

## AMPK 活性化内因性単糖：1,5-AF による エクササイズ効果増強の検証

久留米大学 菊池清志  
(共同研究者) 鹿児島大学 丸山征郎  
久留米大学 田中永一郎  
同 森岡基浩  
鹿児島大学 中西和毅

### AMPK-Activated Endogenous Monosaccharide: Verification of Exercise Effect Enhancement by 1,5-AF

by

Kiyoshi Kikuchi

*Division of Brain Science, Department of Physiology, Kurume University School of Medicine,  
Department of Neurosurgery, Kurume University School of Medicine,  
Department of Systems Biology in Thromboregulation,  
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Science,  
Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Mahidol University*

Ikuro Maruyama

*Department of Systems Biology in Thromboregulation,  
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Science*

Eiichiro Tanaka

*Division of Brain Science, Department of Physiology, Kurume University School of Medicine*

Motohiro Morioka

*Department of Neurosurgery, Kurume University School of Medicine*

Koki Nakanishi

*Course of Physical Therapy, School of Health Sciences,  
Faculty of Medicine, Kagoshima University*

## ABSTRACT

AMP-activated protein kinase (AMPK) activation is expected to prevent frailty. In this study, we evaluated the effects of AMPK on the behavior of aging-accelerated mice (started in Senescence Accelerated Mouse Prone 8:SAMP8). The mice were divided into AMPK-activated monosaccharide group and control diet group. After 9 months, the mice were raised freely in the cages and analyzed by the SMART video imaging system using an open field, but there was no significant difference between the two groups (n=12). The study did not demonstrate efficacy of this monosaccharid.

## 要 旨

AMPK (AMP-activated protein kinase) 活性化がフレイル予防に期待されている。老化促進モデルマウス (SAM8: Senescence Accelerated Mouse8) にて、AMPK 活性化作用を有する自然食材由来の単糖による行動解析を中心とする評価をした。本単糖配合飼料摂取群、対照飼料摂取群に対して、飼育ケージ内にて自由飼育を行い、9カ月後にOpen Fieldを用いて、SMARTビデオ画像行動解析装置にて解析したが、両群間 (n=12) で有意な差はみられなかった。今回の検証においては本単糖の有効性は実証できなかった。

## まえがき

加齢に伴い身体機能が低下し、日常生活能力が低下する。日本の人口動態において介護を必要とする人が加速度的に増加することが、超高齢社会の進展に伴い予測されている。近年「健康寿命」という概念が提唱され、普及してきたことでも分かるように、元気で活動的に暮らすことができる期間をいかに延ばすかが大きな政策的課題となっている。適度な身体活動、運動、精神活動、社会参加、適切な食事が高齢者の様々な身体機能の低下を軽減する効果を有することは定説になってきている<sup>1)</sup>。

超高齢社会の最大の課題は、時間生物学的な延命ではなく、社会的生命時間の延長、すなわち「健康寿命」を目標とすべきである。

その中核をなす作戦として「細胞—諸臓器の円滑なエネルギー代謝の運行」が注目されている。

これに関しては、AMP-activated protein kinase (AMPK) がkey molecule として最重要な働きを示すことが明らかとなりつつあり、フレイル予防に期待されている。

そしてAMPK 活性化は、運動に似た効果を骨格筋や中枢神経系に期待しうることが注目されている<sup>2)</sup>。すなわちAMPKは生体各細胞に備わっているエネルギーセンサーとして働き、フレイルを予防しうると推察できる。

そこで、申請者らが見出したAMPK活性化能を有する生体内希少単糖 (論文作成中) を利用して、健やかな老化作戦を立案・提唱するための研究を行った。

脳卒中モデルや頭部外傷モデルにおいて、AICAR (AMPK 活性化剤) が神経保護効果を持つことが報告されているが<sup>3)</sup>、BBB (血液脳関門) を通過しにくいことで実用化に至ってない。

AMPKは代謝恒常性の重要な調節因子で、その機能異常は糖尿病、肥満、がんなどのさまざまな病気につながる可能性が有る。グルコース飢餓のようなストレスのかかる状況では、AMPKが活性化することが知られている。グルコースが枯

渴すると、グルコース代謝の低下によるATPの減少とAMP, ADPの増加が起るため、AMPKが活性化されると考えられてきた<sup>4)</sup>。AMPKはAkt(プロテインキナーゼB)と協調して、Sirt1-PGC1経路を活性化し、ミトコンドリア生合成などに寄与する。ミトコンドリアでは、運動により活性化されたSirt3(サーチュイン3)が加齢に伴う機能障害に対して保護的に作用する可能性がある<sup>5)</sup>。

