

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590854

研究課題名（和文）メタボリックシンドロームにおける運動能力低下の分子機構の解明と治療への応用

研究課題名（英文）Study on the molecular mechanisms and treatment for the impaired exercise capacity in metabolic syndrome

研究代表者

絹川 真太郎（KINUGAWA SHINTARO）

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：60399871

研究成果の概要（和文）：メタボリックシンドロームマウスの運動能力は低下し、この運動能力低下に下肢骨格筋のミトコンドリア機能障害が関わっていた。さらに、これらには NAD(P)H oxidase 由来の骨格筋酸化ストレスが重要な役割を果たしていた。骨格筋酸化ストレスの抑制やミトコンドリア機能の維持はメタボリックシンドロームにおける運動能力の改善に有効な治療法となりうるということが本研究により明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The exercise capacity was impaired in metabolic syndrome mice, which was associated with mitochondrial dysfunction in the skeletal muscle. Furthermore, NAD(P)H oxidase-dependent oxidative stress in skeletal muscle played an important role in the impaired exercise capacity and mitochondrial dysfunction. The present study demonstrated that therapies designed to regulate oxidative stress and maintain mitochondrial function could be beneficial to improve the exercise capacity in metabolic syndrome.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：循環器内科学

キーワード：メタボリックシンドローム、運動能力、酸化ストレス、ミトコンドリア機能、骨格筋、小動物用トレッドミル

1. 研究開始当初の背景

（1）メタボリックシンドロームでは、骨格筋機能が低下していることが知られており、したがって、効果的な運動が行えないことが、病態の更なる悪化・進展を引き起こすという悪循環を形成している。

（2）メタボリックシンドロームでは骨格筋

ミトコンドリアのエネルギー代謝異常があり、結果として運動能力が低下しているのではないかと仮説を立てた。

（3）また、酸化ストレスはミトコンドリア障害を起こすことが良く知られており、骨格筋酸化ストレスがメタボリックシンドロームにおける骨格筋ミトコンドリアエネルギー

一代謝異常に重要な役割を果たしている」と仮説を立てた。

2. 研究の目的

- (1) 高脂肪食負荷メタボリックシンドロームマウスの運動能力は低下しているか
- (2) 骨格筋エネルギー代謝、特に骨格筋ミトコンドリア機能異常があるか
- (3) 骨格筋酸化ストレスは増加しているか。酸化ストレスの分子機序は何か。
- (4) 酸化ストレスによる骨格筋障害の発生機序は何か。
- (5) 酸化ストレス制御やインスリン抵抗性改善により、これらの異常が改善するか

3. 研究の方法

- (1) マウスに高脂肪食を8週間投与し、メタボリックシンドロームモデルを作成した。対照は通常食を投与した。
- (2) 小動物用トレッドミルを用いて、運動能力(仕事量・最大酸素摂取量)を測定した。
- (3) 骨格筋からミトコンドリアを単離しミトコンドリア機能および形態を評価した。
 - ① 酸素電極を用いたミトコンドリア呼吸能の測定
 - ② 電子伝達系複合体活性の測定
 - ③ 電子顕微鏡を用いたミトコンドリア密度や容量の決定
- (4) 骨格筋酸化ストレスの評価
 - ① ルシジェニン化学発光法を用いたスーパーオキシド産生およびNAD(P)H oxidase活性の測定
 - ② 脂質過酸化の測定
- (5) 酸化ストレス抑制やインスリン抵抗性治療を行ったマウスでの検討
 - ① NAD(P)H oxidase 抑制薬アポサイニン投与
 - ② アンジオテンシン受容体拮抗薬投与
 - ③ インスリン抵抗性改善薬投与

4. 研究成果

- (1) 8週間の高脂肪食負荷によるメタボリックシンドロームモデルマウスの運動時の仕事量および酸素摂取量はそれぞれ対照マウスの64%および84%まで低下した。
- (2) 骨格筋ミトコンドリア呼吸能、電子伝達系複合体IおよびI I I、ミトコンドリア容量は高脂肪食マウスで低下した。
- (3) 高脂肪食マウスの骨格筋におけるスーパーオキシド産生および脂質過酸化が増加し、NAD(P)H oxidase活性が増加した。
- (4) 高脂肪食マウスにアポサインを投与すると、骨格筋酸化ストレスが抑制され、運動能力および骨格筋ミトコンドリア機能が改善した。
- (5) 高脂肪食マウスにアンジオテンシン受容体拮抗薬を投与すると、アポサインの結果であった。NAD(P)H oxidase活性はレ

ニン・アンジオテンシン系の活性化によると考えられた。

(6) 高脂肪食マウスにインスリン抵抗性改善薬を投与すると、運動能力の改善およびミトコンドリアにおけるエネルギー産生高率が高まった。アポサインは一部違う機序で運動能力を改善させた。

(7) 糖尿病やメタボリックシンドロームは心血管病の危険因子であり、その予防が重要である。本研究は骨格筋酸化ストレスに注目した研究であり、これらの病態の治療として全く新しい視点に立ったものである。

(8) 本研究結果から、骨格筋酸化ストレス制御に基づく、運動能力改善を目指した新たな治療法を確立するヒトを対象とした臨床試験を行う必要があると考えられた。

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6件)

