

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月 15日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21300255

研究課題名（和文） 研究課題名 新しいインスリン抵抗性発症因子としての“脂肪感受性”規定因子の解明

研究課題名（英文） New insulin resistance regulatory factor “susceptibility to fat loading”

研究代表者

河盛 隆造（Kawamori Ryuzo）

順天堂大学・医学研究科・特任教授

研究者番号：00116021

研究成果の概要（和文）：

【目的】健常者に対する3日間の高脂肪食が骨格筋代謝に与える影響を検討する。【方法】健常男性に対して、普通食とそれに引き続く高脂肪食を3日間ずつ摂取させた。【結果】高脂肪食摂取による骨格筋細胞内脂質（IMCL）の変化とインスリン感受性（GIR）の変化には負の相関を認めた。身体活動量とIMCLの変化率に負の相関を認めた。GIRが低下し、IMCLが増加した群（High-responder group:HR）とGIR、IMCL共に変化しなかった群（Low-responder group:LR）に分けてマイクロアレイ解析を行った所、HR群のメタボリックパスウェイにおける高脂肪食負荷前後の遺伝子変動はLR群に比して大きかった。また、HR群では高脂肪食負荷後に脂質の取り込みβ酸化に関する遺伝子の発現が上昇していた。【結語】IMCLやGIRの変化に呼応して、骨格筋の遺伝子発現も変化することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

(Aim) We investigated the effect of high fat diet (HFD) on metabolism in skeletal muscle. (Method) Three days HFD were provided to healthy men after 3 days normal fat diet. (Results) We observed negative correlation between changes in intramyocellular lipid (IMCL) and changes insulin sensitivity (GIR) after HFD. Microarray analysis demonstrated that significant changes of metabolic pathway was observed in high responder group (HR; increased IMCL and decreased GIR after HFD), but not in low responder group (LR). Gene expression level of fat uptake and oxidation were elevated in HR group. (Conclusion) Our data suggested that gene expression response after HFD in skeletal muscle is associated with IMCL and GIR changes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
22年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
23年度	3,200,000	960,000	4,160,000
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：応用健康科学

キーワード：(1) 骨格筋細胞内脂質 (2) インスリン抵抗性 (3) 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

欧米風ライフスタイルの蔓延により日本では、肥満を介して心血管イベントの発症頻度が増加してきていると考えられがちだが、日本人の2型糖尿病、動脈硬化症患者の純然たる特徴は非肥満である。我々は、この現象に関して、独自に細胞内脂質に着目して検討を進めてきた。その結果、日本人の非肥満の2型糖尿病患者においても骨格筋細胞は“肥満”状態となっており、それが2型糖尿病や動脈硬化症の発症、進展に関わるインスリン抵抗性と密接に関連していることが明らかとなった。さらに、健常者に対するたった3日間の高脂肪食負荷は骨格筋細胞を肥満化させ、この変化には大きな個人差があることを明らかとした。これらの事実から、一定量の高脂肪食負荷による骨格筋細胞内脂質の増加の程度を「脂肪負荷感受性」とすると、個人の脂肪負荷感受性がこそが、骨格筋細胞の“肥満”状態の規定因子であり、2型糖尿病、動脈硬化症の大きなリスクファクターになるとの仮説に至った。

2. 研究の目的

本研究では、脂肪負荷感受性の規定因子をヒトから細胞レベルまで詳細に検討し、新たな治療法へ応用することを目的とした。

3. 研究の方法

(対象) 20-30歳の健常人 38名

(方法) 対象者として本研究への協力に文書同意の得られた正常耐糖能者を登録し、一般的な臨床背景因子、家族歴を詳細に聴取する。2型糖尿病の家族歴は二親等まで詳細に聴取する。脂肪負荷感受性に影響を与えると推測されるパラメーターについても詳細に測定を行う。最大酸素摂取量は、エルゴメータを用いた最大運動下での呼吸ガス分析により測定する。体脂肪量はインピーダンス法にて測定する。身体活動度はライフコーダーにより評価し、脂肪コントロール食摂取期間の身体活動度を一定に保つように指導する。これらのベースラインのデータを測定後、3日間の普通食(炭水化物 60%、脂質 25%、蛋白質 15%)と、それに引き続き3日間の高脂肪食(炭水化物 35%、脂質 50%、蛋白質 15%)を摂取させる。それぞれの、3日間の食事負荷後、空腹時の条件下で、下肢専用の表面コイルを使用した¹H-MRSより、前脛骨筋、ヒラメ筋の骨格筋細胞内脂質(IMCL)を測定する。また、人工膵臓(STZ-22、日

