

員会の承認を得、動物使用の倫理規定に従って実験を行った。

### C. 研究結果

(実験1) 昨年度報告したように、老化による筋萎縮は速筋である腓腹筋で観察されたが、座骨神経切除では両骨格筋タイプで顕著な萎縮が誘導された。遺伝子発現の解析から、老齢ラット腓腹筋において UCP3、HFABP、GLUT4 の mRNA レベルの低下が明らかとなったが、ヒラメ筋では変化はみられなかった。一方、座骨神経切除により両骨格筋の UCP3 mRNA レベルは顕著に増加した。UCP3 蛋白質レベルはヒラメ筋では変化がみられなかったが、腓腹筋では mRNA レベルとは逆に大きく低下していた。これらの結果から、UCP3 レベルは翻訳以降の調節を受けていること、加齢や神経切除による速筋の萎縮と UCP3 レベルの低下が熱産生機能の低下に大きく影響する可能性が示唆された。

(実験2) 寒冷応答と UCP3 発現についても、老若ラット間や骨格筋タイプ間での違いが明らかになってきた。特に、寒冷曝露後のミトコンドリア含量の増加は若齢ラットの腓腹筋のみで観察され、UCP3 mRNA の強い誘導がみられた。UCP3 蛋白質については、遺伝子レベルでは long form と short form の2種類が存在することが予想されていたが、実際には in vivo のレベルでは検出されていなかった。我々は short form の組換え蛋白質を作製し、short form を特異的に検出する抗体をスクリーニングして、骨格筋中の short form の検出に世界で初めて成功した。寒冷曝露によりヒラメ筋での UCP3 蛋白質レベルの低下が明らかとなったが、それは特に long form で顕著であり、二つの form の安定性などに違いがある可能性が示唆された。一方これに対して、腓腹筋では UCP3mRNA と異なり蛋白質レベルの上昇はみられなかったが、そのレ

ベルはよく保たれており、ミトコンドリア含量の増加を加味すると、総 UCP3 量が上昇しているものと考えられた(投稿中)。これらの結果は、寒冷環境下における速筋の重要性を示唆するものと思われた。

### D. 考察

筋萎縮と寒冷曝露という二つのモデル系を用いて、UCP3 を中心とする遺伝子発現制御に対する老化の影響について種々の知見が明らかとなった。特に、速筋と遅筋における発現制御が転写レベルだけではなく、翻訳レベルでも異なること、それが二つのアイソフォーム間でも異なることが明らかとなった。また、遅筋に比べて速筋が加齢や種々のストレスなどの影響を受け易いことが判明した。運動などによる速筋の機能の維持と強化が、老化による耐寒性の低下の予防に効果があることが考えられる。高齢者にとって、どのようなタイプの運動がより効果的に骨格筋 UCP3 を誘導し、熱産生やエネルギー消費を高めることができるかなどに今後興味を持たれる。

### E. 結論

加齢やストレスに対する反応性が筋タイプで異なる。特に、速筋の UCP3 機能の維持がふるえ熱産生において重要と考えられる。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Sato Y: Effects of physical exercise on the decreased insulin action caused by aging. *Muscle Metabolism* (Zierath JR and Wallberg-Henriksson H eds.). Taylor & Francis, London, 2002, pp. 365-371.
- 2) Yamamoto T, Maruyama W, Kato Y, Yi H, Shamoto-Nagai M, Tanaka M, Sato Y, Naoi M: Selective nitration of mitochondrial complex I by peroxynitrite: involvement in mitochondria

