

平成12年度厚生科学研究費補助金

(長寿科学総合研究事業)

研究報告書

加齢による筋肉減少（サルコペニア）／脂肪量増加

機序の解明と予防法に関する研究

主任研究者 江崎 治

門脇 孝

田畑 泉

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

（総括）研究報告書

加齢による筋肉量減少（サルコペニア）／脂肪量増加機序の解明と予防法に関する研究

（主任）研究者 江崎 治 国立健康・栄養研究所臨床栄養部長

加齢に伴う筋肉量の低下は、サルコペニアと呼ばれ、老化に伴う基礎代謝量の低下、糖／脂質代謝の低下、脂肪の蓄積の主因となっている。筋肉量の低下、及び糖の取り込みの低下を予防するため、運動に反応するGLUT4遺伝子のシス・エレメントの位置を同定した。又脂肪蓄積を予防するためUCP2の発現量が異なるマウスを作成した。軽度の脂肪組織でのUCP2の過剰発現は、肥満／インスリン抵抗性を改善した。又、PPAR $\gamma$ のアンタゴニストも肥満／インスリン抵抗性を改善した。

〔研究組織〕

江崎 治（国立健康・栄養研究所 臨床栄養部 部長）

門脇 孝（東京大学医学部糖尿病・代謝内科 助教授）

田畑 泉（鹿屋体育大学 体育学部 スポーツ科学講座 教授）

できるが、その効果は満足できるものではない。又、高齢者になると、意欲の低下や関節の機能低下により、定期的に運動を行うのは難しくなる。

運動は筋肉で、未知の重要な転写因子を活性化することにより、筋肉での代謝を亢進させていることが考えられる。この転写因子を同定することができれば、転写因子の発現量や活性を増加させることにより運動を行わなくても、筋肉での代謝の低下を防ぐことが可能となる。本研究では、筋肉での糖代謝の律速段階となっているGLUT4に注目し、運動によりGLUT4を増加する転写因子、及び運動量低下によりGLUT4を低下させる転写因子を同定する（江崎）。又、実験動物や人を用いて、どのような運動（種類、程度）が、サルコペニアを改善するのに有効か明らかにする（田畑）。  
筋肉が減少すると、脂肪組織が増加す

A. 研究目的

老化に伴い、心筋梗塞、脳梗塞、脳出血による死亡率が増加する。これらの基礎となる病態が糖尿病、高脂血症、動脈硬化症等の栄養関連疾患である。これらの疾患は、筋肉量低下（サルコペニア）による脂肪量の増大に起因すると考えられている。

これを予防する方法として、レジスタンストレーニング、有酸素運動がある。しかしこれらの運動によりサルコペニアの進行は遅く

るか不明である。おそらく、筋肉で消費されたエネルギーが減少するため、余分なエネルギーが熱として消費されず、脂肪として蓄積されるのであろう。このため、余剰のエネルギーを脂肪としてでなく、熱として消費すれば、脂肪組織の増加を抑制できると考えられる。本研究では、脂肪組織でエネルギー消費を亢進させるマウスや、PPAR $\gamma$ のアンタゴニストの肥満予防効果を調べた（江崎、門脇）。老化により肥満/脂質代謝異常の律速酵素を同定し、老化による代謝異常が特定の遺伝子の発現量を変化させることにより改善できるかどうか明らかにする。

## B. 研究方法

A) GLUT4遺伝子の運動及び甲状腺ホルモン、及び高脂肪食に反応するシスエレメントを明らかにするため、転写開始点より-7396、-3238、-2001、-1001、-701、-551、-442及び-423の8種類のGLUT4ミニジェントランスジェニックマウスと新しく作成した-582、-506のトランスジェニックマウスを用いて、運動、高脂肪食等の効果を調べた。

B) 今までの研究では、UCP2を1.5~2倍程度過剰発現するマウスは、高脂肪食負荷でインスリン抵抗性や肥満の発症がワイルドタイプに比較し、抑制されることを示している。今年度はUCP2を高度（5~10倍）発現するマウスをCLA投与により作成した。7週齢のC57BL/6マウスを2群に分け、対照群として高炭水化物食（脂肪エネルギー比10%）、CLA添加群として高炭水化物食に1%のCLA（W/W）を添加した食餌を与え19週間飼育した。飼育期間中、インスリン負荷試験、酸素消費量の測定を行った。TNF $\alpha$ 、UCPs、GLUT4 mRNA発現量

はノーザンブロット法で解析した。

C) 発生工学的手法を用いてPPAR $\gamma$ 欠損マウスを作製し高脂肪食を負荷してその表現型を解析した。新規化合物であるHX531のPPAR $\gamma$ 転写活性に対する作用をルシフェラーゼを用いたレポーターアッセイにより検討した。また *in vitro*でHX531の3T3L1の脂肪細胞分化に対する影響を検討するとともに野生型マウス及びPPAR $\gamma$ ヘテロ欠損マウスに投与し、体重や糖代謝に対する生理的作用を検討した。

D) 3~4週齢のSD系の雄ラットに①高強度・短時間水泳トレーニング（体重の14~16%の重さの錘をつけての20秒水泳運動を10秒の休息を挟んで14回行う：正味の運動時間280秒）と②低強度・長時間水泳トレーニング（無負荷で3時間の水泳運動を2回、45分の休憩を挟んで行う）を1週間行った場合の骨格筋（epitrochlearis）のGLUT4およびミトコンドリアの酸化酵素（クエン酸合成酵素）を測定し、コントロール群と比較した。

## C. 研究結果

A) ミニジェンGLUT4の発現の組織特異性を検討した。-7396、-3238、-2001、-1001、-701、-551のトランスジェニックマウスでは、内因性と同様に、骨格筋・脂肪組織（白色・褐色）・心筋において発現が認められた。しかし、-506、-442、-423のトランスジェニックマウスでは、骨格筋・心筋においては発現が認められたが、褐色脂肪組織での発現が認められなかった。よって、-551と-506の間に褐色脂肪組織に特異的なエンハンサーが存在することがわかった。-423では、筋肉における発現に必要であるとされるMEF2を含まないにも関わらず、筋肉での発現が認められた。

