

平成30年6月13日現在

機関番号：34310

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07329

研究課題名(和文) 脂肪組織の発生遺伝子に着目した運動による脂肪組織リモデリング機構の解明

研究課題名(英文) The analysis for mechanism of exercise-induced adipose tissue remodeling on developmental genes

研究代表者

加藤 久詞 (Kato, Hisashi)

同志社大学・研究開発推進機構・助手

研究者番号：30780275

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：運動が健康な脂肪細胞への分化・形質転換を可能にすることを実証し、発生生物学的エビデンスを基盤とした新しい運動療法を提案するための知見を得ることを目的とした。高脂肪食摂取や運動トレーニングによる脂肪組織重量の増減に伴い、脂肪組織における発生遺伝子のmRNA発現量は有意に変化した。中でも皮下および褐色脂肪組織のホメオボックスC10(HoxC10)が顕著に変化したため、機能解析を試みた。脂肪由来間葉系幹細胞にHoxc10 siRNAを導入し分化誘導すると、運動トレーニング効果と類似した機能をもつ脂肪細胞へと分化した。肥満や運動による脂肪組織のリモデリングにはHoxC10が関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recent studies indicate that developmental genes are differentially expressed in subcutaneous adipose tissue (scWAT) and visceral adipose tissue (vWAT), and that some of these genes exhibit changes in expressions which closely correlate with the extent obesity and the pattern of fat distribution. The purpose of the current study was to investigate the effect of exercise training (TR) and high-fat diet (HFD) on developmental genes in three depots: inguinal, epididymal, and brown fat from rats. The fat depot-specific differences in mRNA levels of developmental genes were observed in three fat depots. TR and HFD induced the changes in the expression levels of some of these genes, i.e., HoxA5, HoxC9, and HoxC10. Moreover, the depression of HoxC10 in inguinal and brown adipocytes increases the expressions of brown fat genes, Ucp1 and Pgc1. These data suggest that HoxC10 modulates adaptation of exercise training on adipose tissues.

研究分野：運動生化学

キーワード：運動トレーニング 皮下脂肪組織 内臓脂肪組織 褐色脂肪組織 発生遺伝子 ホメオボックス

1. 研究開始当初の背景

肥満に伴う代謝・内分泌異常の発生頻度や重症度は体脂肪蓄積量(肥満度)よりもむしろ蓄積部位(体脂肪分布)と密接に関係しており、各部位における脂肪組織の生物学的特徴の違いに注目が集まっている。近年、皮下脂肪組織(scWAT)と内臓脂肪組織(vWAT)に発現する発生遺伝子「ホメオボックス遺伝子(Hox)やT-box 遺伝子(Tbx)」の発現パターンの違いが両組織間の生理機能の差を生み出し、体脂肪分布を決定することが明らかになってきた(PNAS 103: 6676, 2006; Cell Metab. 17: 644, 2013)。実際、ヒトのscWATとvWATにおけるHoxA5やTbx15のmRNA発現量はBMI、ウエストヒップ比と強い相関を示し、体脂肪分布決定に関与する(PNAS 103: 6676, 2006)。さらにヒトのscWATにおけるHoxC9およびHoxC10のmRNA発現量は肥満に伴う脂肪細胞の肥大化やインスリン分泌異常と負の相関を示し、肥満症における脂肪細胞の生理機能の変化と関与することが示唆されている(Obesity 24: 51, 2016)。このような新規知見を考えると、肥満症治療法も新たな戦略を構築すべきであると考えられる。また運動はカロリー制限と同様に肥満症の予防・改善に有効な手段のひとつであるが、「生体の恒常性を逸脱しない代謝亢進作用を有し、かつ副作用のない良薬」という唯一無二の特徴をもつ。したがって、運動によって「健康な脂肪細胞への分化・形質転換」を実現することができれば、肥満症治療は飛躍的に進歩する。実際に、9週間の持続的運動トレーニング(TR)は、脂肪由来間葉系幹細胞(ADSC)を含む脂肪間質細胞(SVF)の成熟脂肪細胞への分化を抑制すること(Acta Physiol 200: 325, 2010)、またTRがscWATのベージュ脂肪細胞への形質転換を促す可能性があること(Diabetes. 64: 2002, 2015)が報告されている。しかし、運動が脂肪組織の発生遺伝子に及ぼす影響は不明である。

2. 研究の目的

以上の学術的背景を踏まえ、「脂肪組織の生物学的特徴は発生遺伝子による発現調節を受け、運動による健康な脂肪細胞への分化・形質転換に関与する」という仮説を立て、以下の課題を解明することを本研究の目的とした。

