

厚生科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

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

平成 13 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江崎 治

分担研究者 門脇 孝

田畑 泉

平成 14（2002）年 3 月

目 次

I. 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 江崎 治、門脇 孝、田畑 泉	1
II. 分担研究報告書	
1. 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 江崎 治	11～16
2. PPAR γ とその転写共役因子 CBP による 脂肪蓄積とインスリン感受性調節メカニズムに 関する研究 門脇 孝	17～23
3. 身体運動トレーニングが骨格筋の PGC-1 mRNA 発現量に及ぼす影響に関する研究 田畑 泉	24
III. 研究成果に刊行に関する一覧表	25～27
IV. 研究成果の刊行物・別刷（別途一部添付）	

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 独立行政法人 国立健康・栄養研究所生活習慣病研究部長

研究要旨

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、運動によって増加する糖輸送体（GLUT4）の発現調節に関与する転写因子を推定した。又、脂肪蓄積を予防するためPPAR γ 、転写共役因子CBP、エフェクター分子アディポネクチンの役割を調べた。

〔研究組織〕

江崎 治（独立行政法人 国立健康・栄養研究所 生活習慣病研究部 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）

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、田畑）。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。脂肪組織での分化に関与する転写因子PPAR γ 、及びコファクターであるCBPの肥満に対する役割を調べた。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(門脇)。

B. 研究方法

A) 運動によるGLUT4発現増加に関与するプロモーター領域-551と-442の間の遺伝子配列を「おとりDNA」とした酵母One-hybrid法により、運動負荷マウス筋肉由来cDNAライブラリーおよびヒト筋肉由来cDNAライブラリーをスクリーニングし、運動反応性シス領域に結合する転写因子の同定を試みた。

又、運動によるGLUT4発現増加に深くかかわっているPPAR γ coactivator-1(PGC-1)を「おとり」とした酵母Two hybrid法で上記のcDNAライブラリーをスクリーニングし、PGC-1を含めたGLUT4転写因子複合体の同定を試みた。

マウスに5日間のスイミング、1日のランニング、1回のAICARの腹腔内投与を行い、腓腹筋よりRNAを調整した。又、10週齢のC57/BL6マウスの大腿四頭筋より赤筋および白筋を分離採取し、PGC-1とGLUT4 mRNAの変動を調べた。

B) PPAR γ アゴニスト/アンタゴニスト投与マウス、PPAR γ ヘテロ欠損マウス、CBPヘテロ欠損マウスのフェノタイプを分析した。

C. 研究結果

A) ヒト筋肉由来cDNAライブラリーを用いて同様のスクリーニングを行った結果、3種類の転写因子を検出した。PGC-1を「おとり」とし

てTwo hybrid法でスクリーニングしたところ、DNA結合タンパク質の4種類、RNA修飾に関与するタンパク質の3種類を検出した。

腓腹筋におけるGLUT4発現量は対照群に比べ、スイミング群およびランニング群でそれぞれ1.5倍ずつ増加していた。PGC-1発現量もそれぞれ1.2および1.6倍に増加していた。ミトコンドリア量のマーカーとしてcytochrome C oxidase (COX) IV発現量を測定したところ、発現量はPGC-1の発現量に伴い、スイミング群およびランニング群でそれぞれ対照群に比べ約1.4倍増加した。

AICAR投与によりAMP kinaseを活性化させるとGLUT4は1.9倍、PGC-1は3.2倍増加した。COX IV発現量には有意な変化は認められなかった。

B) PPAR γ ヘテロ欠損、もしくはPPAR γ 阻害剤によるPPAR γ の中等度の活性低下はレプチンとアディポネクチンの効果の増加をもたらし、脂肪合成の抑制とエネルギー消費の亢進を介して、白色脂肪組織、骨格筋、肝臓全ての臓器の中性脂肪含量を低下させ、肥満とインスリン抵抗性の両方を改善させた。一方、PPAR γ ヘテロ欠損マウスにPPAR γ 阻害剤を投与してPPAR γ 活性を著明に低下させると脂肪組織の消失を招き、インスリン感受性ホルモンが枯渇して骨格筋・肝臓の組織内中性脂肪量が増加し、インスリン抵抗性が惹起された。

CBPヘテロ欠損マウスは、普通食、高脂肪食下共に、より良好な耐糖能、インスリン感受性を示した。これらは、レプチン感受性が亢進し、インスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンの発現量、血中濃度が増加していたこと、及びインスリン抵抗性を惹起する遊離脂肪酸の血中濃度、TNF α の発現量が低下していたことによるものと考えられた。肝臓

・骨格筋・脂肪組織では脂肪合成酵素の発現低下及び脂肪酸酸化酵素やUCP2の発現増加を認め、これらが骨格筋、肝臓での中性脂肪含量の低下をもたらす、良好な耐糖能、インスリン感受性に寄与していると考えられた。

D. 考察

1) GLUT4の運動反応性シスエレメントを用いたOne-hybrid法により3種類の転写因子を検出した。これらのうち、2種類の転写因子は共にbasic helix loop helix-leucine zipper構造を有する類似体で、それぞれホモダイマーのテロダイマーを形成して、DNAの標的配列に結合することが知られている。ヒトおよびマウスGLUT4の運動反応性シスエレメント中には、この2つの転写因子が結合するコンセンサスDNA配列(1塩基変異)が存在し、これら転写因子が運動反応性GLUT4発現増加に関与する可能性が考えられる。又、他の1つはリガンドが同定されていない核内受容体で、その発現は細胞内カルシウム濃度変化によって調節されている。運動刺激は、細胞内カルシウム濃度変化をもたらすため、この転写因子の発現量を変化させる可能性がある。今後、これら転写因子のGLUT4の運動反応性シスエレメントへの結合能、および転写活性化能を確認する。