次に、運動に反応するシスエレメントの同定を行った。トランスジェニックマウス（各コンストラクト2系統づつ）にスイミング（30分間、4回/日）を約2週間行わせ、腓腹筋におけるミニジーン発現への運動の効果を、RNase protection法にて、ミニジーンGLUT4mRNAと内因性GLUT4mRNAとの比較により検討した。-7396、-3238、-2001、-1001、-701、-551のトランスジェニックマウスでは、内因性GLUT4mRNA、ミニジーンGLUT4mRNAの両方の増加が認められた。しかし、-442、-423のトランスジェニックマウスでは内因性GLUT4mRNA量は運動によって増加したが、ミニジーンGLUT4mRNA量は増加しなかった。現在、-506トランスジェニックマウスがT3や運動により、どのように反応するか調べている。

又、これらのトランスジェニックマウスを用いて、高脂肪食に反応するシスエレメントの同定を行った。この結果、高脂肪食に反応するシスエレメントが-701と-551の間に存在することがわかった。

B) CLAの摂取により、白色脂肪組織（WAT）重量の減少、褐色脂肪組織（BAT）の消失が認められた。WATおよびBATの減少はアポトーシスによるものであった。アポトーシスとの関与が示唆されているTNF $\alpha$ 、UCP2のmRNA発現量はCLA添加群のWATおよびBATで5~10倍に増加していた。また、酸素消費量はCLA摂取により有意に増加した。しかしCLA添加群では著しい肝臓肥大およびインスリン抵抗性も認められた。血中レプチンレベル、WATおよびBATのGLUT4 mRNAレベルも減少していた。以上の結果から、UCP2はin vivoにおいてもエネルギー消費亢進に寄与している可能性が強く示唆された。UCP2はヒトでの発現が認められていることから、UCP2を軽度増加させるこ

とはヒトの肥満・糖尿病・高脂血症発症の予防に有効であると考えられた。しかし高度のUCP2の発現はATP量を低下させ脂肪細胞のアポトーシスを生じることが示唆された。

C) RXRに結合するHX531がPPAR $\gamma$ ・RXRヘテロダイマーの転写活性を中等度低下させ、3T3L1細胞の脂肪細胞への分化を阻害した。この化合物が肥満や2型糖尿病の治療薬となりうるかマウスで検討した。高脂肪食負荷によってマウスは体重増加を呈するが本化合物投与を行うと高脂肪食による体重増加がほぼ完全に抑制されることが明らかとなった。マウスを高脂肪食下で飼育すると高血糖と高インスリン血症を呈し糖尿病を発症する。これに対して本化合物を投与しておく高脂肪食下でも血糖値やインスリン値はほぼ正常であった。以上より本化合物は高脂肪食によるインスリン抵抗性とそれに伴う糖尿病の発症を阻止する作用があることが明らかとなった。

D) 高強度・短時間トレーニングおよび低強度・長時間トレーニング後のラットのepitrochlearisのGLUT4はそれぞれコントロール群に比べ83%および91%高かった。両トレーニング間では差はなかった。両トレーニング後のepitrochlearisの糖取りこみ速度は、コントロール群の値に比べて、それぞれ48%、75%高かった。両トレーニング間では差はなかった。また、クエン酸合成酵素活性は、コントロール群に比べて、高強度・短時間トレーニング群では47%、低強度・長時間トレーニングでは33%高かった。又、両トレーニング間でクエン酸合成酵素活性にも有意差はなかった。

#### D. 考察

GLUT4の研究から、-423ミニジーンGLUT4の中に、筋肉及び白色脂肪組織特異的なシスエ

レメントが存在することがわかった。褐色脂肪組織特異的なエンハンサーが-551と-506の間に存在することがわかり、筋肉特異的なエレメントと分離された。褐色脂肪組織の特異的発現調節エレメントに関して、UCP1の研究からサイクリックAMP-反応エレメント (CRE) とBAT-Specific-エレメント (BRE) が報告されている。BREは-CCTTTCC-モチーフを持ち、よく似たエレメントがGLUT4遺伝子上流部の-CCTTTAA- (-526~-520) と-CCTTTGC- (-509~-503) に存在する。-506トランスジェニックマウスで褐色脂肪組織にミニジーンGLUT4の発現が認められなかったのは、-CCTTTGC-のこれらのエレメントが無かったためと考えられる。運動に反応するエレメントが-551と-442の間に存在することがわかり、転写因子を同定するためのシスエレメントをin vivoにおいて同定できることが明らかになった。

ミトコンドリアにおける熱産生の増加は、その組織での脂肪蓄積を防止し肥満を予防する可能性が考えられる。本研究の結果から、UCP2を脂肪組織に過剰発現させる事は、その組織の脂肪蓄積量を減少させる事が明らかとなった。これは、UCP2がin vivoにおいて実際に脱共役能を持ち、熱産生亢進に寄与している可能性を強く示唆している。しかし、著明なUCP2の増加は脂肪組織重量の極端な減少を生じ、lipodystrophy (脂肪萎縮性糖尿病) を惹起することが明らかとなった。これは、高度のUCP2の発現増加がATP量を低下させ脂肪細胞のアポトーシスを惹起し、低レプチン血症が生じた結果と推察される。レプチンの皮下投与によってインスリン抵抗性のみならず、脂肪肝を部分的に改善した事から、食事性に誘発されるlipodystrophyにおいてもレプチン療法が有効である事も明らかとなった。

PPAR $\gamma$ のアンタゴニストを用いた研究から、俊約遺伝子であるPPAR $\gamma$ の活性を中等度低下させることがインスリン抵抗性を改善し糖尿病の治療に結びつくことが明らかとなり、そのような薬剤としてPPAR $\gamma$ あるいはRXR $\alpha$ のアンタゴニストが有望な治療薬として期待できることが示された。しかし、高度のPPAR $\gamma$ 活性の低下は逆にインスリン抵抗性を増悪させる。このようにPPAR $\gamma$ 活性とインスリン抵抗性との関係はU字型であることが初めて明らかになった。

