

(p53) and transcription factors. Acta Neuropathol (Berl) 100: 647-653, 2000.

2. 学会発表

1) 佐々木淳治、西尾康二、井上晃、腫瘍抑制蛋白質 p 5 3 のビメンチンへのアンカーリング機能ドメインの解析。日本基礎老化学会(平成12年6月)

2) Koji Nishio, Junji Sasaki and Akira Inoue. Vimentin-dependent cytoplasmic anchoring of p53 mutant that are defective in both apoptosis and G1-arrest. International congress on differentiation, molecular and cell biology. Gold Coast (September,2000)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

骨格筋におけるエネルギー代謝および熱産生と加齢変化

分担研究者 佐藤 祐造 名古屋大学総合保健体育科学センター 教授

研究要旨 老齢動物の耐寒性の低さの原因を明らかにするために、老若ラットにおける骨格筋ミトコンドリア脱共役蛋白質III型（UCP3）の発現の寒冷刺激に対する応答性を検討した。急性寒冷曝露により、若齢ラットでは速筋におけるUCP3遺伝子の発現上昇がみられたが、老齢ラットでは発現亢進は認められなかった。遅筋におけるUCP3遺伝子の発現は、寒冷曝露により老若ラットで共に低下した。エネルギー基質の供給に関連する遺伝子の発現誘導は、老齢ラットにおいても若齢ラットと同様にみられることから、寒冷刺激に対する速筋のUCP3発現の応答性が加齢により低下することが、老齢動物の耐寒性低下の原因の一つとなることが強く示唆された。

A. 研究目的

体温調節、余剰エネルギーの消費、発熱など最も重要な生理機能の一つである熱産生能が老化と共に低下する。この熱産生機能の中で重要な役割を果たすミトコンドリア脱共役蛋白質（UCP）には、現在3種類のアイソフォームが知られている。我々は現在まで、寒冷刺激に対する老齢ラットの反応性、適応性の低さをUCP遺伝子の発現誘導能の視点から検討を進め、若齢ラットと異なり老齢ラットでは脂肪組織におけるUCP2遺伝子が十分誘導されないことを報告してきた。本研究では、“ふるえ”熱産生の主要組織である骨格筋で高い発現の認められるUCP3に注目し、その発現誘導に対する寒冷刺激の効果について老若ラットを用いて比較検討し、耐寒性や熱産生能の低下との関連を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

国立療養所中部病院長寿医療研究センターの実験動物飼育施設のAging farmにおいて飼育された6ヵ月齢、及び25-26ヵ月齢F344/Nラット(雄)を5℃環境下で24時間飼育した後、採取した腓腹筋(White gastrocnemius muscle)とヒラメ筋(Soleus muscle)のtotal RNA分画をTrizol法により調製した。次に、それらのRNA分画を用いてUCP3、UCP2、心筋・骨格筋型脂肪酸結合蛋白質(HFABP)、グルコース輸送体4型(GLUT4)のmRNA発現量をノーザンブロット法により解析した。

C. 研究結果

室温環境下でのUCP3 mRNAの発現量は、老若ラット共にヒラメ筋に比べて腓腹筋においてやや高かったが、UCP2 mRNAの発現量はUCP3 mRNAに比べてかなり低く、老若ラット間の差も特に認められなかった。

しかしながら、老若ラット間で寒冷曝露に対する反応性に違いが認められた。すなわち、若齢ラットでは寒冷曝露 24 時間後に腓腹筋における UCP3 遺伝子の発現量が曝露前の 2.2 倍に上昇したのに対して、老齢ラットでは曝露前後で変化は無く、寒冷刺激に応答した UCP3 遺伝子の誘導がみられないことが明らかになった。また、UCP2 遺伝子についても同様の傾向が認められた。一方、ヒラメ筋における UCP3 遺伝子の発現量は、腓腹筋とは逆に寒冷曝露後若齢ラットで 52%、老齢ラットで 66% 減少した。UCP2 遺伝子の発現は、寒冷曝露により変化しなかった。

HFABP 遺伝子の発現は、速筋である腓腹筋で低く、遅筋であるヒラメ筋で高かった。寒冷曝露により若齢ラットではヒラメ筋で 1.6 倍に、腓腹筋では 2.8 倍に上昇した。一方、老齢ラットでは腓腹筋で若齢ラットと同様に 3.4 倍に上昇したが、ヒラメ筋では変化はみられなかった。

GLUT4 遺伝子の発現は、室温環境下では老若ラット間で差はみられなかったが、寒冷曝露により若齢ラットではヒラメ筋で 1.3 倍に、腓腹筋では 1.5 倍に上昇した。老齢ラットでは腓腹筋で若齢ラットと同様に 1.9 倍に上昇したが、ヒラメ筋では変化はみられなかった。GLUT4 遺伝子の発現に対する加齢と寒冷曝露の影響は HFABP 遺伝子の場合と類似していた。