PGC-1を「おとり」としたTwo-hybrid法では、4種類のDNA結合能のあるタンパク質を検出したが、今後、GLUT4の運動反応性シスエレメントとの結合能を確認し、PGC-1を中心に運動反応性に形成される可能性のある転写因子群を解析する。

褐色脂肪組織の分化にかかわるPPAR γ のコアクチベーターとして発見されたPGC-1がGLUT4 mRNA発現に関与することが、筋肉培養細胞

を用いた実験で明らかにされた。本研究において運動刺激およびAICAR投与によるAMPキナーゼ活性化が筋肉におけるPGC-1 およびGLUT4 mRNA発現量を増加させたことから、運動刺激によって活性化されたAMPキナーゼがPGC-1発現増加を介してGLUT4発現増加に深くかかわっていることが強く示唆された。我々のトランスジェニックマウスを用いた研究から、GLUT4遺伝子の5'末端上流の-551と-442の間に運動反応性シス領域が存在すること、Dohmらのグループの研究から-895と-730の間にAICAR反応性シス領域が存在すること、-473と-464の間のMEF2領域への筋肉核抽出物の結合量がAICAR投与により増加することが明らかにされている。PGC-1はMEF2Cと結合することも報告されており、運動刺激によるGLUT4発現増加にPGC-1やMEF2Cを含めた転写因子複合体が関与している可能性が考えられる。

又、PGC-1はミトコンドリア生合成にも深く関与する。PGC-1が、nuclear respiratory factor (NRF)-1および-2の発現を誘導し、さらにNRF-1のコアクチベーターとして働くことにより、ミトコンドリアDNAの翻訳と合成を促進するmitochondrial transcription factor A (mtTFA)の発現量を増加してミトコンドリア生合成を亢進する。本研究において運動刺激によってPGC-1発現量が増加し、COX IVの発現量の増加が認められ、ミトコンドリア生合成の亢進が示された。

赤筋はミトコンドリアを多く含む。本研究においても赤筋におけるCOX IVの発現量は白筋よりも多く、PGC-1およびGLUT4発現量も多かった。これも、PGC-1がGLUT4発現およびミトコンドリア生合成に関与していることを示唆するものである。

このように、PGC-1が運動刺激によるGLUT4

発現亢進やミトコンドリアの生合成に関与するので、ザルコペニアの発症予防にはPGC-1を増加させる、又は、AMP-キナーゼを活性化する方法が考えられ、これらの方法により筋肉の代謝活性を亢進させ、筋肉量の増加、脂肪蓄積の予防に寄与すると推定される。

2) PPAR γ の著明な活性化とPPAR γ の中等度の活性低下は体脂肪量に与える影響は正反対であるが、両者とも脂肪細胞の小型化によって、インスリン抵抗性惹起分子の発現を低下させ、インスリン感受性ホルモンを増加させると共に、骨格筋・肝臓における中性脂肪の蓄積を抑制して、インスリン抵抗性を改善させていると考えられた。PPAR γ ホモ欠損マウスが胎生致死であったことや、重度の機能低下を来す様なPPAR γ 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から、Pro12A1a多型保持者の様に既にPPAR γ の機能が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と考えられた。

PPAR γ ヘテロ欠損マウスは、脂肪蓄積経路の抑制と、レプチンとアディポネクチン情報伝達経路の活性化を介した脂肪酸の燃焼とエネルギー消費の亢進により、抗肥満・抗糖尿病の表現型を呈する。CBPヘテロ欠損マウスの表現型はより顕著であったことより、PPAR γ 依存性・非依存性の両方の情報伝達経路を介して発揮されていることが示唆され、PPAR γ 非依存性の抗肥満・抗糖尿病の新規な情報伝達経路を探索するのに有用なモデルであると考えられた。脂肪組織によるインスリン感受性調節メカニズムとして、本研究により、余剰の糖・脂質を貯蔵して他の臓器の中性脂肪

含量の増加を抑制する代謝性のメカニズムが充分には働かないと考えられる場合でも、インスリン感受性ホルモンの分泌の内分泌性のメカニズムによってインスリン感受性を制御し得る可能性が示唆された。

アディポネクチンはインスリン感受性ホルモンであることが示されたので、その作用を増加させる薬剤の開発が望まれるが、それそのものは蛋白であるので、経口投与が困難である。戦略としては未同定のアディポネクチン受容体をクローニングし、その低分子量アゴニストを今後探索したり、アディポネクチンの発現が肥満で低下するメカニズムを転写レベルで明らかにして、アディポネクチンの発現を増加させる薬剤の開発を目指したり、アディポネクチンの分泌メカニズムを明らかにし、その分泌促進剤をスクリーニングすることがザルコペニアの予防法の1つとして考えられた。

E. 結論

1) 運動反応性にGLUT4発現量を調節する転写因子のスクリーニングを行った。One-hybrid法により運動反応性シス領域に結合する転写因子の同定を試みた結果、3種類の転写因子を検出した。Two-hybrid法によりPGC-1を含めたGLUT4転写因子複合体の同定を試みた結果、DNA結合タンパク質を4種類、RNA修飾に関与するタンパク質を4種類検出した。今後、これらタンパク質と運動反応性GLUT4発現変化との関係を明らかにする必要がある。

筋肉においてGLUT4が増加する状態ではPGC-1の増加が認められ、PGC-1がGLUT4の発現増加に強く関与していることが示唆された。

ザルコペニアを予防する上で、これらの転写因子、コファクターを活性化し、筋肉量を

増加させる新しい治療法が考えられた。

2) 高脂肪食下では、それに応じてインスリン感受性に最適のPPAR γ 活性が存在し、インスリン抵抗性とPPAR γ 活性の関係は生理的な範囲内ではそこをボトムとするU字型を呈する。PPAR γ は俟約遺伝子であり、高脂肪食下ではPPAR γ 活性の部分的抑制が抗肥満、抗糖尿病薬となりうる。