## E. 結論

GLUT4の筋肉での増加は筋肉での糖の取り込みを亢進させ、ザルコペニアを防止できると考えられる。GLUT4を増加させる治療法を開発する目的で、GLUT4の発現増加に係るシスエレメントを約100bpの範囲に狭め、更に50bpに狭小化するため、新たに-506のGLUT4トランスジェニックマウスを作成した。又、高強度・短時間運動を用いた身体トレーニングは、低強度・長時間トレーニングと同様にGLUT4濃度および糖取りこみ速度を増加させる。又、UCP2の軽度の過剰発現は、脂肪組織の減少、耐糖能の改善といった良い効果を生じるが、高度の発現はATPの減少を生じ脂肪組織のアポトーシスにより遂に耐糖能の悪化を生じることを明らかにした。PPAR $\gamma$ 遺伝子の例からも明らかのように、俊約型の遺伝素因保持者に対してより重点的に生活習慣に介入することにより高齢者の肥満発症を予防することや、俊約遺伝子の機能を抑制する薬物療法によってより効果的な治療に道が開かれる。21世紀はまさにそのようなテーラーメイド医療の実現が期待される。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O. (2001) Mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP 3) in skeletal muscle. *Front Biosci.* Mar 1;6:D570-D574.
- 2) Kim K, Seo E, Lee Y, Lee T, Cho Y, Ezaki O., Kim C. (2000) Effect of dietary *Platycodon grandiflorum* on the improvement of insulin resistance in obese Zucker rats. *J Nutr Biochem.* Sep 1;11(9):420-424.
- 3) Nobuyo Tsuboyama-Kasaoka, Mayumi Takahashi, Kentaro Tanemura, Hyoun-Ju Kim, Tsuyoshi Tange, Hitoshi Okuyama, Masaaki Kasai, Shinji Ikemoto, and Osamu Ezaki. (2000) Conjugated Linoleic Acid Supplementation Reduces Adipose Tissue by Apoptosis and Develops Lipodystrophy in Mice. *Diabetes.*, 49, 1534-1542
- 4) Nobuyo Tsunoda, Kayo Maruyama, David W. Cooke, Daniel M. Lane, and Osamu Ezaki (2000) Localization of exercise- and denervation-responsive elements in the mouse GLUT4 gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 267, 744-751
- 5) Terada S, T Yokozeki, K Kawanaka, K Ogawa, M Higuchi, O Ezaki. and I Tabata. Effects of high-intensity intermittent swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* (印刷中), 2001.
- 6) Miki, H., Yamauchi, T., Suzuki, R., Kubota, N., Terauchi Y., Kamon, J., Kaburagi, Y., Matsui, J., Akanuma, Y., Kimura, S., Tobe, K., and Kadowaki, T. : Essential role of IRS-1 and IRS-2 in adipocyte differentiation. *Mol. Cell. Biol.* 21:2521-2531, 2000
- 7) Hara, K., Kubota, N., Tobe, K., Terauchi, Y., Okada, T., Miki, H., Komeda, K., Tamemoto, H., Yamauchi, T., Hagura, R., Ito, C., Akanuma, Y., and Kadowaki, T. : The role of PPAR $\gamma$  as a thrifty gene in both in mice and humans. *Brit. J. Nutr.* 84: 235-239, 2001
- 8) Yamauchi, T., Yamauchi, N., Ueki, K., Sugiyama, T., Waki, H., Miki, H., Tobe, K., Masuda, S., Tsushima, T., Yamamoto, T., Fujita, T., Taketani, Y., Fukayama, M., Kimura, S., Yazaki, Y., Nagai, R., and Kadowaki, T. : Constitutive tyrosine phosphorylation of Erb B-2 via Jak2 by autocrine secretion of prolactin in human breast cancer. *J. Biol. Chem.* 275: 33937-33944, 2000
- 9) Ueki, K., Yamauchi, T., Tamemoto, H., Tobe, K., Yamamoto-Honda, R., Kaburagi, Y., Akanuma, Y., Yazaki, Y., Nagai, R., and Kadowaki, T. : Restored insulin sensitivity in IRS-1-deficient mice treated by adenovirus-mediated gene therapy. *J. Clin. Invest.* 105: 1437-1445, 2000

10) Hara, K., Okada, T., Tobe, K., Yasuda, K., Mori, Y., Kadowaki, H., Hagura, R., Akanuma, Y., Kimura, S., Ito, C., and **Kadowaki, T.** : A Prol2Ala polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 may confer resistance to type II diabetes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 271: 212-216, 2000

11) Hara, K., Tobe, K., Uchigata, Y., Nakazono, M., Yasuda, K., Terauchi, Y., Iwamoto, Y., Akanuma, Y., Kimura, S., and **Kadowaki, T.** : Antibody-mediated insulin resistance treated by cessation of insulin administration. *Int. Med.* 39: 143-145, 2000

## 2. 学会発表

1) Ezaki O, Kim H-J, Nakatani T, Tsuboyama-Kasaoka N, Ikemoto S, Fish oil feeding activates ppar-alpha and decreases mature srebp-1 protein in mice liver; potential roles of prevention of obesity and insulin resistance. ISSFAL2000学会大会, 2000. 6. 6, 筑波

2) 江崎治、運動による肥満/インスリン抵抗性改善機序. 第21回日本肥満学会大会, 2000. 10. 20, 愛知県

3) 江崎治”魚油による生活習慣病予防機序, 第54回日本栄養食料学会サテライトシンポジウム, 2000. 5. 11, 愛媛県”

4) 笠岡(坪山)宜代, 高橋真由美, 中込圭, 仲谷照代, 江崎治、UCP2過剰発現トランスジ

ェニックマウスの解析: 高脂肪食誘導性肥満に対する抑制効果. 第21回日本肥満学会, 2000. 10. 19, 愛知県

5) 笠岡(坪山)宜代, 高橋真由美, 笠井正章, 奥山齊, 池本真二, 江崎治、共役リノール酸(CLA)による体脂肪減少メカニズム.... TNF- $\alpha$ , UCP2のUp-regulationによるアポトーシスの誘導. 第54回日本栄養・食糧学会, 2000. 5. 14, 愛媛県

6) 笠岡(坪山)宜代, 大久保美子, 高橋真由美, 金賢珠, 川野因, 江崎治、脂肪組織特異的UCP2過剰発現トランスジェニックマウスの作成および解析. 第54回日本栄養・食糧学会, 2000. 5. 13, 愛媛県

7) 笠岡(坪山)宜代, 高橋真由美, 池本真二, 江崎治、共役リノール酸(CLA)による脂肪細胞のアポトーシス誘導.... TNF- $\alpha$ , UCP2のUp-regulation.... 第5回アディポサイエンス研究会, 2000. 8. 26, 大阪

8) Terada S, T Yokozeki, K Kawanaka, M Higuchi I Tabata. Effects of high-intensity intermittent swimming training on GLUT-4 content in rat skeletal muscle. 11th International Conference on the Biochemistry of Exercise, Little Rock, Arkansas, U.S.A, 4-7, June, 2000.

9) RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る、山内敏正、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、三木啓司、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝  
4月 日本内科学会

10)RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る、山内敏正、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、三木啓司、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

6月 日本内分泌学会

11)RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る、山内敏正、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、三木啓司、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

7月 代謝コロキウム

12)RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る、山内敏正、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、三木啓司、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

8月 アデイポサイエンス研究会

13)RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る、山内敏正、加門淳司、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

10月 日本肥満学会

14)CBPヘテロ欠損マウスは著明な白色脂肪組織量の低下と良好なインスリン感受性を呈する、山内敏正、加門淳司、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、戸辺一之、木村哲、尾池雄一、山村研一、門脇孝

10月 日本肥満学会

15)RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る、山内敏正、加門淳司、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

10月 日本糖尿病合併症学会

16)RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る、山内敏正、加門淳司、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一

10月 日本生化学会

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

加齢による筋肉量減少（サルコペニア）／脂肪量増加機序の解明と予防法に関する研究

（主任）研究者 江崎 治 国立健康・栄養研究所臨床栄養部長

加齢に伴う筋肉量の低下は、サルコペニアと呼ばれ、老化に伴う基礎代謝量の低下、糖／脂質代謝の低下、脂肪の蓄積の主因となっている。筋肉量の低下、及び糖の取り込みの低下を予防するため、運動に反応するGLUT4遺伝子のシス・エレメントの位置を同定した。又脂肪蓄積を予防するためUCP2の発現量が異なるマウスを作成し、軽度の脂肪組織でのUCP2の過剰発現が肥満／インスリン抵抗性を改善することを示した。

A. 研究目的

老化に伴い、心筋梗塞、脳梗塞、脳出血による死亡率が増加する。これらの基礎となる病態が糖尿病、高脂血症、動脈硬化症等の栄養関連疾患である。これらの疾患は、筋肉量低下（サルコペニア）による脂肪量の増大に起因すると考えられている。

近年、ジーンチップによる解析により、老化に伴い、筋肉ではエネルギー代謝に関する酵素の発現量の低下、ストレス反応の増加に関する酵素、及び神経支配の再構築に関する酵素の発現量が増加する事が示された(Science, 1999, vol1285, P1390-1393)。老化に於いては細胞自体の代謝活性の低下が主要な変化であり、それに伴い、生体の反応として、ストレスの増加、神経支配の再構築が生じていると考えられる。

これを予防する方法として、レジスタンストレーニング、有酸素運動がある。しかしこれらの運動によりサルコペニアの進行は遅くできるが、その効果は満足できるものではない。又、高齢者になると、意欲の低下や関節

の機能低下により、定期的に運動を行うのは難しくなる。では、なぜ運動は不完全ながらサルコペニアの進行を遅くするのであろうか？

運動は筋肉で、未知の重要な転写因子を活性化することにより、筋肉での代謝を亢進させていることが考えられる。この転写因子を同定することができれば、転写因子の発現量や活性を増加させることにより運動を行わなくても、筋肉での代謝の低下を防ぐことが可能となる。本研究では、筋肉での糖代謝の律速段階となっているGLUT4に注目し、運動によりGLUT4を増加する転写因子、及び運動量低下によりGLUT4を低下させる転写因子を同定する。又、実験動物や人を用いて、どのような運動（種類、程度）が、サルコペニアを改善するのに有効か明らかにする。

筋肉が減少するとなぜ、脂肪組織が増加するか不明である。おそらく、筋肉で消費されたエネルギーが減少するため、余分なエネルギーが熱として消費されず、脂肪として蓄積されるのであろう。このため、余剰のエネルギーを脂肪としてでなく、熱として消費すれば、脂肪組織

の増加を抑制できると考えられる。現在、エネルギーを熱として放出できる組織として、肝、筋肉、脂肪組織があるが、どの組織でのエネルギー消費を亢進させることが老化に伴う代謝の変化を防止するのに最も有効か不明である。例えば、運動は筋肉で、n-3系の脂肪酸は肝で、脂肪酸の $\beta$ 酸化を亢進させ、肥満を防止する。本研究では、組織特異的にエネルギー代謝を亢進させるマウス、及び脂肪蓄積を改善、又は亢進させるマウスを作成し、老化に伴う代謝異常を防止できるかどうか明らかにする。又、同時に脂質代謝異常を改善、または悪化させるトランスジェニックマウス、ノックアウトマウスを作成し、老化により肥満/脂質代謝異常の律速酵素を同定し、老化による代謝異常が特定の遺伝子の発現量を変化させることにより改善できるかどうか明らかにする。

## B. 研究方法

A) GLUT4遺伝子の運動及び甲状腺ホルモン、及び高脂肪食に反応するシスエレメントを明らかにするため、転写開始点より-7396、-3238、-2001、-1001、-701、-551、-442及び-423の8種類のGLUT4ミニジーントランスジェニックマウスと新しく作成した-582、-506のトランスジェニックマウスを用いた。同定された領域のフラグメント(オリゴヌクレオチド)を $P^{3'2}$ でラベルし、マウスの筋肉や脂肪組織より抽出した核蛋白を用いて、フットプリント法にて蛋白の結合する領域を狭め、次にゲルシフト法にてその領域に結合している蛋白質が、運動、高脂肪食により異なるか調べた。