運動やカロリー制限によって、AMPKは活性化されるが、軽い運動では、活性化をすることは難しいことが知られている。そのため、AMPK活性化を起こすことができれば、運動の難しい高齢者の認知機能低下、フレイル、ADL低下に伴う高齢者福祉に大きく貢献することは明らかである。

申請者らが、初めて同定したAMPK活性化内因性単糖(論文作成中)に関しては、細胞レベル、動物レベルで断片的に報告している(漸次、投稿準備中)。

本研究では、高齢者の代謝改善のみならず、運動・認知機能などにも臨床効果を示すことを目的とし、共同研究者の丸山が開発したAMPK活性化作用を有する生体内希少糖(国際特許出願中。既に農水省から食品添加材として使用が認可されている本単糖の安全性に関しては、農水省ブランドニッポン、JSTなどの予算で既に検証済み)を用いて、SAMP(老化促進モデルマウス)において、本単糖が運動の効果を代替しうるか否かを動物実験で総合的に検証する。

## 1. 研究方法

老化促進モデルマウス(SAMP8)にて、(1)本単糖摂取(2)対照飼料摂取の2群で、認知機能、運動機能などを比較、検証する。

3週齢の雄性SAMP8(老化促進モデルマウス)36匹を搬入し、自由飼育期間(一般飼料摂取)を設けた。3か月齢より無作為に上述(1)(2)の2群に分け、9か月間、飼育ケージ内にて自由飼育

を行う。

36匹で開始したが、両群6匹ずつ(合計12匹)死亡していたため(死因不明)、9か月齢の時点で、12匹ずつ(合計24匹)で、評価を行った。

Open Fieldを用いて、Distance in Zone(行動解析装置内のゾーンにおける総移動距離)、Resting Time in Zone(止まっている時間)(Seconds)、Slow Time in Zone(低速移動時間)(Seconds)、Fast Time in Zone(高速移動時間)(Seconds)、Resting Time in Zone(止まっている時間:1時間=100%としたうちの何%を占めるか)(%)、Slow Time in Zone(低速移動時間:1時間=100%としたうちの何%を占めるか)(%)、Fast Time in Zone(高速移動時間:1時間=100%としたうちの何%を占めるか)(%)、Mean Speed in Zone(平均速度)(cm/sec)、Mean Speed without Resting in Zone(静止時間を含まない平均速度)(cm/sec)、Max Speed in Zone(最大速度)(cm/sec)の行動学的評価を9か月齢の時点で、SMARTビデオ画像行動解析装置(SMART-BS, バイオリサーチセンター, 愛知)にて解析する。評価は動物実験施設の明期中(10時~16時)を行う。

## 2. 研究結果

SMARTビデオ画像行動解析装置における全ての評価項目において、本単糖配合飼料摂取群と対照飼料摂取群の2群間に有意な差は認められなかった。

Distance in Zone (cm) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $1.67 \times 10^4 \pm 3.21 \times 10^3$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $1.51 \times 10^4 \pm 1.52 \times 10^3$ ) [ $p=0.643$ ] (図1)。

Resting Time in Zone (Seconds) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $2.18 \times 10^3 \pm 1.31 \times 10^2$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $2.11 \times 10^3 \pm 1.46 \times 10^2$ ) [ $p=0.724$ ] (図2)。

Slow Time in Zone (Seconds) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $1.02 \times 10^3 \pm 1 \times 10^2$ ) に対して、対照

飼料摂取群 ( $1.12 \times 10^3 \pm 1 \times 10^2$ ) [ $p=0.484$ ] (図3).

Fast Time in Zone (Seconds) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $4.01 \times 10^2 \pm 7.93 \times 10$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $3.73 \times 10^2 \pm 4.79 \times 10^3$ ) [ $p=0.739$ ] (図4).

Resting Time in Zone (%) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $6.04 \times 10 \pm 3.63$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $5.85 \times 10 \pm 4.04$ ) [ $p=0.724$ ] (図5).

Slow Time in Zone (%) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $2.83 \times 10 \pm 2.78$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $3.11 \times 10 \pm 2.79$ ) [ $p=0.484$ ] (図6).

Fast Time in Zone (%) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $1.12 \times 10 \pm 2.20$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $1.04 \times 10 \pm 1.33$ ) [ $p=0.739$ ] (図7).

Mean Speed in Zone は、本単糖配合飼料摂取群 ( $4.64 \pm 0.89$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $4.18 \pm 0.42$ ) [ $p=0.642$ ] (図8).

Mean Speed w/o Resting in Zone は、本単糖配合飼料摂取群 ( $1.04 \times 10 \pm 1.74$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $9.14 \pm 0.40$ ) [ $p=0.477$ ] (図9).