CBPはエネルギー蓄積と消費を調節する生理的なスイッチの役割を果たしており、主要な俟約遺伝子である事が示唆された。又、アディポネクチンは個体レベルでの生理的な糖・脂質代謝の重要な調節因子であると考え、ザルコペニアの予防に重要なホルモンの1つと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakatani T, Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Miura S, Ezaki O. (2002) Mechanism for PPAR α activators-induced up-regulation of UCP2 mRNA in rodent hepatocytes. J Biol Chem, 277:9562-9569.
- 2) Takahashi M, Tsuboyama-Kasaoka N, Nakatani T, Ishii M, Tsutsumi S, Aburatani H, and Ezaki O. (2002) Fish oil feeding alters liver gene expressions to defend against PPAR α activation and ROS production. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 282:G338-G348.
- 3) Yamauchi T, Waki H, Kamon J, Murakami K, Motojima K, Komeda K, Miki H, Kubota N, Terauchi Y, Tsuchida A, Tsuboyama-Kasaoka N, Yamauchi N, Ide T, Hori W, Kato S, Fukayama M, Akanuma Y, Ezaki O. Itai A, Nagai R, Kimura S, Tobe K, Kagechika H, Shudo K, Kadowaki T. (2001) Inhibition of RXR and PPAR γ ameliorates diet-induced obesity and type2 diabetes. J Clin Invest. Oct;108(7):1001-13.
- 4) Terada S, Takizawa M, Yamamoto S, Ezaki O. Itakura H, Akagawa KS. (2001) Suppressive mechanisms of EPA on human T cell proliferation. Microbiol Immunol.;45(6):473-81.
- 5) Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O. Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. (2001) The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. Nat Med. Aug;7(8):941-6.
- 6) Terada S, Yokozeki T, Kawanaka K, Ogasawara K, Higuchi M, Ezaki O. Tabata I. (2001) Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. J Appl Physiol. Jun;90(6):2019-24.
- 7) Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O. (2001) Mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP3) in skeletal muscle. Front Biosci. 2001

Mar 1;6:D570-D574.

- 8) Yamauchi T, Oike Y, Kamon J, Waki H, Komeda K, Tsuchida A, Date Y, Li MX, Miki H, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Saeki T, Nakazato M, Naitoh T, Yamamura K, Kadowaki T. Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in Crebbp heterozygous mice. Nat Genet. 30:221-6, 2002
- 9) Takahashi N, Nemoto T, Kimura R, Tachikawa A, Miwa A, Okado H, Miyashita Y, Iino M, Kadowaki T, Kasai H. : Two-Photon Excitation Imaging of Pancreatic Islets With Various Fluorescent Probes. Diabetes 51:S25-S28, 2002
- 10) Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dinan C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki T, Hagura R, Akanuma Y, Yazaki Y, Nagai R, Taniyama M, Matsubara K, Yoda M, Nakano Y, Kimura S, Tomita M, Kimura S, Ito C, Froguel P, Kadowaki T. : Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. Diabetes 51:536-40, 2002
- 11) Eto K, Yamashita T, Tsubamoto Y, Terauchi Y, Hirose K, Kubota N, Yamashita S, Taka J, Satoh S, Sekihara H, Tobe K, Iino M, Noda M, Kimura S, Kadowaki T. : Phosphatidylinositol 3-kinase suppresses glucose-stimulated insulin secretion by affecting post-cytosolic [Ca²⁺] elevation signals. Diabetes 51:87-97, 2002
- 12) Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y, Iwamoto Y, Kobayashi M, Nanjo K, Sasaki A, Seino Y, Ito C, Shima K, Nonaka K, Kadowaki T. : Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. Diabetes Res ClinPract. 55:65-85, 2002
- 13) Tobe K, Suzuki R, Aoyama M, Yamauchi T, Kamon J, Kubota N, Terauchi Y, Matsui J, Akanuma Y, Kimura S, Tanaka J, Abe M, Ohsumi J, Nagai R, Kadowaki T. : Increased expression of the sterol regulatory element-binding protein-1 gene in insulin receptor substrate-2(-/-) mouse liver. J Biol Chem. 19:38337-40, 2001
- 14) Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Murakami K, Motojima K, Komeda K, Ide T, Kubota N, Terauchi Y, Tobe K, Miki H, Tsuchida A, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Kadowaki T. : The mechanisms by which both heterozygous peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) deficiency and PPARgamma agonist improve insulin resistance. J. Biol. Chem. 276: 41245-54, 2001
- 15) Kaburagi Y, Satoh S, Yamamoto-Honda R, Ito T, Ueki K, Akanuma Y, Sekihara H, Kimura S, Kadowaki T. : Insulin-independent and wortmannin-resistant targeting of IRS-3 to the plasma membrane via its pleckstrin homology domain mediates a diffe

rent interaction with the insulin receptor from that of IRS-1. Diabetologia 44: 992-1004, 2001

16) Takahashi Y, Noda M, Tsugane S, Kimura S, Akanuma Y, Kuzuya T, Ohashi Y, Kadowaki T. : Importance of standardization of hemoglobin A1c in the analysis of factors that predict hemoglobin A1c levels in non-diabetic residents of three distinct areas of Japan. Diabetes Res. Clin. Pract. 53: 91-7, 2001

17) Tsuji Y, Kaburagi Y, Terauchi Y, Satoh S, Kubota N, Tamemoto H, Kraemer FB, Sekihara H, Aizawa S, Akanuma Y, Tobe K, Kimura S, Kadowaki T. : Subcellular localization of insulin receptor substrate family proteins associated with phosphatidylinositol 3-kinase activity and alterations in lipolysis in primary mouse adipocytes from IRS-1 null mice. Diabetes 50:1455-63, 2001