- dysfunction and cell death of dopaminergic SH-SY5Y cells. *J. Neural Transmission*. 2002, 109:1-13.
- 3) Kajioaka T, Tsuzuku S, Shimokata H, Sato Y: Effects of intentional weight cycling on non-obese young women. *Metabolism*. 2002, 51(2):149-154.
- 4) Fuku N, Oshida Y, Takeyasu T, Guo LJ, Kurata M, Yamada Y, Sato Y, Tanaka M: Mitochondrial ATPase subunit 6 and cytochrome b gene polymorphisms in young obese adults. *BBRC*. 2002, 290:1199-1205.
- 5) Nomura T, Kawano F, Ishihara A, Sato Y, Mitarai G, Iwane S, Kamiya A, Mano T, Ohira Y: Enhanced Hoffman-reflex in human soleus muscle during exposure to microgravity environment. *Neuroscience Letters*. 2002, 316:55-57.
- 6) Nomura T, Kawano F, Kang MS, Lee JH, Han EY, Kim CK, Sato Y, Ohira Y: Effects of long-term cold exposure on contractile properties in slow-and fast-twitch muscles of rats. *Jap. J. Physiol.* 2002, 52:85-93.
- 7) Fushimi T, Tayama K, Fukaya M, Kitakoshi K, Nakai N, Tsukamoto Y, Sato Y: The efficacy of acetic acid for glycogen repletion in rat skeletal muscle after exercise. *Int. J. Sports Med.* 2002, 23:218-222.
- 8) Hayashi K, Sato J, Fujiwara N, Kajita M, Fukuharu M, Hu X, Kuriki K, Hoshino H, Kato R, Tokudome S, Sato Y: Associations between physical strength, cerebral function and mental health in independent-living elderly Japanese women. *Environmental Health and Preventive Medicine*. 2002, 7(3):123-128.
- 9) Kajita M, Takahashi T, Hayashi K, Fukuharu M, Sato J, Sato Y: Self-esteem and mental health characteristics especially among lean students surveyed by University Personality Inventory. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 2002, 56:123-129.
- 10) Kontani Y, Wang Z, Furuyama T, Sato Y, Mori N, Yamashita H: Effects of aging and denervation on the expression of uncoupling proteins in slow-and fast- twitch muscles of rats. *J. Biochem.* 2002, 132:309-315.
- 11) Watanabe T, Omori M, Fukuda H, Tanaka H, Miyao M, Ohsawa I, Oshida Y, Sato Y, Hasegawa T: Influence of death from circulatory disease on life expectancy at birth in Japan. *J. Epidemiol.* 2002, 12(6):450-456.
- 12) Nakai N, Miyazaki Y, Sato Y, Oshida Y, Nagasaki M, Tanaka M, Nakashima K, Shimomura Y: Exercise training increases the activity of pyruvate dehydrogenase complex in skeletal muscle of diabetic rats. *Endocrine J.* 2002, 49(5):547-554.
- 13) Yamanouchi K, Abe R, Takeda A, Atsumi Y, Shichiri M, Sato Y: The effect of walking before and after breakfast on blood glucose levels in patients with type 1 diabetes treated with intensive insulin therapy. *Diab. Res. Clin. Prac.* 2002, 58:11-18.
- 14) Tanaka M, Fuku N, Takeyasu T, Guo LJ, Hirose R, Kurata M, Borgeld HJW, Yamada Y, Maruyama W, Arai Y, Hirose N, Oshida Y, Sato Y, Hattori N, Mizuno Y, Iwata S, Yagi K: Golden mean to longevity: rareness of mitochondrial cytochrome b variants in centenarians but not in patients with Parkinson's disease. *J. Neuroscience Res.* 2002, 70:347-355.
- 15) Yamamoto T, Ohkuwa T, Itoh H, Sato Y, Naoi M: Effect of gender differences and voluntary exercise on antioxidant capacity in rats. *Comp. Biochem. Physiol. Part C.* 2002, 132:437-444.
- 16) Nishida Y, Tokuyama K, Nagasaka S, Higaki Y, Fujimi K, Kiyonaga A, Shindo M, Kusaka I, Nakamura T, Ishikawa SE, Saito T, Nakamura O, Sato Y, Tanaka H: S(G), S(I), and EGP of exercise-trained middle-aged men estimated by a two-compartment labeled minimal model. *Am. J.*

Physiol. Endocrinol. Metab. 2002, 283(4):E809-E816.

17) Toda K, Oshida Y, Tokudome M, Manzai T, Sato Y: Effects of moderate exercise on metabolic responses and respiratory exchange ratio (RER). Nagoya J. Medical Sci. 2002, 65:109-113.

18) 佐藤祐造 (編集): 高齢者運動処方ガイドライン、南江堂、東京、2002, pp.1-113.

19) 佐藤祐造 (監訳): 糖尿病と運動—糖尿病患者のスポーツ活動ガイドライン、大修館書店、東京、2002, pp.1-290.

## 2. 学会発表

1) 宇野 智子、徳留 みずほ、押田 芳治、佐藤 祐造: 糖尿病患者のインスリン作用に及ぼす漢方薬(牛車腎気丸)の影響. 第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2002.5

2) 酒井 和子、大澤 功、後藤 慎一、押田 芳治、佐藤 祐造: グルコシダーゼ阻害薬の臨床的有用性に関する研究—meta analysis による副反応の評価. 第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2002.5

3) 韓 艶清、押田 芳治、越中 敬一、大澤 功、J. Wahren、佐藤 祐造: C-peptide のインスリン作用に及ぼす影響(第 9 報)—C-peptide の生活活性部位について—. 第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会. 東京、2002.5