Max Speed in Zone は、本単糖配合飼料摂取群 ( $6.45 \times 10 \pm 6.78$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $6.05 \times 10 \pm 2.98$ ) [ $p=0.555$ ] (図10).

#### 4. 考 察

SMART ビデオ画像行動解析装置における本研究の検証では、残念ながら、本単糖の有効性を確認することはできなかった。その要因として、摂取量が少ない可能性がある。そのため、今後、よ

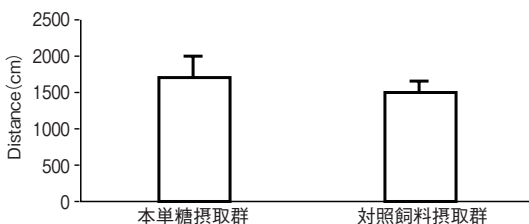


図1 Distance in Zone

(行動解析装置内のゾーンにおける総移動距離)

Distance in Zone (cm) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $1.67 \times 10^4 \pm 3.21 \times 10^3$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $1.51 \times 10^4 \pm 1.52 \times 10^3$ ) [ $p=0.643$ ]

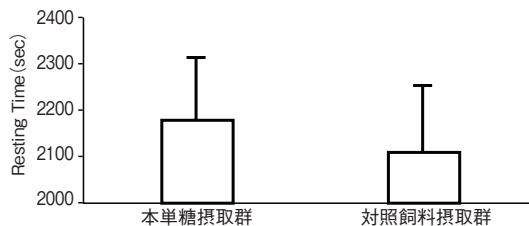


図2 Resting Time in Zone (止まっている時間) (Seconds)

Resting Time in Zone (Seconds) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $2.18 \times 10^3 \pm 1.31 \times 10^2$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $2.11 \times 10^3 \pm 1.46 \times 10^2$ ) [ $p=0.724$ ]

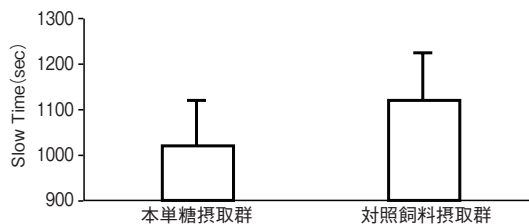


図3 Slow Time in Zone (低速移動時間) (Seconds)

Slow Time in Zone (Seconds) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $1.02 \times 10^3 \pm 1 \times 10^2$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $1.12 \times 10^3 \pm 1 \times 10^2$ ) [ $p=0.484$ ]

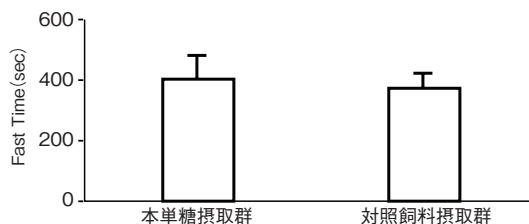


図4 Fast Time in Zone (高速移動時間) (Seconds)

Fast Time in Zone (Seconds) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $4.01 \times 10^2 \pm 7.93 \times 10$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $3.73 \times 10^2 \pm 4.79 \times 10^3$ ) [ $p=0.739$ ]

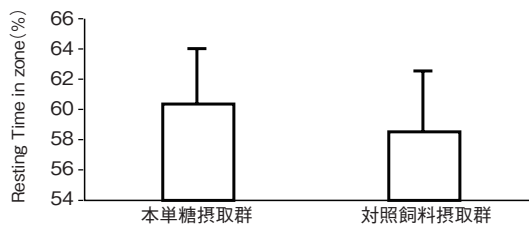


図5 Resting Time in Zone (止まっている時間: 1時間 = 100%としたうちの何%を占めるか) (%)

Resting Time in Zone (%) は、本単糖配合飼料摂取群 ( $6.04 \times 10 \pm 3.63$ ) に対して、対照飼料摂取群 ( $5.85 \times 10 \pm 4.04$ ) [ $p=0.724$ ]

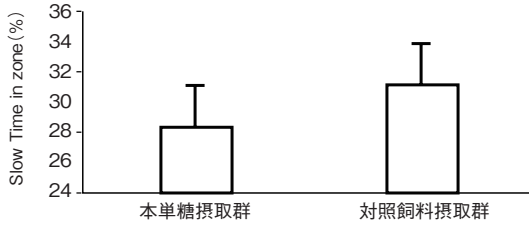


図6 Slow Time in Zone (低速移動時間: 1時間 = 100% としてうちの何%を占めるか) (%)