機装)を用いて、インスリン注入量100mU/m²/minの条件下で正常血糖クランプ検査を行い、骨格筋におけるインスリン感受性(GIR)を測定する。その際、基礎状態、高インスリン状態における呼吸ガス分析を行い、それぞれのエネルギー代謝量、呼吸商を計測する。また、3日間高脂肪食負荷前後に大腿外側広筋より筋生検を行った。GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 Array (Affymetrix)を用い、解析ソフトはGene Spring GX (Agilent) ,IPA™を使用した。GIRが低下し、IMCLが増加した群(脂肪負荷感受性低下群)とGIR、IMCL共に変化しなかった群(脂肪負荷感受性無変化群)に分け解析を行った。

4. 研究成果

3日間の高脂肪食は、TA、SOLの骨格筋細胞内脂質を有意に増加させ、インスリン抵抗性の指標であるグルコース注入率(GIR)は有意では無いが平均10%低下させた。細胞内脂質がどのような人で増加しやすいかを検索したところ、高分子量アディポネクチンが低い者、運動習慣の無い者では、日常身体活動量が低い者ほど蓄積しやすいことが明らかとなった。

また、骨格筋のサンプル解析により、脂肪負荷感受性が高い群において、高脂肪食負荷前後で多くの遺伝子の変動が認められたが、それと比較して無変化群では遺伝子の変動が少なかった。脂肪負荷感受性が高い群のメタボリックパスウェイにおける高脂肪食負荷前後の遺伝子変動は無変化群に比して大きく、lipid metabolism entrance pathwayにおいて有意差を示した。また、脂肪負荷感受性が高い群では高脂肪食負荷後に脂質の取り込みβ酸化に関する遺伝子の発現が上昇していた。

これらの結果は、細胞内に脂肪が蓄積することに呼応した遺伝子発現の反応が生じていることを示唆している。これらの系統立った遺伝子発現の変化は、上流で転写因子などが制御している可能性が考えられるが、現在解析している結果から、いくつかの候補遺伝子が抽出されており、現在細胞、動物レベルでの機能解析を進めている。

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 1 件)

Sakurai Y, Tamura Y, Takeno K, Kumashiro N, Sato F, Kakehi S, Ikeda S, Katamoto S, Ogura Y, Saga N, Naito H, Fujitani Y, Hirose T, Kawamori R, Watada H: Determinants of intramyocellular lipid accumulation after dietary fat loading in non-obese men. *J Diabetes Invest* 2:310-317, 2011

〔学会発表〕(計 8 件)

1 田村 好史、綿田 裕孝、河盛 隆造 ヒトにおける高脂肪食負荷が、骨格筋細胞内脂質蓄積とインスリン抵抗性発生に与える影響とその規定因子 第 5 9 回日本体質医学会 2009.07.26

2 櫻井 裕子、田村 好史、綿田 裕孝、河盛 隆造 ヒトにおける高脂肪食負荷が、骨格筋細胞内脂質蓄積とインスリン抵抗性発生に与える影響とその規定因子 第 5 2 回日本糖尿病学会年次学術集会 2009.05.22

3 田村 好史、綿田 裕孝、河盛 隆造 ヒトにおける高脂肪食負荷が、骨格筋細胞内脂質蓄積とインスリン抵抗性発生に与える影響とその規定因子 第 6 4 回日本体力医学会 2009.09.18

4 田村 好史、綿田 裕孝、河盛 隆造 Diabetes and Exercise: Intramyocellular Lipid Accumulation and Insulin Sensitivity. *The 15th Korea-Japan Symposium on Diabetes Mellitus* 2009.11.21

5 田村 好史、綿田 裕孝、河盛 隆造 Anatomic and functional imaging of the body. 日米医学協力研究会合同会議 2009.11.09

6 田村 好史、綿田 裕孝、河盛 隆造

Intramyocellular lipid accumulation and

insulin sensitivity 日本農芸化学会

2010.03.30

7 櫻井 裕子、田村 好史、河盛 隆造、綿田 裕孝 Susceptible Factors for Intramyocellular Lipid Accumulation by Dietary Fat Loading in Non-Obese Men. American Diabetes Association 70th Scientific sessions 2010.06.26

8 Kakehi S, Tamura Y, Kawamori R, Watada H. et al Changes in intramyocellular lipid accumulation and Insulin sensitivity after High-Fat Loading are associated with transcriptional response in human skeletal muscle. American Diabetes Association 71st scientific sessions 2011.6

〔図書〕(計 1 件)

田村 好史 他 異所性脂肪 メタボリック シンドロームの新常識 日本医事新報社 2010 136 ページ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河盛 隆造 (Kawamori Ryuzo)

順天堂大学・医学研究科・特任教授

研究者番号: 0016021

(2) 研究分担者

綿田 裕孝 (Watada Hirotaka)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号: 60343480

田村 好史 (Tamura Yoshifumi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号: 80420834