4) 越中 敬一、押田 芳治、長崎 大、韓 艶清、大澤 功、佐藤 祐造: 高脂肪食誘発インスリン抵抗性モデルにおける AMPK 系障害の有無. 第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2002.5

5) 福 典之、押田 芳治、武安 岳史、郭 麗君、広瀬 信義、新井 康通、佐藤 祐造、田中 雅嗣: 青年肥満者におけるミトコンドリア cytochrome b 遺伝子の SNPs の解析. 第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2002.5

6) 長崎 大、下村 吉治、中井 直也、徐 明、

佐藤 祐造: 運動による骨格筋糖輸送能および GLUT-4 蛋白質量に及ぼす運動トレーニング経験の影響. 第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2002.5

7) 郭 麗君、押田 芳治、福 典之、武安 岳史、山之内 国男、広瀬 信義、新井 康通、佐藤 祐造、田中 雅嗣: 糖尿病患者におけるミトコンドリア cytochrome b 遺伝子の SNPs の解析—百寿者との比較—. 第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2002.5

8) 押田 芳治、長崎 大、佐藤 祐造: ワークショップ「運動療法の生理生化学」身体トレーニングとインスリン抵抗性: 分子生物学的検討. 第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2002.5

9) 徳留 みずほ、長崎 大、島岡 清、佐藤 祐造: 高齢者におけるレジスタンス運動の糖脂質代謝に及ぼす影響. 第 44 回日本老年医学会学術集会、東京、2002.6

10) 佐藤 祐造: 教育講演 健康日本 21 世紀と運動指標—急増する高齢者をどのようにしたら良いか—. 第 56 回日本栄養・食糧学会大会、札幌、2002.7

11) 佐藤 祐造: シンポジウム V 「高齢者の健康づくりと運動」高齢者糖尿病の運動療法. 第 10 回日本運動生理学会大会、つくば、2002.7

12) G. Baggiotto, Y. Shimomura, T. Murakami and Y. Sato: low activity of muscle pyruvate dehydrogenase (PDH) complex is related with the development of diabetes in the obese-type II diabetes model Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rat. 9th International Congress on Obesity. Sao Paulo, Brazil, 2002.8

13) Y. Sato, T. Kondo, T. Kawamura and A. Ando: Frequency of obesity and its relation to hypertension in University students in Japan. 9th International Congress on Obesity, Sao Paulo, Brazil, 2002.8

14)G.Bajotto, 下村 吉治, 長崎 大, 村上 太郎, 佐藤 祐造 : Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty(OLETF)ラット骨格筋のピルビン酸脱水素酵素複合体 (pyruvate dehydrogenase complex: PDC)活性がインスリン抵抗性に及ぼす影響. 第 57 回日本体力医学会大会, 高知, 2002.9

15)越中 敬一, 押田 芳治, 長崎 大, 韓 艶清, 佐藤 祐造 : インスリンと AICAR 刺激による骨格筋グルコース取り込みに関する研究-高脂肪食誘発インスリン抵抗性モデルでの検討-. 第 57 回日本体力医学会大会, 高知, 2002.9

16)山下 均, 王 作成, 紺谷 靖英, 汪 幼学, 古山 達雄, 佐藤 祐造, 森 望 : 温度受容機能の低下による体熱制御の変化とミトコンドリア脱共役蛋白質の役割. 第 75 回日本生化学会, 京都, 2002.10

17) H.Yamashita, Y.Kontani, Z.Wang, Y.Wang, Y.Sato and N.Mori : Loss of UCP1 function increases susceptibility to obesity with aging. 2002 Cold Spring Harbor Meeting "Molecular Genetics of Aging", Cold Spring Harbor, U.S.A, 2002.10