18) Mori H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Seino S, Yokoi N, Takeda J, Inoue I, Seino Y, Yasuda K, Hanafusa T, Yamagata K, Awata T, Kadowaki T. Hara K, Yamada N, Gotoda T, Iwasaki N, Iwamoto Y, Sanke T, Nanjo K, Oka Y, Matsutani A, Maeda E, Kasuga M. : The Pro12 → Ala substitution in PPAR-γ is associated with resistance to development of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. Diabetes. 50:891-

4, 2001

19) Okada T, Tobe K, Hara K, Yasuda K, Kawaguchi Y, Ikegami H, Ito C, Kadowaki T. : Variants of neurogenin 3 gene are not associated with Type II diabetes in Japanese subjects. Diabetologia 44:241-4, 2001

20) Miki H, Yamauchi T, Suzuki R, Komeda K, Tsuchida A, Kubota N, Terauchi Y, Kamon J, Kaburagi Y, Matsui J, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Tobe K, Kadowaki T. : Essential role of insulin receptor substrate 1 (IRS-1) and IRS-2 in adipocyte differentiation. Mol. Cell. Biol. 21:2521-32, 2001

2. 学会発表

1) Regulation of GLUT4 by exercise and denervation. Ezaki O. FASEB summer research conferences, 2001. 7. 04, Snowmass Colorado

2) Fish oil feeding up-regulates both mouse and rat hepatocytes UCP2 mRNA by PPARα activation. Nakatani T, Tsuboyama-Kasaoka N, Oginuma T, Ezaki O. 17th International Congress of Nutrition, 2001. 8., Austria, August

3) Mice overexpressing human uncoupling protein2 (UCP2) in adipose tissues prevents high fat diet-induced obesity and diabetes. Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Nakagomi K, Nakatani T, Ezaki O. 17th In

ternational Congress of Nutrition, 2001.
8.30, Vienna, Austria

4) Gene expression profile of fish oil feeding in liver of C57BL/6j mice. Takahashi M, Tsuboyama-Kasaoka N, Nakatani T, Aburatani H, **Ezaki O**, 17th International Congress of Nutrition, 2001.8., Austria, August

5) 運動の分子機構. **江崎治**, 日本糖尿病学会第35回糖尿病学の進歩, 2001.2.24, 広島国際会議場 広島厚生年金会館

6) インスリン抵抗性と糖尿病 -- 筋肉の面から、西尾善彦、**江崎治**、浅野知一郎、島野仁、田中逸、Waldhausl W, 第44回日本糖尿病学会年次学術集会, 2001.4.18, 国立京都国際会館

7) 魚油の抗肥満作用: ジーンチップを用いた解析、**江崎治**、高橋真由美、仲谷照代、油谷浩幸、笠岡(坪山)宜代, 第6回アディポサイエンス研究会-21世紀のアディポサイエンス研究の幕開け, ゲノムから肥満臨床まで, 2001.8.18, 大阪府

8) 運動による骨各筋におけるジーンチップを用いた遺伝子発現の解析、**江崎治**、池本真二、高橋真由美、角田伸代、丸山佳代、池田仁子、笠岡(坪山)宜代、古川由香、川野因、油谷浩幸, 第55回日本栄養・食糧学会大会, 2001.5.08, 国立京都国際会館

9) 平成13年4月2日 第98回内科学会講演会 於横浜. 山内敏正、加門淳司、脇裕典、窪田直人、寺内康夫、戸辺一之、, 赤沼安夫、木

村哲、永井良三、**門脇孝**: 脂肪委縮性糖尿病マウスを用いたインスリン抵抗性の成因の解明と治療法の開発

10) 平成13年4月17日 第44回日本糖尿病学会総会 於京都. 山内敏正、加門淳司、脇裕典、桐井恭子、窪田直人、寺内康夫、戸辺一之、赤沼安夫、木村哲、**門脇孝**: PPAR γ によるインスリン感受性調節メカニズム-PPAR γ 欠損マウス及びPPAR γ アンタゴニストを用いて-

11) 平成13年5月7日 第回日本栄養・食料学会 於京都. 山内敏正、加門淳司、脇裕典、桐井恭子、窪田直人、寺内康夫、戸辺一之、赤沼安夫、木村哲、永井良三、**門脇孝**: PPAR γ によるインスリン感受性調節メカニズム-PPAR γ 欠損マウス及びPPAR γ アンタゴニストを用いて-

12) 平成13年6月29日 第74回日本内分泌学会学術総会 於横浜. 山内敏正、加門淳司、脇裕典、戸辺一之、木村哲、影近弘之、首藤紘一、**門脇孝**: PPAR γ によるインスリン感受性調節メカニズム

13) 平成13年8月1日 第38回日本臨床分子医学会学術総会 於札幌. 山内敏正、原一雄、加門淳司、脇裕典、森保道、窪田直人、寺内康夫、戸辺一之、依田まどか、赤沼安夫、影近弘之、首藤紘一、木村哲、永井良三、**門脇孝**: アディポネクチン欠乏による2型糖尿病の分子メカニズム

14) 平成13年8月18日 第10回アディポサイエンス研究会 於大阪. 山内敏正、原一

雄、加門淳司、脇裕典、森保道、窪田直人、寺内康夫、戸辺一之、依田まどか、赤沼安夫、影近弘之、首藤紘一、木村哲、永井良三、**門脇孝**：アディポネクチン欠乏によるインスリン抵抗性・2型糖尿病分子メカニズム

15)平成13年10月11日 第22回日本肥満学会 於前橋。山内敏正、原一雄、加門淳司、脇裕典、森保道、窪田直人、寺内康夫、戸辺一之、依田まどか、赤沼安夫、影近弘之、首藤紘一、木村哲、永井良三、**門脇孝**：アディポネクチン欠乏によるインスリン抵抗性・2型糖尿病発症の分子メカニズム

16)平成13年10月12日 第22回日本肥満学会 於前橋。山内敏正、**門脇孝**：PPAR γ と転写共役因子による脂肪細胞分化調節の分子メカニズムと病態生理学的意義