- ① Ohta Y, Kinugawa S, Matsushima S, Ono T, Sobirin MA, Inoue N, Yokota T, Hirabayashi K, Tsutsui H; Oxidative stress impairs insulin signal in skeletal muscle and causes insulin resistance in post-infarct heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011 (in press)、査読有り
- ② Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S, Yokota T; Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus. *J Clin Biochem Nutr* 48, 68-71, 2011、査読有り
- ③ Suga T, Okita K, Morita N, Yokota T, Hirabayashi K, Horiuchi M, Takada S, Omokawa M, Kinugawa S, Tsutsui H; Does effect on intramuscular metabolic stress during low-intensity resistance exercise with blood flow restriction. *J Appl Physiol* 108, 1563-1567, 2010、査読有り
- ④ Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K,

Matsushima S, Inoue N, Ohta Y, Hamaguchi S, Sobirin MA, Ono T, Suga T, Kuroda S, Tanaka S, Terasaki F, Okita K, Tsutsui H: Oxidative stress in skeletal muscle impairs mitochondrial respiration and limits exercise capacity in type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297, 1069-1077, 2009、査読有り

- ⑤ Suga T, Okita K, Morita N, Yokota T, Hirabayashi K, Horiuchi M, Takada S, Takahashi T, Omokawa M, Kinugawa S, Tsutsui H: Intramuscular metabolism during low-intensity resistance exercise with blood flow restriction. *J Appl Physiol* 106, 1119-24, 2009、査読有り
- ⑥ Matsushima S, Kinugawa S, Yokota T, Inoue N, Ohta Y, Hamaguchi S, Tsutsui H: Increased myocardial NAD(P)H oxidase-derived superoxide causes the exacerbation of postinfarct heart failure in type 2 diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297, H409-16, 2009、査読有り

[学会発表] (計 9 件)

- ① Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K, Suga T, Takada S, Takahashi M, Ono T, Sobirin AM, Okita K, Tsutsui H: Pioglitazone increases the aerobic capacity with improved skeletal muscle energetics in patients with insulin resistance. *European Association for the Study of Diabetes* 2010, 2010.9.21 (Stockholm, Sweden)
- ② Hirabayashi K, Kinugawa S, Yokota T, Suga T, Ono T, Sobirin AM, Takahashi M, Tsutsui H: Pioglitazone ameliorates

reduced exercise capacity in high fat diet-induced diabetic mice. *International Society for Heart Research* 2010, 2010.5.16 (Kyoto, Japan)

- ③ Takahashi M, Kinugawa S, Inoue N, Tsutsui H: Angiotensin II directly reduces exercise capacity by increasing oxidative stress in skeletal muscle. *International Society for Heart Research* 2010, 2010.5.16 (Kyoto, Japan)
- ④ Hirabayashi K, Kinugawa S, Yokota T, Ono T, Suga T, Sobirin MA, Takahashi M, Tsutsui H: Pioglitazone Ameliorates Reduced Exercise Capacity in High Fat Diet-Induced Diabetic Mice. 第 7 4 回日本循環器学会学術集会、2010.3.6 (京都)
- ⑤ Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K, Suga T, Matsushima S, Sobirin AM, Ono T, Morita N, Takada S, Omokawa M, Okita K, Tsutsui H: Pioglitazone improves aerobic capacity and skeletal muscle high-energy phosphate metabolism in patients with metabolic syndrome. *American Heart Association Scientific Sessions* 2009, 2009.11.18 (Orlando, USA)
- ⑥ 平林 鑑、絹川 真太郎、横田 卓、菅唯志、森田 憲輝、小野 太祐、アリ・ソビリン、高橋 将成、沖田 孝一、筒井 裕之: 下肢骨格筋の筋内脂肪の蓄積は心不全患者の運動能力の低下に関与する。第 1 3 回日本心不全学会学術集会、2009.10.31 (福岡)
- ⑦ Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K, Suga T, Matsushima S, Sobirin AM, Ono

T, Okita K, Tsutsui H: Lowered aerobic exercise capacity was associated with impaired skeletal muscle energy metabolism in patients with metabolic syndrome. 第73回日本循環器学会学術集会, 2009.3.22 (大阪)

⑧ Hirabayashi K, Kinugawa S, Inoue N, Yokota T, Ono T, Sobirin MA, Suga T, Tsutsui H: Angiotensin II impairs skeletal muscle properties and limits exercise capacity. 第73回日本循環器学会学術集会, 2009.3.21 (大阪)

⑨ Ono T, Kinugawa S, Matsushima S, Ohta Y, Yokota T, Hirabayashi K, Tsutsui H: Pravastatin ameliorates the development of high fat diet-induced diabetes by inhibiting oxidative stress and insulin signaling defects in skeletal muscle. 第73回日本循環器学会学術集会, 2009.3.20 (大阪)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

絹川 真太郎 (KINUGAWA SHINTARO)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：60399871

(2) 研究分担者

筒井 裕之 (TSUTSUI HIROYUKI)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：70264017
古本 智夫 (FURUMOTO TOMOO)
北海道大学・大学院医学研究科・特任助教
研究者番号：10399925

(3) 連携研究者

沖田 孝一 (OKITA KOICHI)
北翔大学・大学院生涯学習研究科・教授
研究者番号：80382539