussion】**

Research question 1: While no change was observed 0.5hr and 3hr after exercise, a significant increase in p-Akt was seen in PT at 0.5hr post-exercise ( $P<0.05$ ). Phosphorylation of p70S6K was significantly increased at 0.5hr after exercise and was maintained 3hr post-exercise, while PT administration further augmented p-p70S6K at 0.5 and 3 hr post-exercise ( $P<0.05$ ). Finally, muscle protein synthesis significantly increased at 3 hr after exercise, while a significant additive effect on muscle protein synthesis was observed in PT at 3hr post-exercise ( $P<0.05$ ). Research question 2: Marked increases in the weight of the soleus muscle was observed in the exercise-only and PT + exercise groups compared with the control group after 6 week exercise. Moreover the soleus muscle weighed significantly more in the PT +exercise group than in the exercise-only group. The HOMA-R in the exercise-only and PT + exercise groups was significantly lower than in the control group after 6-week exercise. Moreover HOMA-R was significantly decreased in PT + exercise group compared to the exercise-only group ( $P<0.05$ ). Atrogin1 gene expression significantly decreased after 6 week exercise, and it was lower in the exercise + PT group than in the exercise-only group. Atrogin1 gene expression was significantly correlated with HOMA-R (Atrogin1:  $r = 0.50$ ,  $P < 0.01$ )

### **【Conclusion】**

Panaxatrol from *Panax notoginseng* synergistically stimulated muscle protein synthesis in response to an acute bout of resistance exercise in rat skeletal muscle. Moreover PT combined with aerobics exercise for 6 weeks increased mice skeletal muscle mass concomitantly with improved insulin resistance. Although further studies will be needed, PT combined with exercise may be a novel intervention for the prevention/amelioration of sarcopenia.