課題：運動トレーニングおよび高脂肪食摂取が皮下・内臓・褐色脂肪組織の発生遺伝子に及ぼす影響

課題：肥満ラットを対象とした運動トレーニングによる体脂肪量減少および脂肪組織リモデリングが発生遺伝子の調節を受けるか否かの検証

3. 研究の方法

(1) 運動トレーニングおよび高脂肪食摂取が皮下・内臓・褐色脂肪組織の発生遺伝子に

及ぼす影響

被験動物は5週齢のWistar系雄性ラットとし、通常食+非運動群(ND-SED)、高脂肪食+非運動群(HFD-SED)、高脂肪食+非運動群(HFD-EX)、高脂肪食+運動群(HFD-EX)の4群に群分けし、9週間の介入を実施した。運動トレーニングはトレッドミルを用いた走運動とし、5日/週の頻度で実施した(走行速度:~30m/min, 走行時間:~90min, 傾斜:5°)。高脂肪飼料は脂肪含有量60%の超高脂肪食飼料(リサーチダイエット, D12492)を用いた。最終トレーニング終了後から36時間後に、鼠蹊部(皮下脂肪)、精巣周囲(内臓脂肪)、肩甲骨間(褐色脂肪)の3部位から脂肪組織を摘出した。さらに鼠蹊部(Ing)・精巣周囲(Epi)脂肪組織は、コラゲナーゼ処理にて成熟脂肪細胞と間質血管細胞群(SVF)に分画し、SVFは継代培養にて脂肪由来間葉系幹細胞(ADSC)を採取した。サンプルはホメオボックス遺伝子(Hox)やT-box 遺伝子(Tbx)、グリピカン遺伝子(Gpc)など発生遺伝子群のmRNA発現量、さらにlipolysis, adipogenesis, mitochondrial biogenesisに関連する因子のmRNAおよびタンパク質の発現量をreal-time PCR法とウェスタンブロット法を用いて測定した。

(2) 肥満ラットを対象とした運動トレーニングによる体脂肪量減少および脂肪組織リモデリングが発生遺伝子の調節を受けるか否かの検証

本研究は実際の肥満症を想定しているため遺伝的肥満モデル動物ではなく、高脂肪食誘発性の肥満ラットを用いた。被験動物は5週齢のWistar雄性ラットとし、脂肪含有量60%の超高脂肪食飼料(リサーチダイエット, D12492)を10週間摂取させて肥満ラットを作成した(J Med Food 19: 404, 2016)。運動トレーニング(TR)は回転ゲージを用いた自発的走運動モデルとトレッドミルを用いた強制走運動モデルの2種類を採用した。げっ歯類の脂肪細胞は、1日に約0.6%入れ替わると報告(PLoS ONE 6: e17637, 2011)があり、本研究では発生遺伝子に着目するため、細胞の入れ替わりを考慮した長期間のTRの影響を検証するのが望ましく、TR期間は理論的に全ての脂肪細胞が入れ替わる6ヶ月に設定した。TR介入後のサンプル処理および測定項目は研究の方法(1)と同様。

4. 研究成果

発生遺伝子群のmRNA発現パターンは、HoxC8はEpiで最も発現量が高く、またHoxC10はIngで最も発現量が高いなど脂肪組織部位特異性を示し、この傾向は成熟脂肪細胞だけでなく、ADSCでも確認された。これは脂肪組織の部位特異性は分化の過程で獲得するのではなく、未分化の幹細胞の段階で既にプログラムされている可能性が高いことを示唆した。さらにTRによる体脂肪量

減少や高脂肪食摂取による肥満といった脂肪組織重量の変化に伴い、いくつかの発生遺伝子は有意な変化が認められた。中でも Ing および BAT の HoxC10 が TR によって顕著な変化を示し、その変化パターンがミトコンドリア合成の主要制御因子である Pgc-1 α と正反対の関係であった (図 1)。

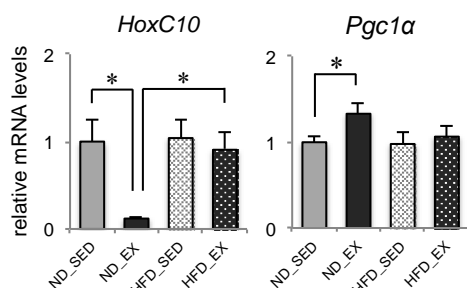


図1. 運動トレーニングおよび高脂肪食摂取が褐色脂肪組織のHoxC10, Pgc1 α mRNAに及ぼす影響

そこで HoxC10 の機能解析を試みた。Ing および BAT の ADSC に HoxC10 の siRNA を導入し、脂肪細胞へ分化誘導すると、TR 効果と類似した機能をもつ脂肪細胞へと分化した (図 2)。以上のことから、運動や肥満による脂肪組織リモデリングには少なくとも HoxC10 が関与する可能性が示唆された。