Slow Time in Zone (%) は, 本単糖配合飼料摂取群 ( $2.83 \times 10 \pm 2.78$ ) に対して, 対照飼料摂取群 ( $3.11 \times 10 \pm 2.79$ ) [ $p=0.484$ ]

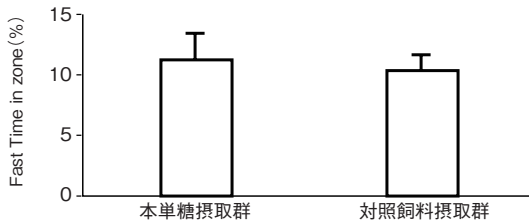


図7 Fast Time in Zone (高速移動時間: 1時間 = 100% としてうちの何%を占めるか) (%)

Fast Time in Zone (%) は, 本単糖配合飼料摂取群 ( $1.12 \times 10 \pm 2.20$ ) に対して, 対照飼料摂取群 ( $1.04 \times 10 \pm 1.33$ ) [ $p=0.739$ ]

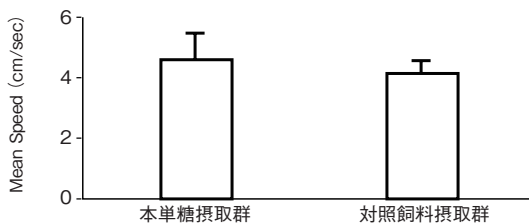


図8 Mean Speed in Zone (平均速度) (cm/sec)

Mean Speed in Zone は, 本単糖配合飼料摂取群 ( $4.64 \pm 0.89$ ) に対して, 対照飼料摂取群 ( $4.18 \pm 0.42$ ) [ $p=0.642$ ]

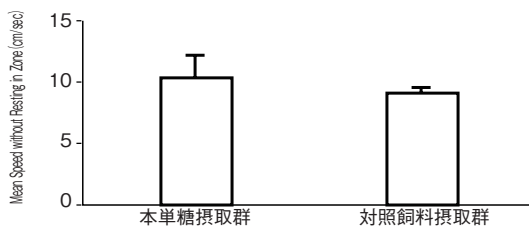


図9 Mean Speed without Resting in Zone (静止時間を含まない平均速度) (cm/sec)

Mean Speed w/o Resting in Zone は, 本単糖配合飼料摂取群 ( $1.04 \times 10 \pm 1.74$ ) に対して, 対照飼料摂取群 ( $9.14 \pm 0.40$ ) [ $p=0.477$ ]

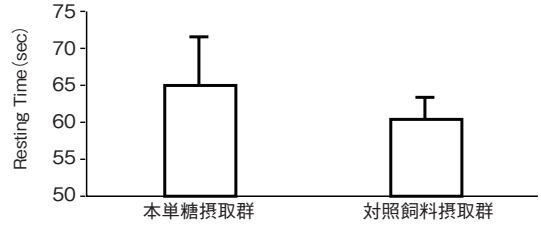


図10 Max Speed in Zone (最大速度) (cm/sec)

Max Speed in Zone は, 本単糖配合飼料摂取群 ( $6.45 \times 10 \pm 6.78$ ) に対して, 対照飼料摂取群 ( $6.05 \times 10 \pm 2.98$ ) [ $p=0.555$ ]

り高濃度の配合飼料で検証する必要がある。さらに別のモデル動物での検証を行うことを検討する

## 5. 結論

本研究における摂取量・摂取期間・行動解析評価では, AMPK 活性化内因性単糖の有効性をみることはできなかった。

## 謝辞

本研究は, 公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団の研究助成金を頂戴することで施行できた。ここに深謝の意を表する。

## 文献

- 1) 松本浩実, 大坂裕, 井上和興, 朴大昊, 萩野浩地域高齢者におけるフレイルの進行度と運動および運動自己効力の関連性について, 理学療法学 2019年11月29日 P.1-8
- 2) Guerrieri Davidea, Moon Hyo Youlb, van Praag, Henriettea., Exercise in a Pill: The Latest on Exercise-Mimetics., *Brain Plasticity*, 2, no. 2, pp. 153-169 (2017)
- 3) Marangos P.J. et al., Adenosinergic modulation of homocysteine-induced seizures in mice., *Epilepsia*. May-Jun; 31 (3) :239-46 (1990)
- 4) Kemp B.E. et al., Metabolism: Energy sensing through a sugar diphosphate., *Nature*., Aug 3:548 (7665) :36-37 (2017)
- 5) Yasuharu Matsumoto et al., Molecular mechanisms of cardiac rehabilitation for better prognosis., *J. Jpn. Coron. Assoc.*, 21: 53-57 (2015)