17)平成13年10月20日 第16回日本糖尿病合併症学会 於大阪。山内敏正、原一雄、加門淳司、脇裕典、森保道、窪田直人、寺内康夫、戸辺一之、依田まどか、赤沼安夫、影近弘之、首藤紘一、木村哲、永井良三、**門脇孝**：アディポネクチン欠乏によるインスリン抵抗性・2型糖尿病分子メカニズム

18)平成13年10月25日 第74回日本生化学会大会 於京都。山内敏正、加門淳司、脇裕典、大隅潤、村上浩二、富田基郎、**門脇孝**：インスリン感受性ホルモンとしてのアディポネクチンの病態生理学的意義

19)平成13年12月1日 第13回分子糖尿病学シンポジウム 於東京。山内敏正、加門淳司、脇裕典、内田晶子、窪田直人、寺内康夫、尾

池雄一、山村研一、戸辺一之、**門脇孝**：個体レベルでのアディポネクチン作用過剰はインスリン感受性を増加させる-アディポネクチン過剰発現マウスとCBPヘテロ欠損マウスの解析から-

20)June 24, 2001 60th Scientific Sessions, American Diabetes Association (Philadelphia) Toshimasa Yamauchi, Junji Kamon, Yasuo Terauchi, Naoto Kubota, Hironori Waki, Yasumichi Mori, Kazuo Hara, Kajuro Komeda, Atsuko Tsuchida, Yasuo Akanuma, Satoshi Kimura, Kazuyuki Tobe, Madoka Yoda, Motowo Tomita, Philippe Froguel and **Takashi Kadowaki** : Replenishment of fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance in lipodystrophic diabetes and type 2 diabetes

21)June 25, 2001 60th Scientific Sessions, American Diabetes Association (Philadelphia) Toshimasa Yamauchi, Hironori Waki, Junji Kamon, Kiyoto Motojima, Kajuro Komeda, Naoto Kubota, Yasuo Terauchi, Atsuko Tsuchida, Nobuyo Tsuboyama-Kasaoka, Yasuo Akanuma, **Osamu Ezaki**, Ryozi Nagai, Satoshi Kimura, Kazuyuki Tobe, Hiroyuki Kagechika, Koichi Shudo and **Takashi Kadowaki** : The optimal level of PPAR γ activity for insulin sensitivity and anti-obesity

22)July 24, 2001 The 8th International Workshop on Lessons from Animal Diabetes, at Tokyo Toshimasa Yamauchi, Yuichi Oike, Junji Kamon, Hironori Waki, Kajuro K

ameda, Atsuko Tsuchida, Kenichi Yamamura
and Takashi Kadowaki : Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in heterozygous CBP deficient mice

23) November 16, 2001 International Symposium on "Obesity - Pathogenesis of Diabetes Mellitus" at Wakayama

Toshimasa Yamauchi, Junji Kamon, Hironori Waki, Kazuo Hara, Yasumichi Mori, Kazuyuki Tobe, and Takashi Kadowaki : The molecular mechanism by which decreased adiponectin level causes insulin resistance and type 2 diabetes

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）の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 独立行政法人 国立健康・栄養研究所 生活習慣病研究部長

研究要旨

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、運動によるGLUT4発現増加に関与するトランスエレメントを推定した。又、ミトコンドリア合成に関与するPGC-1(PPAR γ coactivator-1)とサルコペニアとの関連について調べた。

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係する酵素の発現量の低下、ストレス反応の増加に関係する酵素、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, vol285, 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。

又、長期間の運動はミトコンドリア量を増加させ、筋肉において脂肪酸の β -酸化を促進することが古くから知られていたが、PGC-1 (PPAR γ coactivator-1)が、ミトコンドリア合成を促進する重要な因子であることが示され、さらにPGC-1の発現量が運動に反応して増加するこ

とが報告されている。興味深いことに、GLUT4を発現しない培養筋肉細胞に、PGC-1を強制発現させることによりGLUT4が発現するようになることが示され、長期間にわたる運動によって亢進される糖/脂質代謝促進効果に、PGC-1が深くかかわっている可能性が強く示唆されている。PGC-1自身にはDNA結合能はなく、他の転写因子と結合して転写因子複合体の形成の一端を担っているとされている。

本研究では、筋肉における運動負荷からGLUT4 mRNA発現量増加の情報伝達系の一端を明らかにする目的で、運動負荷時、AMP kinase活性化時におけるGLUT4発現量とPGC-1発現量の相関性を検討した。さらに、赤筋にはミトコンドリア含量が高く、GLUT4発現量の多いため、PGC-1発現量が両筋肉では異なることが想定されたため、筋肉を白筋と赤筋に分け、それぞれにおけるGLUT4発現量とPGC-1発現量の相関性も検討した。

B. 研究方法

A) これまでに、運動によるGLUT4発現増加に関与するプロモーター領域が、GLUT4遺伝子の転写開始点の-551と-442の間の遺伝子配列に存在していることを明らかにしている。そこで今回、-552から-502 (エレメントA) および-506から-438 (エレメントB) を「おとりDNA」とした酵母One-hybrid法により、運動負荷マウス筋肉由来cDNAライブラリーおよびヒト筋肉由来cDNAライブラリーをスクリーニングし、運動反応性シス領域に結合する転写因子の同定を試みた。

又、運動によるGLUT4発現増加に深くかかわっている可能性が示唆されているPPAR γ coactivator-1(PGC-1)を「おとり」とした酵母Two hybrid 法で上記のcDNAライブラリーをスク

リーニングし、PGC-1を含めたGLUT4転写因子複合体の同定を試みた。

B) マウスに5日間のスイミング、1日のランニング、1回のAICARの腹腔内投与を行い、腓腹筋よりRNAを調整した。又、10週齢のC57/BL6マウスの大腿四頭筋より赤筋および白筋を分離採取した。

