

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、Pro12Ala 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。

(2) 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等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。

(3) 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重要と考えられた。

E. 結論

(1) 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 は儉約遺伝子であり、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。

(2) 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、主要な儉約遺伝子である事が示唆された。

(3) 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られた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1.Yamauchi T, Oike Y, Kamon J, Waki H, Komeda K, Tsuchida A, Date Y, Li MX, Miki H, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Saheki T, Nakazato M, Naitoh T, Yamamura K, Kadowaki T. Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in Crebbp heterozygous mice. *Nat Genet.* 30:221-6, 2002
- 2.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
- 3.Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki H, 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
- 4.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
- 5.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 Clin Pract.* 55:65-85, 2002

- 6.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. : Inhibition of RXR and PPARgamma ameliorates diet-induced obesity and type 2 diabetes. *J Clin Invest.* 108:1001-13, 2001
- 7.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
- 8.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
- 9.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 different interaction with the insulin receptor from that of IRS-1. *Diabetologia* 44: 992-1004, 2001
- 10.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. : The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med.* 7:941-6, 2001

11. 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

12. 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

13. 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-gamma 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

14. 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

15. 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

●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

●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-

●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-

●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

●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

●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

●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

●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

●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

●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

●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-

● 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 lipoatrophic diabetes and type 2 diabetes

● 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, Ryoza 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

● July 24, 2001 The 8th International Workshop on Lessons from Animal Diabetes, at Tokyo Toshimasa Yamauchi, Yuichi Oike, Junji Kamon, Hironori Waki, Kajuro Komeda, Atsuko Tsuchida, Kenichi Yamamura and Takashi Kadowaki : Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in heterozygous CBP deficient mice

● 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

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

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

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各種身体運動トレーニングにより骨格筋のPGC-1 mRNA濃度が増加する明らかとした。この結果は身体運動による糖代謝能向上の機序解明の一助になると考えられる。

A. 研究目的

本研究は各種の強度の身体トレーニングがラット骨格筋 (epitrochlearis) の転写補助因子 (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1: PGC-1) 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

【実験1】SD系雄ラット（体重110～120g）を水泳(S)群、イメージョン(I)群、およびコントロール(c)群に分けた。S群のラットには、無負荷で3時間の水泳運動(水温35℃)を、45分間の休憩を挟みながら2セット行わせた。I群は、S群と同じ時間、水温35℃で剣状突起部位まで浸水させた状態に保った。各試行終了直後にラット前肢骨格筋epitrochlearis(Epi)を摘出し、PGC-1 mRNA量をReal-time quantitative RT-PCR法にて測定した。

【実験2】実験1で観察されたPGC-1 mRNA発現量の増加が、体液性因子によるものなのか、筋の収縮活動そのものによるのかを検討したするためにSD系雄ラット（体重110-120g）からEpiを摘出し、体液性因子の影響を受けないin vitroの実験系において、1分間に1回、10秒間の電気刺激による強縮を25～30セット行わせた。強縮後、一部の筋はoxygenated culture mediumで6時間インキュベーションを行った後にPGC-1 mRNA量の測定を行った。

C. 研究結果

【実験1】I群とC群の間に有意な差は認められなかったが、CおよびI群と比較して、S群の骨格筋PGC-1 mRNA量は約7倍増加した($p < 0.001$)。【実験2】強縮直後のEpiでは、PGC-1 mRNA発現量の増加は認められなかったが、強縮後、6時間インキュベーションしたEpiでは有意な増加が認められた($p < 0.05$)。

D. 考察

運動/筋収縮により、骨格筋PGC-1 mRNA の発現量が増加することが明らか

となった。また、その発現量の増加には数時間（～6時間）要する可能性が示唆された。PGC-1は生体の糖代謝能の律速する骨格筋のGLUT4の発現量に影響を与えることが示唆されており、本研究の結果は身体運動トレーニングによる糖代謝能向上の機序にPGC-1の発現増加を介している可能性を示唆するものであると考えられる

E. 結論

身体運動トレーニングにより骨格筋のPGC-1 mRNAが増加する。

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 90:2019-2024, 2001.