18)佐藤 祐造 : 会長講演「糖尿病運動療法の今日的課題」. 第 13 回日本臨床スポーツ医学会学術集会, 名古屋, 2002.11

#### G. 知的所有権の取得状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Kontani, Y., Wang, Z., Furuyama, T., Sato, Y., Mori, N., and Yamashita, H.	Effects of aging and denervation on the expression of uncoupling proteins in slow- and fast-twitch muscles of rats.	J. Biochem.,	132	309-315	2002
Furuyama T., Yamashita, H., Kitayama, K., Higami, Y., Shimokawa, I., and Mori, N.	Effects of aging and caloric restriction on the gene expression of Foxo1, 3 and 4 (FKHR, FKHL1 and AFX) in the rat skeletal muscles.	Micro. Res. Tech.	59	331-334	2002
山下 均, 紺谷靖英, 王作成, 汪幼学, 森 望, 佐藤祐造	加齢にともなう肥満の進展とUCP1 の役割.肥満研究	肥満研究	8	131-135	2002
Ueno, Y., Horio, F., Uchida, K., Naito, M., Nomura, H., Kato, Y., Tsuda, T., Toyokuni, S. and Osawa, T	Increase in oxidative stress in kidneys of diabetic Akita mice	Biosci. Biotechnol. Biochem.	66	869-872	2002
Tsuda, T., Horio, F., Kato, Y. and Osawa, T.	Cyanidin 3-O-β-D-glucoside attenuates the hepatic Ischemia-reperfusion injury through a decrease in the neutrophil chemoattractant production in rats.	J. Nutr. Sci. Vitaminol.	48	134-141	2002
Yu, W., Niwa, T., Miura, Y., Horio, F., Teradaira, S., Ribar, T.J., Means, A.R., Hasegawa, Y., Senda, T. and Niki, I.	Calmodulin overexpression causes Ca <sup>2+</sup> -dependent apoptosis of pancreatic β cells, which can be prevented by inhibition of nitric oxide synthase.	Lab. Invest.	82	1229-1239	2002
Tsuda, T., Horio, F. and Osawa, T	Cyanidin 3-O-β-D-glucoside suppresses nitric oxide production during a zymosan treatment in rats.	J. Nutr. Sci. Vitaminol.	48	305-310	2002

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Anunciado, R.V.P., Nishimura, M., Mori, M., Ishikawa, A., Tanaka, S., <u>Horio, F.</u> , Ohno, T. and Namikawa, T.	Quantitative trait locus analysis of serum insulin, triglyceride, total cholesterol and phospholipid levels in the (SM/JxA/J)F2 mice.	Exp. Anim.	52	37-42	2002
Kobayashi, M., Ohno, T., Tsuji, A., Nishimura, M. and <u>Horio, F.</u>	Combinations of non-diabetic parental genomes elicit impaired glucose tolerance in mouse SMXA RI strains.	Diabetes	52	180-186	2003
Kawai, K., Ito, H., Kubota, H., Takemori, K., Makino, S. and <u>Horio, F.</u>	Changes in catecholamine metabolism by ascorbic acid deficiency in spontaneously hypertensive rats unable to synthesize ascorbic acid.	Life Sci.	72	1717- 1732	2003
<u>Sato Y</u>	Effects of physical exercise on the decreased insulin action caused by aging.	Muscle Metabolism (Zierath JR and Wallberg- Henriksson H eds.).		365-371	2002
Kajioka T, Tsuzuku S, Shimokata H, <u>Sato Y</u>	Effects of intentional weight cycling on non-obese young women.	Metabolism	51	149-154	2002
Fuku N, Oshida Y, Takeyasu T, Guo LJ, Kurata M, Yamada Y, <u>Sato Y</u> , Tanaka M	Mitochondrial ATPase subunit 6 and cytochrome b gene polymorphisms in young obese adults.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	290	1199- 1205	2002
Nomura T, Kawano F, Kang MS, Lee JH, Han EY, Kim CK, <u>Sato Y</u> , Ohira Y	Effects of long-term cold exposure on contractile properties in slow-and fast-twitch muscles of rats. 2002,	Jap. J. Physiol.	52	85-93	2002
Fushimi T, Tayama K, Fukaya M, Kitakoshi K, Nakai N, Tsukamoto Y, <u>Sato Y</u>	The efficacy of acetic acid for glycogen repletion in rat skeletal muscle after exercise.	Int. J. Sports Med.	23	218-222	2002

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakai N, Miyazaki Y, <u>Sato Y</u> , Oshida Y, Nagasaki M, Tanaka M, Nakashima K, Shimomura Y	Exercise training increases the activity of pyruvate dehydrogenase complex in skeletal muscle of diabetic rats.	Endocrine J.	49	547-554	2002
Nishida Y, Tokuyama K, Nagasaka S, Higaki Y, Fujimi K, Kiyonaga A, Shindo M, Kusaka I, Nakamura T, Ishikawa SE, Saito T, Nakamura O, <u>Sato Y</u> , Tanaka H	S(G), S(I), and EGP of exercise- trained middle-aged men estimated by a two-compartment labeled minimal model.	Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.	283	E809-E816.	2002
Toda K, Oshida Y, Tokudome M, Manzai T, <u>Sato Y</u>	Effects of moderate exercise on metabolic responses and respiratory exchange ratio (RER).	Nagoya J. Medical Sci.	65	109-113	2002

20020254

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.23- P.25の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。