C. 研究結果

A) GLUT4エレメントAおよびBを「おとり」としてOne-hybrid法により、運動負荷マウス筋肉由来cDNAライブラリーをスクリーニングしたが、ミトコンドリア由来のクローンや筋繊維に関与するクローンが数多く検出され、DNA結合タンパク質は検出できなかった。PGC-1結合タンパク質を「おとり」としてTwo hybrid 法でスクリーニングしたところ、骨格筋と心臓に特異的に発現しているediting enzyme complex-2 を検出した。その他、ミトコンドリア由来のクローンや筋繊維に関与するクローンが数多く検出された。

次に、ヒト筋肉由来cDNAライブラリーを用いて同様のスクリーニングを行った結果、GLUT4エレメントAを「おとり」とした場合、2種類の転写因子を、エレメントBを「おとり」とした場合、オーファン受容体を検出した。PGC-1を「おとり」としてTwo hybrid 法でスクリーニングしたところ、DNA結合タンパク質の4種類、RNA修飾に関与するタンパク質の3種類を検出した。

B)

a) AICAR腹腔内投与によるAMPキナーゼの活性化を確認するため、腹腔内投与1時間後における腓腹筋 (Gastro.) のAMPキナーゼ活性を測定した。

あわせて白色脂肪細胞 (WAT)、褐色脂肪細胞 (BAT)、肝臓 (Liver)のAMPキナーゼ活性も測定した。腓腹筋では、対照群で85.1 pmol/min/mgであったのに対し、AICAR投与群では232.2 pmol/min/mgと約2.7倍の増加が観察された。しかし、他の臓器では増加が認められなかった。

b) mRNA発現の変化

腓腹筋におけるGLUT4発現量は対照群に比べ、スイミング群およびランニング群でそれぞれ1.5倍ずつ増加していた。PGC-1発現量もそれぞれ1.2および1.6倍に増加していた。ミトコンドリア量のマーカーとしてcytochrome C oxidase (COX) IV発現量を測定したところ、発現量はPGC-1の発現量に伴い、スイミング群およびランニング群でそれぞれ対照群に比べ約1.4倍増加した。

AICAR投与によりAMP kinaseを活性化させるとGLUT4は1.9倍、PGC-1は3.2倍増加した。COX IV発現量には有意な変化は認められなかった。

PGC-1発現量は、褐色脂肪組織において寒冷暴露により増加することが報告されているため、今回の実験のコントロールとして、寒冷暴露マウス由来の褐色脂肪組織中のPGC-1発現量を測定した。あわせてGLUT4、COX IV発現量を測定した。その結果、PGC-1とGLUT4発現量の増加が認められた。

赤筋は白筋に比べGLUT4含量が1.8倍、PGC-1の発現量が1.5倍、COX IV発現量が2.0倍であった。

D. 考察

GLUT4の運動反応性シスエレメントを用いたOne-hybrid法により3種類の転写因子を検出した。これらのうち、2種類の転写因子は共にb

asic helix loop helix-leucine zipper構造を有する類似体で、それぞれホモダイマーのテロダイマーを形成して、DNAの標的配列に結合することが知られている。ヒトおよびマウスGLUT4の運動反応性シスエレメント中には、この2つの転写因子が結合するコンセンサスDNA配列(1塩基変異)が存在し、これら転写因子が運動反応性GLUT4発現増加に関与する可能性が考えられる。又、他の1つはリガンドが同定されていない核内受容体で、その発現は細胞内カルシウム濃度変化によって調節されている。運動刺激は、細胞内カルシウム濃度変化をもたらすため、この転写因子の発現量を変化させる可能性がある。これらのことを明らかにするために、今後、これら転写因子のGLUT4の運動反応性シスエレメントへの結合能、および転写活性化能を確認する必要がある。

PGC-1を「おとり」としたTwo-hybrid法では、4種類のDNA結合能のあるタンパク質を検出したが、今後、GLUT4の運動反応性シスエレメントとの結合能を確認し、PGC-1を中心に運動反応性に形成される可能性のある転写因子群を解析する必要がある。また、PGC-1のC末端にRNA修飾タンパク質結合領域が存在するため、RNA修飾に関与するタンパク質も数種類検出されたが、運動刺激による生理変化におけるこれら修飾タンパク質の役割は今後の検討課題である。

最近、褐色脂肪組織の分化にかかわるPPAR γ のコアクチベーターとして発見されたPGC-1がGLUT4 mRNA発現に関与することが、筋肉培養細胞を用いた実験で明らかにされた。本研究において運動刺激およびAICAR投与によるAMPキナーゼ活性化が筋肉におけるPGC-1およびGLUT4 mRNA発現を増加させたことから、運動刺激によって活性化されたAMPキナーゼがP

GC-1発現増加を介してGLUT4発現増加に深くかかわっている可能性が強く示唆された。我々のトランスジェニックマウスを用いた研究から、GLUT4遺伝子の5'末端上流の-551と-442の間に運動反応性シス領域が存在することがわかっており、Dohmらのグループの研究から、-895と-730の間にAICAR反応性シス領域が存在すること、-473と-464の間のMEF2領域への筋肉核抽出物の結合量がAICAR投与により増加することが明らかにされている。PGC-1はMEF2Cと結合することも報告されており、運動刺激によるGLUT4発現増加にPGC-1やMEF2Cを含めた転写因子複合体が関与している可能性が考えられる。