B) 今までの研究によりUCP2を1.5~2倍程度過剰発現するマウスは、高脂肪食負荷でインスリン抵抗性や肥満の発症がワイルドタイプに比較

し、抑制されることを示した。今年度はUCP2を高度(5~10倍)発現するマウスをCLA投与により作成した。7週齢のC57BL/6マウスを2群に分け、対照群として高炭水化物食(脂肪エネルギー比10%)、CLA添加群として高炭水化物食に1%のCLA(W/W)を添加した食餌を与え19週間飼育した。飼育期間中、インスリン負荷試験、酸素消費量の測定を行った。TNF $\alpha$ 、UCPs、GLUT4 mRNA発現量はノーザンブロット法で解析した。

## C. 研究結果

A) ミニジーンGLUT4の発現の組織特異性を検討した。-7396、-3238、-2001、-1001、-701、-551のトランスジェニックマウスでは、内因性と同様に、骨格筋・脂肪組織(白色・褐色)・心筋において発現が認められた。しかし、-506、-442、-423のトランスジェニックマウスでは、骨格筋・心筋においては発現が認められたが、褐色脂肪組織での発現が認められなかった。よって、-551と-506の間に褐色脂肪組織に特異的なエンハンサーが存在することがわかった。-423では、筋肉における発現に必要なと思われるMEF2を含まないにも関わらず、筋肉での発現が認められた。

次に、運動に反応するシスエレメントの同定を行った。トランスジェニックマウス(各コンストラクト2系統づつ)にスイミング(30分間、4回/日)を約2週間行わせ、腓腹筋におけるミニジーン発現への運動の効果を、RNase protection法にて、ミニジーンGLUT4mRNAと内因性GLUT4mRNAとの比較により検討した。-7396、-3238、-2001、-1001、-701、-551のトランスジェニックマウスでは、内因性GLUT4mRNA、ミニジーンGLUT4mRNAの両方の増加が認められた。しかし、

-442、-423のトランスジェニックマウスでは内因性GLUT4mRNA量は運動によって増加したが、ミニジーンGLUT4mRNA量は増加しなかった。更に、この領域内で、F1：-551~-527、F2：-531~-502、F3：-506~-470、F4：-476~-438の4つのフラグメントを作成し、マウスの筋肉から抽出した核蛋白を用いてゲルシフト・競合アッセイを行った。その結果、F1とF2では弱い、F3とF4には強く結合する特異的な蛋白質が存在することが分かった。現在、-506トランスジェニックマウスがT3や運動により、どのように反応するか調べている。又、これらのトランスジェニックマウスを用いて、高脂肪食に反応するシスエレメントの同定を行った。各トランスジェニックマウスをそれぞれ2群に分けて、高炭水化物食（脂肪エネルギー比10%）、高脂肪食（サフラワー油、脂肪エネルギー比60%）で3カ月間飼育し、ミニジーンGLUT4mRNAと内因性GLUT4mRNAを別々に定量した。脂肪組織におけるGLUT4mRNA量の低下は、-7396、-3238、-2001、-1001、-701のトランスジェニックマウスでは、内因性GLUT4mRNA、ミニジーンGLUT4mRNAともに認められた。しかし、-551、-442のトランスジェニックマウスでは、内因性GLUT4mRNA量が低下していたにも関わらず、ミニジーンGLUT4mRNA量は低下しなかった。よって、高脂肪食に反応するシスエレメントが-701と-551の間に存在することがわかった。次に、高脂肪食に反応するシスエレメントが存在している-700~-442の領域内で、F1：-750~-551（200bp）とF2：-593~-394（200bp）の2つのフラグメントを作成し、マウスの脂肪組織から抽出した核蛋白を用いてフットプリントを行ったところ、F1のWF1：-706~-681とWF2：-675~-653に蛋白質の結合領域が認められた。この部位は以前報告されたNF1結合部位に相当した。更に、ゲ

ルシフトアッセイ法を行い、WF4：-621~-582、WF5：-585~-546のオリゴヌクレオチドを用いると、特異的に結合するタンパク質を見出した。このため、現在NF1部位にミューテーションを入れたコンストラクトとWF5のタンパク結合部位にミューテーションを入れたコンストラクトを作成し、トランスジェニックマウスを作成中である。

B) CLAの摂取により、白色脂肪組織（WAT）重量の減少、褐色脂肪組織（BAT）の消失が認められた。WATおよびBATの減少はアポトーシスによるものであった。アポトーシスとの関与が示唆されているTNF $\alpha$ 、UCP2のmRNA発現量はCLA添加群のWATおよびBATで5~10倍に増加していた。また、酸素消費量はCLA摂取により有意に増加した。しかしCLA添加群では著しい肝臓肥大およびインスリン抵抗性も認められた。血中レプチンレベル、WATおよびBATのGLUT4 mRNAレベルも減少していた。以上の結果から、UCP2はin vivoにおいてもエネルギー消費亢進に寄与している可能性が強く示唆された。UCP2はヒトでの発現が認められていることから、UCP2を軽度増加させることはヒトの肥満・糖尿病・高脂血症発症の予防に有効であると考えられた。しかし高度のUCP2の発現はATP量を低下させ脂肪細胞のアポトーシスを生じることが示唆された。

#### D. 考察

GLUT4の研究から、-423ミニジーンGLUT4の中に、筋肉及び白色脂肪組織特異的なシスエレメントが存在することがわかった。褐色脂肪組織特異的なエンハンサーが-551と-506の間に存在することがわかり、筋肉特異的なエレメントと分離された。褐色脂肪組織の特異的発現調節エレメントに関して、UCP1の研究からサイク

リックAMP-反応エレメント (CRE) とBAT-Specific-エレメント (BRE) が報告されている。BREは-CCTTTCC-モチーフを持ち、よく似たエレメントがGLUT4遺伝子上流部の-CCTTTAA- (-526~-520) と-CCTTTGC- (-509~-503) に存在する。-506トランスジェニックマウスで褐色脂肪組織にミニジーンGLUT4の発現が認められなかったのは、-CCTTTGC-のこれらのエレメントが無かったためと考えられる。運動に反応するエレメントが-551と-442の間に存在することがわかり、転写因子を同定するためのシスエレメントをin vivoにおいて同定できることが明らかになった。又、高脂肪食によるGLUT4のdown-regulationは-701から-551の間のエレメントによることが推定された。ゲルシフト法により、NF1結合部位-621~-582 (WF4) 及び-585~-546 (WF5) 部位にタンパクが結合し、これらのオリゴヌクレオチドに対する核蛋白の結合量は高脂肪食により低下することが示された。