2. 学会発表

Tabata, I, S. Tedara, M. Goto, M. Kato, T. Shimokawa. Increased expression of PGC-1 mRNA in rat skeletal muscle exposed to AICAR in vitro. 49th Annual Meeting of the American College of Sports Medicine, Baltimore, MD, USA, 30 May-2 June, 2001.

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

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
山内敏正、 原 一雄、 三木啓司、 門脇 孝	脂肪細胞特異的 遺伝子の解析とそ の意義-PPAR γ に よる脂肪蓄積・イン スリン感受性調節 メカニズム解明を 一例に			日本臨床社	東京	2001	59:489-49 7
山内敏正、 門脇 孝	FFA とインスリン抵 抗性		分子糖尿病 学の進歩	金原出版	東京	2001	
山内敏正、 門脇 孝	PPAR γ アンタゴニ スト		Molecular Medicine	中山書店	東京	2001	
山内敏正、 門脇 孝	マルチプルリスクフ アクター症候群治 療におけるインスリ ン抵抗性改善薬の 意義		Diabetes Frontier			2001	3: 369-377
山内敏正、 門脇 孝	PPAR γ /RXR 活 性と糖代謝		Molecular Medicine 臨時増刊号 生活習慣病 -分子メカ ニズム			2001	175-183
山内敏正、 門脇 孝	PPAR γ とインスリ ン抵抗性		医学のあゆ み			2001	198:747-7 54
山内敏正、 門脇 孝	PPAR γ のインスリ ン感受性調節メカ ニズム		内分泌・ 糖尿病科			2001	13:135-14 3
山内敏正、 門脇 孝	アディポネクチン による2型糖尿病 のインスリン抵抗 性の改善		実験医学			2001	19:2301-2 305
山内敏正、 門脇 孝	糖尿病と核内レセ プター		分子細胞 治療			2001	2: 618-627
山内敏正、 門脇 孝	PPAR γ /RXR 阻 害剤によるインスリ ン抵抗性改善メカ ニズム		日本臨床	日本臨床社		2001	59:2245-2 254

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
Nakatani T, Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Miura S, Ezaki O.	Mechanism for PPAR α activators-induced up-regulation of UCP2 mRNA in rodent hepatocytes.	J Biol Chem	277	9562-9569	2002
Takahashi M, Tsuboyama-Kasaoka N, Nakatani T, Ishii M, Tsutsumi S, Aburatani H, and Ezaki O.	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	2002
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	Inhibition of RXR and PPAR γ ameliorates diet-induced obesity and type 2 diabetes	J Clin Invest	Oct;108(7)	1001-1013	2001
Terada S, Takizawa M, Yamamoto S, Ezaki O , Itakura H, Akagawa KS.	Suppressive mechanisms of EPA on human T cell proliferation.	Microbiol Immunol.	45(6)	473-481	2001
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 .	The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance as associated with both lipodystrophy and obesity.	Nat Med.	Aug;(8)	941-946	2001
Terada S, Yokozeki T, Kawanaka K, Ogawa K, Higuchi M, Ezaki O , Tabata I.	Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle.	J Appl Physiol.	Jun;90(6)	2019-2024.	2001
Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O.	Mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP3) in skeletal muscle.	Front Biosci	Mar 1;6	D570-D574	2001

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamauchi, T., Oike, Y., Kamon, J., Waki, H., Komeda, K., Tsuchida, A., Motojima, K., Miki, H., Akanuma, Y., Nagai, R., Kimura, S., Yamamura, K., and Kadowaki, T.	Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in heterozygous CBP deficient mice.	Nature Genetics	30	221-226	2002
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., and Kadowaki, T.	The mechanisms by which both heterozygous PPAR α deficiency and PPAR α agonist improve insulin resistance.	J.Biol.Chem.	276	41245-41254	2001