PGC-1はミトコンドリア生合成にも深く関与する。PGC-1が、nuclear respiratory factor (NRF)-1および-2の発現を誘導し、さらにNRF-1のコアクチベーターとして働くことにより、ミトコンドリアDNAの翻訳と合成を促進するmitochondrial transcription factor A (mtTFA)の発現量を増加してミトコンドリア生合成を亢進することが報告されている。本研究において運動刺激によってPGC-1発現量が増加し、COX IVの発現量の増加が認められ、ミトコンドリア生合成の亢進が示された。しかしながら、AICAR投与によるAMPキナーゼ活性化によってPGC-1発現量が増加するものの、COX IVの発現量に有意な変化が認められなかった。今回、AICARの単回投与後、約12時間後における効果を検討したため、今後、AICAR投与によるミトコンドリア合成促進作用の経時的変化を検討する必要がある。

赤筋はミトコンドリアを多く含む。本研究においても赤筋におけるCOX IVの発現量は白筋よりも多く、PGC-1およびGLUT4発現量も多かった。これも、PGC-1がGLUT4発現およびミ

トコンドリア生合成に関与していることを示唆するものである。

このように、PGC-1が運動刺激によるGLUT4発現亢進に関与している可能性が示唆されるが、運動刺激およびAMPキナーゼシグナルがどのようにしてPGC-1発現に結びつくのかは、現在のところ不明である。つい最近、AMPキナーゼがコアクチベーターのp300をリン酸化し、核内受容体への結合を阻害することが報告され、AMPキナーゼシグナルと遺伝子発現調節の関連性が示された。今後、AMPキナーゼ経路を含めた運動刺激による転写調節に関する研究を進めていく必要がある。

E. 結論

運動反応性にGLUT4発現量を調節する転写因子のスクリーニングを行った。One-hybrid法により運動反応性シス領域に結合する転写因子の同定を試みた結果、3種類の転写因子を検出した。Two-hybrid法によりPGC-1を含めたGLUT4転写因子複合体の同定を試みた結果、DNA結合タンパク質を4種類、RNA修飾に関与するタンパク質を4種類検出した。今後、これらタンパク質と運動反応性GLUT4発現変化との関係を明らかにする必要がある。

筋肉においてGLUT4が増加する状態ではPGC-1の増加が認められ、PGC-1がGLUT4の発現増加に強く関与していることが示唆された。

ザルコペニアを予防する上で、これらの転写因子、コファクターを活性化し、筋肉量を増加させ新しい治療法が機能を亢進させると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Nakatani T, Tsuboyama-Kasaoka N, Taka

hashi M, Miura S, Ezaki O. (2002) Mechanism for PPAR α activators-induced up-regulation of UCP2 mRNA in rodent hepatocytes. J Biol Chem, 277:9562-9569.

2) Takahashi M, Tsuboyama-Kasaoka N, Nakatani T, Ishii M, Tsutsumi S, Aburatani H, and Ezaki O. (2002) Fish oil feeding alters liver gene expressions to defend against PPAR α activation and ROS production. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 282:G338-G348.

3) Yamauchi T, Waki H, Kamon J, Murakami K, Motojima K, Komeda K, Miki H, Kubota N, Terauchi Y, Tsuchida A, Tsuboyama-Kasaoka N, Yamauchi N, Ide T, Hori W, Kato S, Fukayama M, Akanuma Y, Ezaki O, Itai A, Nagai R, Kimura S, Tobe K, Kagechika H, Shudo K, Kadowaki T. (2001) Inhibition of RXR and PPAR γ ameliorates diet-induced obesity and type 2 diabetes. J Clin Invest. Oct;108(7):1001-13.

4) Terada S, Takizawa M, Yamamoto S, Ezaki O, Itakura H, Akagawa KS. (2001) Suppressive mechanisms of EPA on human T cell proliferation. Microbiol Immunol;45(6):473-81.

5) Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M,

Froguel P, Kadowaki T. (2001) The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance as associated with both lipodystrophy and obesity. Nat Med. Aug;7(8):941-6.

6) Terada S, Yokozeki T, Kawanaka K, Oga wa K, Higuchi M, Ezaki O, Tabata I. (2001) Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. J Appl Physiol. Jun;90(6):2019-24.

7) Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O. (2001) Mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP 3) in skeletal muscle. Front Biosci. 2001 Mar 1;6:D570-D574.

2. 学会発表

1) Regulation of GLUT4 by exercise and denervation. Ezaki O, FASEB summer research conferences, 2001. 7. 04, Snowmass Colorado

2) Fish oil feeding up-regulates both mouse and rat hepatocytes UCP2 mRNA by PPAR α activation. Nakatani T, Tsuboyama-Kasaoka N, Oginuma T, Ezaki O, 17th International Congress of Nutrition, 2001. 8., Austria, August

3) Mice overexpressing human uncoupling protein 2 (UCP2) in adipose tissues prevents high fat diet-induced obesity and diabetes. Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M,

Nakagomi K、Nakatani T、Ezaki O, 17th International Congress of Nutrition, 2001. 8.30, Vienna, Austria

4)Gene expression profile of fish oil feeding in liver of C57BL/6j mice. Takahashi M、Tsuboyama-Kasaoka N、Nakatani T、Aburatani H、Ezaki O, 17th International Congress of Nutrition, 2001.8., Austria, August

5)運動の分子機構. 江崎治, 日本糖尿病学会第35回糖尿病学の進歩, 2001.2.24, 広島国際会議場 広島厚生年金会館

6)インスリン抵抗性と糖尿病 - 筋肉の面から、西尾善彦、江崎治、浅野知一郎、島野仁、田中逸、Waldhausl W, 第44回日本糖尿病学会年次学術集会, 2001.4.18, 国立京都国際会館

7)魚油の抗肥満作用: ジーンチップを用いた解析、江崎治、高橋真由美、仲谷照代、油谷浩幸、笠岡(坪山)宜代, 第6回アディポサイエンス研究会-21世紀のアディポサイエンス研究の幕開け, ゲノムから肥満臨床まで, 2001.8.18, 大阪府