ミトコンドリアにおける熱産生の増加は、その組織での脂肪蓄積を防止し肥満を予防する可能性が考えられる。組織中でのUCP2の増加は、エネルギー基質の要求性を高め、糖質/脂質の代謝を活性化させる可能性も考えられるため、肥満のみならず糖尿病の発症予防に関しても直接的な関与が推察される。実際に本研究の結果から、UCP2を脂肪組織に過剰発現させる事は、その組織の脂肪蓄積量を減少させる事が明らかとなった。これは、UCP2がin vivoにおいて実際に脱共役能を持ち、熱産生亢進に寄与している可能性を強く示唆している。また、UCP2トランスジェニックマウスにおけるインスリン抵抗性の改善効果は、脂肪組織重量の減少による影響と糖質利用亢進の影響との両面からの可能性が考えられる。

僅か2倍程度の軽度過剰発現により、このような表現型が認められた事は肥満/糖尿病の治療効果から考えても大変有効である。又、CLAの摂取によりUCP2を脂肪組織に過剰発現させると、その組織の脂肪蓄積量を大幅に減少させる事が明らかとなった。これは、UCP2がin vivoにおいて実際に脱共役能を持ち、熱産生亢進に寄与している可能性を強く示唆している。しかし、著明なUCP2の増加は脂肪組織重量の極端な減少を生じ、lipodystrophy (脂肪萎縮性糖尿病) を惹起することが明らかとなった。これは、高度のUCP2の発現増加がATP量を低下させ脂肪細胞のアポトーシスを惹起し、低レプチン血症が生じた結果と推察される。レプチンの皮下投与によってインスリン抵抗性のみならず、脂肪肝を部分的に改善した事から、食事性に誘発されるlipodystrophyにおいてもレプチン療法が有効である事も明らかとなった。

## E. 結論

GLUT4の筋肉での増加は筋肉での糖の取り込みを亢進させ、ザルコペニアを防止できると考えられる。このため、GLUT4の発現増加に関係するシスエレメントを約100bpの範囲に狭め、更に50bpに狭小化するため、新たに-506のGLUT4トランスジェニックマウスを作成した。

また、UCP2の軽度の過剰発現は、脂肪組織の減少、耐糖能の改善といった良い効果を生じるが、高度の発現はATPの減少を生じ脂肪組織のアポトーシスにより遂に耐糖能の悪化を生じることを明らかにした。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O. (2001)

- Mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP 3) in skeletal muscle. *Front Biosci.* Mar 1;6:D570-D574.
- 2) Kim K, Seo E, Lee Y, Lee T, Cho Y, Ezaki O, Kim C. (2000) Effect of dietary *Platycodon grandiflorum* on the improvement of insulin resistance in obese Zucker rats. *J Nutr Biochem.* Sep 1;11(9):420-424.
- 3) Nobuyo Tsuboyama-Kasaoka, Mayumi Takahashi, Kentaro Tanemura, Hyoun-Ju Kim, Tsuyoshi Tange, Hitoshi Okuyama, Masaaki Kasai, Shinji Ikemoto, and Osamu Ezaki. (2000) Conjugated Linoleic Acid Supplementation Reduces Adipose Tissue by Apoptosis and Develops Lipodystrophy in Mice. *Diabetes.*, 49, 1534-1542
- 4) Nobuyo Tsunoda, Kayo Maruyama, David W. Cooke, Daniel M. Lane, and Osamu Ezaki (2000) Localization of exercise- and denervation-responsive elements in the mouse GLUT4 gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 267, 744-751
2. 学会発表
- 1) Ezaki O, Kim H-J, Nakatani T, Tsuboyama-Kasaoka N, Ikemoto S, Fish oil feeding activates ppar-alpha and decreases mature srebp-1 protein in mice liver; potential roles of prevention of obesity and insulin resistance. ISSFAL2000学会大会, 2000.6.6, 筑波
- 2) 江崎治、運動による肥満／インスリン抵抗性改善機序. 第21回日本肥満学会大会, 2000.10.20, 愛知県
- 3) 江崎治”魚油による生活習慣病予防機序, 第54回日本栄養食料学会サテライトシンポジウム, 2000.5.11, 愛媛県”
- 4) 笠岡(坪山)宜代, 高橋真由美, 中込圭, 仲谷照代, 江崎治、UCP2過剰発現トランスジェニックマウスの解析：高脂肪食誘導性肥満に対する抑制効果. 第21回日本肥満学会, 2000.10.19, 愛知県
- 5) 笠岡(坪山)宜代, 高橋真由美, 笠井正章, 奥山齊, 池本真二, 江崎治、共役リノール酸(CLA)による体脂肪減少メカニズム....TNF- $\alpha$ , UCP2のUp-regulationによるアポトーシスの誘導. 第54回日本栄養・食糧学会, 2000.5.14, 愛媛県
- 6) 笠岡(坪山)宜代, 大久保美子, 高橋真由美, 金賢珠, 川野因, 江崎治、脂肪組織特異的UCP2過剰発現トランスジェニックマウスの作成および解析. 第54回日本栄養・食糧学会, 2000.5.13, 愛媛県
- 7) 笠岡(坪山)宜代, 高橋真由美, 池本真二, 江崎治、共役リノール酸(CLA)による脂肪細胞のアポトーシス誘導....TNF- $\alpha$ , UCP2のUp-regulation.... 第5回アディポサイエンス研究会, 2000.8.26, 大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

加齢による脂肪量増加機序の解明と予防法に関する研究

（分担）研究者 門脇 孝 東大病院 糖尿病・代謝内科

加齢に伴って発症する肥満は、糖尿病発症の母体となっている。本研究で糖／脂質代謝をコントロールする転写因子PPAR $\gamma$ を標的にした新しい肥満予防法を開発した。