D. 考察

からだの中で最大の組織である骨格筋は、個体の様々な活動や運動を支えるばかりでなく“ふるえ”による熱産生を行う臓器でもあり、UCP3 はその熱産生機能において

中心的役割を果たしていると予想される。実際に、若齢ラットにおいて 24 時間の寒冷曝露により腓腹筋における UCP3 遺伝子の発現が 2 倍以上に上昇した。逆に、ヒラメ筋では UCP3 遺伝子の発現は約 1/2 に低下したことから急性寒冷曝露下における骨格筋ふるえ熱産生は解糖系の発達した速筋で優位であると考えられる。特に寒冷曝露後は急速な熱産生を必要とするので、エネルギー源として消費し易いグリコーゲンを多く含む速筋が主に利用されるのかもしれない。また、GLUT4 発現量の上昇により糖取り込みを高めると共に、HFABP 発現量の上昇はミトコンドリアへの脂肪酸輸送を促進し、エネルギー基質の熱への変換をさらに促すものと考えられる。脂肪酸はエネルギー基質であると共に UCP の活性化に関与することが報告されている。

一方老齢ラットにおいては、若齢ラットと同様に寒冷曝露によりヒラメ筋の UCP3 遺伝子発現は低下するにもかかわらず腓腹筋における発現上昇がみられない。結果として、UCP3 の総発現量は減少することとなり、エネルギー基質の供給が亢進しても十分な熱を急速に生み出すことができず体温の低下をきたすものと考えられる。すなわち、加齢に伴う褐色脂肪組織 UCP1 活性の低下 (Yamashita et al., J. Gerontol., 1994) と UCP2 遺伝子の誘導不良 (Yamashita et al., FEBS Lett., 1999) に加えて、寒冷刺激に対する速筋の UCP3 遺伝子発現の応答性が加齢により低下することが、老齢ラットの耐寒性低下の原因となることが強く示唆された。

E. 結論

寒さに対する骨格筋 UCP3 の発現誘導能の低下が、老齢動物の耐寒性の低さと関連していると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) C.Nakao, T.Ookawara, T.Kizaki, S.Oh-ishi, H.Miyazaki, S.Haga, Y.Sato, L.L.Ji and H.Ohno. Effects of swimming training on three superoxide dismutase isoenzymes in mouse tissues. *J.Appl.Physiol.* 88: 649-654, 2000.

2) Y.Shimomura, T.Murakami, N.Nakai, M.Nagasaki, M.Obayashi, Z.Li, M Xu, Y.Sato, T.Kato, N.Shimomura, N.Fujitsuka, K.Tanaka and M.Sato. Suppression of glycogen consumption during acute exercise by dietary branched-chain amino acids in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 46: 71-77, 2000.

3) C.Nakao, T.Ookawara, Y.Sato, T.Kizaki, N.Imazeki, O.Matsubara, S.Haga, K.Suzuki, N.Taniguchi and H.Ohno. Extracellular superoxide dismutase in tissues from obese (ob/ob) mice. *Free Rad Res.* 33: 229-241, 2000.

4) Y.Oshida, Y.Tachi, Y.Morishita, K.Kitakoshi, N.Fuku, Y-Q. Han, I.Ohsawa and Y.Sato. Nitric oxide decreases insulin resistance induced by high-fructose feeding. *Hormone and Metabolic Research*, 32: 339-342, 2000.

5) M.Xu, N.Nakai, K.Ishigure, T.Nonami, M.Nagasaki, M.Obayashi, Z Li, Y.Sato, N.Fujitsuka, T.Murakami and Y.Shimomura.

The α -ketoisocaproate catabolism in human and rat livers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 276: 1080-1084, 2000.

6) M.Nagasaki, N.Nakai, Y.Oshida, Z.Li, M. Xu, M.Obayashi, T.Murakami, A.Yoshimura, N.Fujitsuka, Y.Shimomura and Y.Sato. Exercise training prevents maturation-induced decreases in insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in rat skeletal muscle. *Metabolism* 49: 954-959, 2000.

2. 学会発表

1) 韓 艶清、押田 芳治、北越 香織、福 典之、佐藤 祐造：身体トレーニングのインスリン感受性改善効果に関する研究 -NO とグルコサミンの果たす役割-。第 43 回日本糖尿病学会年次学術集会。名古屋。2000 年 5 月。

2) 徐 明、中井 直也、下村 吉治、長崎 大、押田 芳治、佐藤 祐造：糖尿病および運動トレーニングがラット肝臓の α -ketoisocaproate(KIC)-dioxygenase 活性に及ぼす影響。第 43 回日本糖尿病学会年次学術集会。名古屋。2000 年 5 月。

3) F.Kawano, T.Nomura, M.S. Kang, E.Y.Han, Y.C.Chiu, J.H.Lee, Y.Sato and Y.Ohira. Respects of back muscle fibers to chronic hind-limb suspension. *International Conference on the Biochemistry of Exercise: Molecular Aspects of Physical Activity and Aging*. Little Rock, Jun. 2000.