8)運動による骨各筋におけるジーンチップを用いた遺伝子発現の解析、江崎治、池本真二、高橋真由美、角田伸代、丸山佳代、池田仁子、笠岡(坪山)宜代、古川由香、川野因、油谷浩幸, 第55回日本栄養・食糧学会大会, 2001.5.08, 国立京都国際会館

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

PPAR γ とその転写共役因子 CBP による脂肪蓄積と
インスリン感受性調節メカニズムに関する研究

分担研究者 門脇 孝 東京大学大学院医学系糖尿病・代謝内科 助教授

研究要旨

脂肪細胞のサイズの制御において PPAR γ と CBP が極めて重要な役割を果たしている。インスリン抵抗性と強く結びついている肥大した脂肪細胞では脂肪酸燃焼を促進するアディポネクチンのようなインスリン感受性ホルモンの分泌が減少し、インスリン抵抗性惹起分子の分泌が増加している。さらに脂肪組織が欠損した脂肪萎縮の状態ではインスリン感受性ホルモンが枯渇し、インスリン抵抗性が惹起される。すなわち PPAR γ 活性・脂肪組織量・脂肪細胞サイズとインスリン抵抗性の関係は U 字型を呈する。PPAR γ は俟約遺伝子であり、高脂肪食下では PPAR γ 活性の部分的抑制が抗肥満、抗糖尿病薬となりうる。

A. 研究目的

日本人の糖尿病患者は推定 700 万人でその数はなお増加の一途をたどっている。糖尿病の大部分を占める一般の 2 型糖尿病は、複数の原因遺伝子が組合わさり、更に生活習慣などの環境因子が重なって発症する多因子病である。糖尿病の増加の最大の原因は食生活の欧米化、特に高脂肪食と身体活動の減少など生活習慣に起因した肥満・インスリン抵抗性の増大と考えられる。我々は、高脂肪食による肥満・インスリン抵抗性発症の分子機構を解明して、その原因に対応した薬剤の開発を行うことによって生活習慣病の新規根本的治療法と予防法の確立を目指している。本研究では、(1) PPAR γ 、(2) その転写共役因子 CBP、及び(3)そ

れらのエフェクター分子アディポネクチンによるエネルギー・糖・脂質代謝調節メカニズムを明らかにすることを試みた。

B. 研究方法

(1) PPAR γ アゴニスト/アンタゴニスト投与マウス、PPAR γ ヘテロ欠損マウスの、普通食下、高脂肪食下で脂肪組織量・インスリン感受性、糖・脂質代謝と共に、脂肪細胞サイズ、アディポカイン量、組織内中性脂肪含量、脂肪酸代謝に関わる分子の発現量等を解析した。

(2) CBP ヘテロ欠損マウスの普通食下、高脂肪食下で脂肪組織量・インスリン感受性、糖・脂質代謝と共に、脂肪細胞サイズ、アディポカイン量、組織内中性脂肪含量、脂肪酸代謝に関わる分子の発現量等を解析した。

(3) 遺伝子組み換えによって作製したアディポネクチンを脂肪萎縮モデルマウス、及び2型糖尿病モデルマウスに投与し、普通食下、高脂肪食下でインスリン感受性、糖・脂質代謝と共に、組織内中性脂肪含量、脂肪酸代謝に関わる分子の発現量等を解析した。

C. 研究結果

(1) チアゾリジン誘導体による PPAR γ の著明な活性化は脂肪細胞分化を誘導して、白色脂肪組織での脂肪蓄積を強力に促進し肥満を助長するが、そのことによって骨格筋や肝臓における中性脂肪の蓄積を抑制し、インスリン抵抗性を改善させた。PPAR γ ヘテロ欠損、もしくは PPAR γ 阻害剤による PPAR γ の中等度の活性低下はレプチンとアディポネクチンの効果の増加をもたらし、脂肪合成の抑制とエネルギー消費の亢進を介して、白色脂肪組織、骨格筋、肝臓全ての臓器の中性脂肪含量を低下させ、肥満とインスリン抵抗性の両方を改善させた (J. Biol. Chem. 276:41245-41254, 2001)。一方、PPAR γ ヘテロ欠損マウスに PPAR γ 阻害剤を投与して PPAR γ 活性を著明に低下させると脂肪組織の消失を招き、インスリン感受性ホルモンが枯渇して骨格筋・肝臓の組織内中性脂肪量が増加し、インスリン抵抗性が惹起された (J. Clin. Invest. 108:1001-1013, 2001)。

(2) CBP ヘテロ欠損マウスは野生型マ

ウスの 2/3 程度の体重を示した。本マウスの体重当たりの組織重量は白色脂肪組織においてのみ著減していたが、これは細胞数の減少ではなく、細胞のサイズが小さいことに起因していた。本マウスでは普通食、高脂肪食下共に、より良好な耐糖能、インスリン感受性を示した。これらは、レプチン感受性が亢進し、インスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンの発現量、血中濃度が増加していたこと、及びインスリン抵抗性を惹起する遊離脂肪酸の血中濃度、TNF α の発現量が低下していたことによるものと考えられた。白色脂肪組織では脂肪酸流入に関わる分子の発現低下、肝臓・骨格筋・脂肪組織では脂肪合成酵素の発現低下及び脂肪酸酸化酵素や UCP2 の発現増加を認め、これらが骨格筋、肝臓での中性脂肪含量の低下をもたらし、良好な耐糖能、インスリン感受性に寄与していると考えられた (Nature Genetics 30:221-226, 2002)。

(3) アディポネクチンは脂肪萎縮性糖尿病では枯渇、2型糖尿病では減少しており、その補充は骨格筋で脂肪酸の燃焼を増加させ、組織内中性脂肪量を低下させ、インスリン抵抗性を改善させた (Nature Medicine 7:941-946, 2001)。

D. 考察

(1) PPAR γ の著明な活性化と PPAR γ の中等度の活性低下は体脂肪量に与える影響は正反対であるが、両者とも脂肪