A. 研究目的

我々が作製したPPAR $\gamma$ 欠損マウスの解析とPPAR $\gamma$ /RXRアンタゴニストのスクリーニング同定、開発とを中心に、PPAR $\gamma$ の肥満・インスリン抵抗性における役割を解明し、PPAR $\gamma$ を標的とした新しい生活習慣病の治療法と予防法の確立を目的とする。PPAR $\gamma$ アンタゴニストをin vivoで投与することにより肥満・インスリン抵抗性・高血糖への改善効果を検討する。

B. 研究方法

発生工学的手法を用いてPPAR $\gamma$ 欠損マウスを作製し高脂肪食を負荷してその表現型を解析した。新規化合物であるHX531のPPAR $\gamma$ 転写活性に対する作用をルシフェラーゼを用いたレポーターアッセイにより検討した。またin vitroでHX531の3T3L1の脂肪細胞分化に対する影響を検討するとともに野生型マウス及びPPAR $\gamma$ ヘテロ欠損マウスに投与し、体重や糖代謝に対する生理的作用を検討した。

C. 研究結果

RXRに結合するHX531がPPAR $\gamma$ ・RXRヘテロダイマーの転写活性を中等度低下させ、3T3L1細胞の脂肪細胞への分化を阻害した。この化合物が肥満や2型糖尿病の治療薬となりうるかマウスで検討した。高脂肪食負荷によってマウスは体重増加を呈するが本化合物投与を行うと高脂肪食による体重増加がほぼ完全に抑制されることが明らかとなった。次に脂肪細胞のサイズを検討した。マウスに高脂肪食負荷を行うと脂肪組織での肥大化した脂肪細胞が多数認められる。ところが本化合物を投与するとそのような肥大化した脂肪細胞は全く認められない。このことから本化合物は高脂肪食による脂肪細胞肥大化を抑制することが明らかとなった。次に本化合物のインスリン感受性への作用を検討した。マウスを高脂肪食下で飼育すると高血糖と高インスリン血症を呈し糖尿病を発症する。これに対して本化合物を投与しておくとも高脂肪食下でも血糖値やインスリン値はほぼ正常であった。更にインスリンによる血糖降下作用が本化合物投与群では非投与群に比して強かった。以上より本化合物は高脂肪食によるインスリン抵抗性とそれに伴う糖尿病の発症を阻止する作用があることが明らかとなった。

次にそのメカニズムであるが、PPAR $\gamma$ /RXR活性の中等度の低下は、脂肪組織への脂肪酸の流入の減少に伴って肝臓等への脂肪酸の流入を増加させたが、PPAR $\gamma$ /RXRによるレプチン遺伝子発現の抑制が解除されて、レプチンが高値となり、エネルギー消費が亢進して、骨格筋、肝臓共にその組織内中性脂肪含量は減少していた。また、脂肪組織への脂肪酸の流入の減少によって脂肪細胞が小型化し、大型脂肪細胞で産生、分泌されるFFAの血中レベルは低下していた。これらインスリン標的器官である骨格筋および肝臓での組織内中性脂肪含量の減少と、血中FFAレベルの低下がインスリン抵抗性を改善させるメカニズムと考えられた。一方、PPAR $\gamma$ ヘテロ欠損マウスに本化合物を野生型マウスと同濃度投与すると脂肪萎縮を来し、インスリン抵抗性が惹起された。

#### D. 考察

以上より儉約遺伝子であるPPAR $\gamma$ の活性を中等度低下させることがインスリン抵抗性を改善し糖尿病の治療に結びつくことが明らかとなり、そのような薬剤としてPPAR $\gamma$ あるいはRXR $\alpha$ のアンタゴニストが有望な治療薬として期待できることが示された。しかしながらPPAR $\gamma$ ホモ欠損マウスが胎生致死であったことや、高度の機能低下を来すようなPPAR $\gamma$ の遺伝子変異により高度のインスリン抵抗性を来して糖尿病を発症する症例が報告されていること及び本研究によりPPAR $\gamma$ ヘテロ欠損マウスにPPAR $\gamma$ 阻害薬を投与するとインスリン抵抗性が惹起されたことから、高度のPPAR $\gamma$ 活性の低下は逆にインスリン抵抗性を増悪させる。このようにPPAR $\gamma$ 活性とインスリン抵

抗性との関係はU字型であることが初めて明らかになった。従ってPro12Ala多型保持者のように既にPPAR $\gamma$ の機能が中等度低下している症例にアンタゴニストを投与するとその投与量によってはインスリン抵抗性がかえって増悪する危険性も考えられ、最適量の検討も行っていく必要がある。

#### E. 結論

現代の高脂肪食や運動不足などの生活習慣と儉約遺伝子の相互作用によって2型糖尿病・肥満などの生活習慣病が急増している。PPAR $\gamma$ 遺伝子の例からも明らかのように、儉約型の遺伝素因保持者に対してより重点的に生活習慣に介入することにより生活習慣病の発症を予防することや、儉約遺伝子の機能を抑制する薬物療法によってより効果的な治療に道が開かれる。21世紀はまさにそのようなテーラーメイド医療の実現が期待される。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Miki, H., Yamauchi, T., Suzuki, R., Kubota, N., Terauchi Y., Kamon, J., Kaburagi, Y., Matsui, J., Akanuma, Y., Kimura, S., Tobe, K., and Kadowaki, T. : Essential role of IRS-1 and IRS-2 in adipocyte differentiation.

Mol. Cell. Biol. 21:2521-2531, 2000

2) Hara, K., Kubota, N., Tobe, K., Terauchi, Y., Okada, T., Miki, H., Komeda, K., Tamemoto, H., Yamauchi, T., Hagura, R., Ito, C., Akanuma, Y., and Kadowaki,

T. : The role of PPAR $\gamma$  as a thrifty gene in both in mice and humans.

Brit. J. Nutr. 84: 235-239, 2001

3) Yamauchi, T., Yamauchi, N., Ueki, K., Sugiyama, T., Waki, H., Miki, H., Tobe, K., Masuda, S., Tsushima, T., Yamamoto, T., Fujita, T., Taketani, Y., Fukayama, M., Kimura, S., Yazaki, Y., Nagai, R., and Kadowaki, T. : Constitutive tyrosine phosphorylation of Erb B-2 via Jak2 by autocrine secretion of prolactin in human breast cancer.