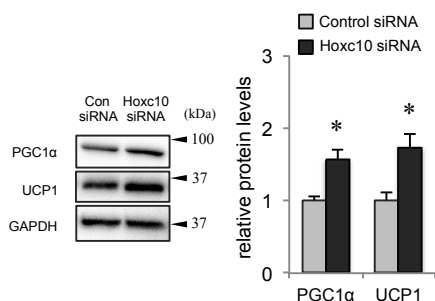


図2. BATから単離したADSCにHoxC10 siRNAを導入すると運動トレーニング効果と類似した脂肪細胞へと分化する

本研究は、数多ある発生遺伝子群の中の一部に焦点を当てた結果ではあるが、運動による脂肪組織リモデリングに発生遺伝子が関与する可能性を示唆した。今後は運動による発生遺伝子を介した脂肪組織リモデリングの分子メカニズム解明などのさらなる遂行が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Kato H*, Masuda S*, Ohira T, Ohira L, Takakura H, Ohira Y, and Izawa T. Different responses of the mRNA and protein expression of several molecules for fat metabolism to 4- and 8-week feeding of β -guanidinopropionic acid young juvenile mice. *Physiological Reports*. 2018; 6(2) e13616. * equally contributed authors. (査読有)

Kato H*, Ueno D*, Kawano F, Goto K, Ohno H, Izawa T, and Ohira Y. Detrimental

responses of the properties in rat soleus muscle to passive continuous stretch. *Japanese journal of aerospace and environmental medicine*. 2018. in press. * equally contributed authors. (査読有)

[学会発表](計9件)

Kato H, Ueno D, Ozaki Y, Kawano F, Goto K, Izawa T, and Ohira Y. Estimation of the adaptation in the properties of rat soleus muscle to long-term stay on the Mars and the Moon. 33rd Annual Meeting American Society for Gravitational and Space Research. Seattle, USA. October 25-28, 2017.

加藤久詞, 有尾拓土, 高倉久志, 大平充宣, 井澤鉄也. 褐色脂肪組織の発生遺伝子に及ぼす運動トレーニングおよび高脂肪食摂取の影響. 第72回日本体力医学会. 松山大学(愛媛県). 2017年9月16-18日.

井澤鉄也, 加藤久詞, 高倉久志, 大平充宣. 白色脂肪細胞組織の成長に伴うホメオボックス遺伝子群の変化と運動トレーニングの影響. 第72回日本体力医学会. 松山大学(愛媛県)2017年9月16-18日.

小笠原準悦, 加藤久詞, 白土健, 井澤鉄也, 吉岡英治, 西條泰明, 木崎節子, 吉田貴彦. 強制的な持久的運動トレーニングにより肩甲部褐色脂肪組織量は減少する. 第72回日本体力医学会. 松山大学(愛媛県). 2017年9月16-18日.

高倉久志, 上野大心, 加藤久詞, 稗田睦子, 井澤鉄也. 時計遺伝子の発現リズムに基づく1日2回トレーニングがミトコンドリア合成に及ぼす影響. 第72回日本体力医学会. 松山大学(愛媛県). 2017年9月16-18日.

Kato H, Takakura H, Hieda M, Ohira Y and Izawa T. Exercise training alters expression of developmental genes and adipogenic potential in adipocytes and adipose-derived stem cells isolated from subcutaneous and visceral fat depots. APS Intersociety Meeting: The Integrative Biology of Exercise VII. Phoenix, USA. November 2-4, 2016.

Takakura H, Kato H, Masuda S, Ueno D, Hieda M and Izawa T. Response and adaptation of skeletal muscle to endurance training based on circadian rhythms of clock gene expression. APS Intersociety Meeting: The Integrative Biology of

Exercise VII. Phoenix, USA. November
2-4, 2016.

加藤久詞, Minas Nalbandian, 高倉久志,
稗田陸子, 大平充宣, 井澤鉄也. 皮下脂
肪組織・内臓脂肪組織の発生遺伝子に及
ぼす運動トレーニングの影響. 第 71 回
日本体力医学会. 岩手県民情報交流セン
ター/盛岡地域交流センター市民文化ホ
ール(岩手県). 2016年9月23-25日.

高倉久志, 上野大心, 加藤久詞, 増田慎
也, 稗田陸子, 井澤鉄也. 時計遺伝子発
現リズムに基づいた一過性運動が骨格
筋の応答に及ぼす影響について. 第 71
回日本体力医学会. 岩手県民情報交流セ
ンター/盛岡地域交流センター市民文化
ホール(岩手県) 2016年9月23-25日.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕(計2件)

依頼原稿:

井澤鉄也, 加藤久詞. New Diet Therapy 33(3):
37-44, 2017.

ホームページ:

同志社大学・スポーツ健康科学部・スポーツ
生化学研究室 Website

<http://izawalab.wixsite.com/izawalab>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 久詞 (KATO Hisashi)

同志社大学・研究開発推進機構・助手

研究者番号: 30780275

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

井澤 鉄也 (IZAWA Tetsuya)

同志社大学・スポーツ健康科学部・教授

研究者番号: 70147495

高倉 久志 (TAKAKURA Hisashi)

同志社大学・スポーツ健康科学部・助教

研究者番号: 20631914