4) K.Kitakoshi, Y.Oshida, Y.Han, N.Fuku, N.Nakai and Y.Sato. Additive effects of troglitazone and tunning on insulin resistance induced by high fructose diet in rats. *International Conference on the Biochemistry*

of Exercise: Molecular Aspects of Physical Activity and Aging. Little Rock, Jun. 2000.

5) T.Takeyasu, N.Fuku, Y.Oshida, M.Higuchi, M.Tanaka and Y.Sato. Mitochondrial ATP synthase polymorphism associated with exercise endurance. International Conference on the Biochemistry of Exercise: Molecular Aspects of Physical Activity and Aging. Little Rock, Jun. 2000.

6) Y.Sato. Effects of physical training on the decreased insulin action caused by diabetes, obesity and aging: molecular biological studies. International Conference on Exercise and Nutrition for Better Health and Chronic Disease. Beijing, Jun. 2000.

7)佐藤祐造：肥満運動療法の今日的課題。会長講演、第21回日本肥満学会。名古屋。2000年10月。

8)山下均、佐藤祐造：UCP1遺伝子の発現調節と肥満。第21回日本肥満学会。名古屋。2000年10月。

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mizuno, T., Miura-Suzuki, T., Yamashita, H., and Mori, N.	Distinct regulation of brain mitochondrial carrier protein-1 and uncoupling protein-2 genes in the rat brain during cold exposure and aging.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	278	691-697	2000
Ohno, T., <u>Horio</u> , E., Tanaka, S., Terada, M., Namikawa, T. and Kitoh, J.	Fatty liver and hyperlipidemia in IDDM (insulin-dependent diabetes mellitus) of streptozotocin-treated shrews.	Life. Sci.	66	125-131	2000
Anunciado,R.V.P., Imamura, T., Ohno, T., <u>Horio</u> , F. and Namikawa, T.	Developping a new Model for non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) by using the Philippine wild mouse, Mus musculus castaneus.	Exp. Anim.	49	1-8	2000
Anunciado,R.V.P., <u>Horio</u> , E., Ohno, T., Tanaka, S., Nishimura, M. and Namikawa, T.	Characterization of Hyperinsulinemic Recombinant inbred (RI) strains (SMXA-5 and SMXA-9) derived from normoinsulinemic SM/J and A/J mice.	Exp. Anim.	49	83-90	2000
Anunciado,R.V.P., Ohno, T., Mori, M., Ishikawa, A., Tanaka, S., <u>Horio</u> , E., Nishimura, M. and Namikawa, T.	Distribution of body weight, blood insulin and lipid levels in the SMXA recombinant inbred strains and the QTL analysis.	Exp. Anim.	49	217-224	2000

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Watanabe, D., Honda, T., <u>Nishio,</u> <u>K.</u> , Sugiura, Y. and Nishiyama, Y.	Corneal infection of herpes simplex virus type 2-induce neuronal apoptosis in the brain stem of mice with expression of tumor suppressor (p53) and transcription factors.	Acta Neuropathol (Berl)	100	647-653	2000
Nakao, C., Ookawara, T., Kizaki, T., Oh-ishi, S., Miyazaki, H., Haga, S., <u>Sato, Y.</u> , Ji, L. L. and Ohno, H.	Effects of swimming training on three superoxide dismutase isoenzymes in mouse tissues	J. Appl. Physiol.	88	649-654	2000
Shimomura, Y., Murakami, T., Nakai, N., Nagasaki, M., Obayashi, M., Li, Z., Xu, M., <u>Sato,</u> <u>Y.</u> , Kato, T., Shimomura, N., Fujitsuka, N., Tanaka, K., and Sato, M.	Suppression of glycogen consumption during acute exercise by dietary branched- chain amino acids in rats.	J. Nut. Sci. Vitaminol.	46	71-77	2000
Nakao, C., Ookawara, T., <u>Sato, Y.</u> , Kizaki, T., Imazeki, N., Matsubara, O., Haga, S., Suzuki, K., Taniguchi, N., and Ohno, H.	Extracellular superoxide dismutase in tissues from obese (ob/ob) mice.	Free Rad. Res.	33	229-241	2000

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Oshida, Y., Tachi, Y., Morishita, Y., Kitakoshi, K., Fuku, N., Han, Y-Q., Ohsawa, I., and Sato, Y.	Nitric oxide decreases insulin resistance induced by high-fructose feeding.	Horm. Metabo. Res.	32	339-342	2000
Xu, M., Nakai, N., Ishigure, K., Nonami, T., Nagasaki, M., Obayashi, M., Li, Z., Sato, Y., Fujitsuka, N., Murakami, T., and Shimomura, Y.	The α -ketoisocaproate catabolism in human and rat livers.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	276	1080-1084	2000
Nagasaki, M., Nakai, N., Oshida, Y., Li, Z., Xu, M., Obayashi, M., Murakami, T., Yoshimura, A., Fujitsuka, N., Shimomura, Y., and Sato, Y.	Exercise training prevents maturation-induced decreases in insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in rat skeletal muscle.	Metabolism	49	954-959	2000