J. Biol. Chem. 275: 33937-33944, 2000

4) Ueki, K., Yamauchi, T., Tamemoto, H., Tobe, K., Yamamoto-Honda, R., Kaburagi, Y., Akanuma, Y., Yazaki, Y., Nagai, R., and Kadowaki, T. : Restored insulin-sensitivity in IRS-1-deficient mice treated by adenovirus-mediated gene therapy.

J. Clin. Invest. 105: 1437-1445, 2000

5) Hara, K., Okada, T., Tobe, K., Yasuda, K., Mori, Y., Kadowaki, H., Hagura, R., Akanuma, Y., Kimura, S., Ito, C., and Kadowaki, T. : A Prol2Ala polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 may confer resistance to type II diabetes.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 271: 212-216, 2000

6) Hara, K., Tobe, K., Uchigata, Y., Nakazono, M., Yasuda, K., Terauchi, Y., Iwamoto, Y., Akanuma, Y., Kimura, S., and Kadowaki, T. : Antibody-mediated insulin

resistance treated by cessation of insulin administration.

Int. Med. 39: 143-145, 2000

## 2. 学会発表

●RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る

山内敏正、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、三木啓司、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

4月 日本内科学会

●RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る

山内敏正、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、三木啓司、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

6月 日本内分泌学会

●RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る

山内敏正、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、三木啓司、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

7月 代謝コロキウム

●RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る

山内敏正、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、三木啓司、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

8月 アデイポサイエンス研究会

●RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病薬となり得る

山内敏正、加門淳司、脇裕典、米田嘉重郎、土田温子、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、門脇孝

10月 日本肥満学会

●CBPヘテロ欠損マウスは著明な白色脂肪組織

量の低下と良好なインスリン感受性を呈する

山内敏正、加門淳司、脇裕典、米田嘉重郎、  
土田温子、戸辺一之、木村哲、尾池雄一、山  
村研一、門脇孝

10月 日本肥満学会

●RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病  
薬となり得る

山内敏正、加門淳司、脇裕典、米田嘉重郎、  
土田温子、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首  
藤紘一、門脇孝

10月 日本糖尿病合併症学会

●RXRアンタゴニストは新規抗肥満、抗糖尿病  
薬となり得る

山内敏正、加門淳司、脇裕典、米田嘉重郎、  
土田温子、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首  
藤紘一

10月 日本生化学会

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
（分担）研究報告書

高強度・短時間運動が骨格筋の糖代謝能に及ぼす影響に関する研究

分担研究者 田畑 泉（鹿屋体育大学 体育学部 教授）

研究要旨

ラットを対象にした高強度・短時間水泳トレーニングは、従来、糖代謝能改善のための運動療法に用いられてきた低強度・長時間トレーニングと同等に骨格筋のGLUT4濃度および糖取りこみ速度を増加させることが明らかとなった。

A. 研究目的

本研究は身体トレーニング、特に高い強度のトレーニングが骨格筋のGLUT4濃度に与える影響を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

3～4週齢のSD系の雄ラットに①高強度・短時間水泳トレーニング（体重の14～16%の重さの錘をつけての20秒水泳運動を10秒の休息を挟んで14回行う：正味の運動時間280秒）と②低強度・長時間水泳トレーニング（無負荷で3時間の水泳運動を2回、45分の休憩を挟んで行う）を1週間行った場合の骨格筋（epitrochlearis）のGLUT4およびミトコンドリアの酸化酵素（クエン酸合成酵素）を測定し、コントロール群と比較した。

C. 研究結果

高強度・短時間トレーニングおよび低強度・長時間トレーニング後のラットのepitrochlearisのGLUT4はそれぞれコントロール群に比べ83%および91%高かった。両トレーニング間では差はなかった。両トレーニング後のepitrochlearisの糖取りこみ速度は、コントロール群の値に比べて、それぞれ48%、75%高かった。両トレーニング間では差はなかった。また、クエン酸合成酵素活性は、コントロール群に比べて、高強度・短時間トレーニング群では47%、低強度・長時間トレーニングでは33%高かった。また、両トレーニング間でクエン酸合成酵素活性にも有意差はなかった。

D. 考察

これまで、骨格筋の糖代謝能を向上させるための運動トレーニングは低い強度の運動のみであったが、本研究では高い強度の運動でもGLUT4濃度が増加し、さらにその程度はこれまで用いられてきた低強度・長時間トレーニングと遜色ないものであることが明らかとなった。この結果は、

糖尿病予防のための運動処方プログラムに、スポーツ活動で用いられるようなより高い強度の運動を積極的にとり入れていく可能性があることを示唆している。

E. 結論

高強度・短時間運動を用いた身体トレーニングは、低強度・長時間トレーニングと同様にGLUT4濃度および糖取りこみ速度を増加させる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Terada S, T Yokozeki, K Kawanaka, K Ogawa, M Higuchi, O Ezaki, and I Tabata. Effects of high-intensity intermittent swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. J Appl Physiol (印刷中), 2001.

2. 学会発表

Terada S, T Yokozeki, K Kawanaka, M Higuchi I Tabata. Effects of high-intensity intermittent swimming training on GLUT-4 content in rat skeletal muscle. 11th International Conference on the Biochemistry of Exercise, Little Rock, Aukansas, U. S. A, 4-7, June, 2000.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

## 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
Terada S, T Yokozeki, K Kawanaka, K Ogawa, M Higuchi, O Ezaki, I Tabata	Effects of high-intensity intermittent swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle	Journal of Applied Physiology	印刷中		2001
Goto M, S Terada, M Kato, M Katoh, T Yokozeki, I Tabata, T Shimokawa.	cDNA cloning and mRNA analysis of PGC-1 in epitrochlearis muscle in swimming-exercised rats.	Biochem Biophys Res Commun	274	350-354	2000