

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5月24日現在

機関番号：32610

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700655

研究課題名（和文）運動特異的な脂肪組織リモデリングのメカニズム：細胞外マトリックスの役割

研究課題名（英文）The role of extracellular matrix in the exercise training-specific remodeling of white adipose tissues

研究代表者

櫻井 拓也（SAKURAI TAKUYA）

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：20353477

研究成果の概要（和文）：運動トレーニング（TR）による脂肪組織の再構築（リモデリング）のメカニズムを、脂肪細胞を取り巻く細胞外マトリックス（ECM）の役割に着目して検討した。ECM分子のひとつであるデルマトポンチン（Dpt）遺伝子が脂肪組織で豊富に発現していること、Dptの遺伝子発現が高脂肪食を摂取させた肥満マウスの副睾丸周囲の内臓脂肪組織で増加し、この発現増加をTRが抑えることが明らかになった。さらに、トレッドミルによるTRを行わせたラットの内臓脂肪組織では、ECMの受容体であるインテグリン $\alpha 1$ 遺伝子の発現が増加することもわかった。以上のことから、TRによる脂肪組織のリモデリングにDptやインテグリン $\alpha 1$ などのECM分子が関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：White adipose tissues (WAT) are remodeled due to exercise training (TR). The extracellular matrix (ECM), which encloses adipocytes, is thought to play an important role in remodeling of WAT. In the present study, therefore, the role of ECM in TR and obesity-specific remodeling of WAT was investigated. Expression of the gene for the dermatopontin (Dpt), which is one of the ECM, in WAT is higher in obese mice than in lean mice. TR definitely attenuated such obesity-induced Dpt gene expression in WAT. Moreover, TR enhanced expression of the ECM receptor integrin $\alpha 1$ gene in WAT. These results suggest that Dpt and integrin $\alpha 1$ are considered to be implicated in remodeling of WAT by TR.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：運動生理学、運動分子生物学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：脂肪組織、運動トレーニング、肥満、糖尿病、リモデリング、細胞外マトリックス

1. 研究開始当初の背景

近年、脂肪組織の肥大が原因となる肥満が欧米を中心に世界的に増加の一途をたどり、深刻な社会問題となっている。日本でも厚生労働省による平成20年国民健康・栄養調査で肥満者の割合が、男性28.6%、女性20.6%

と報告され、決して少なくない数のヒトが肥満であることがわかっている。肥満は2型糖尿病や高脂血症などのいわゆる生活習慣病の発症リスクであり、肥満・糖尿病は動脈硬化性疾患の増加の原因となる。実際、平成19年の国民健康・栄養調査では、糖尿病が強く

疑われるヒトと糖尿病の可能性が否定できないヒトを合計すると約2,210万人にもものぼるとみられている。したがって、肥満者や2型糖尿病患者の増加は今後ますます大きな問題になり、これらを予防することは非常に重要であると思われる。

脂肪組織は単なるエネルギーの貯蔵庫としての静的な面だけでなく、腫瘍壊死因子 α (TNF- α) など炎症性サイトカインを含むアディポカインと総称される液性因子を産生し、代謝反応などに積極的に関与する動的な面を持つ。また、肥満による炎症関連アディポカインの発現異常が引き起こす脂肪組織の炎症性変化がインスリン抵抗性の惹起に関与しているというエビデンスが多数得られていることから、生活習慣病の原因臓器の1つとしてとりわけ注目されている臓器である。したがって、脂肪組織は生活習慣病の原因臓器であると認識され、積極的な検討が行われている。

脂肪組織は過食や運動不足により肥大化やマクロファージの浸潤などが起こり、逆に運動トレーニング (TR) によって脂肪分解反応の亢進や組織の縮小がみられるため、再構築 (リモデリング) を起こす可塑性の強い臓器といえる。しかし、そのリモデリングのメカニズムについては未だ不明な点が多く、非常に興味をもたれていた。

2. 研究の目的

肥満や TR による脂肪組織のリモデリングには、脂肪細胞とそれを取り囲む細胞外マトリックス (ECM) との相互作用が重要な役割を果たしていると考えられる。コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンなどを主要成分とする ECM は、以前は細胞外の空間を充填するためだけの物質として捉えられてきたが、細胞増殖・分化や細胞死などに重要な役割を果たすことが明らかになってきた。したがって、組織のリモデリングに極めて重要な因子であるが、脂肪組織においてはまだ報告が少なく TR による脂肪組織のリモデリングに果たす役割についてはほとんどわかっていない。そこで本研究では、TR による脂肪組織のリモデリングのメカニズムを ECM に着目して明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 運動実験 : 5 週齢の Wistar 系雄性ラットをコントロール (C) 群と TR 群に分け、週 5 日、最終運動強度 30m/分、90 分のトレッドミル走行による TR を 9 週間実施した。

(2) 脂肪組織において TR によって変化する ECM 関連遺伝子の網羅的解析 : C 群と TR 群の副睾丸周囲、後腹膜周囲及び皮下から脂肪組織を採取した。両群の副睾丸周囲脂肪組織の total RNA サンプルから cDNA を合成し、DNA

アレイ法で両群の cDNA を用いて遺伝子発現変化の網羅的検索を行った後、変化のあった遺伝子については Real-time PCR 法で確認を行った。

(3) マウスへの高脂肪食摂取と TR の施行 : 6 週齢の C57BL マウスを C 群、高脂肪食 (HFD) 群と HFD + TR 群に分け、HFD 群には脂肪含量 32% の高脂肪食摂取を、HFD + TR 群には高脂肪食摂取と同時に回転かごでの自発運動走による TR をそれぞれ 6 週間施行した。

(4) 脂肪組織における HFD や TR による ECM 関連遺伝子の発現変化の検討

上記の 3 群の副睾丸周囲脂肪組織から total RNA サンプル抽出し、cDNA を合成した後、Real-time PCR 法で ECM 関連遺伝子の発現変化を観察した。

4. 研究成果

(1) 脂肪組織において TR によって変化する ECM 関連遺伝子の網羅的解析 : 脂肪組織における TR によるインテグリン $\alpha 1$ 遺伝子の発現増加

9 週間のトレッドミル走行による TR によって有意な体重および脂肪組織重量の減少が観察された。DNA アレイ法で C ならびに TR 群の cDNA を用いて遺伝子発現変化の網羅的検索を行ったところ、コラーゲン $\alpha 1$ や $\alpha 5$ といったコラーゲン分子およびインテグリン $\alpha 1$ もしくは $\alpha 7$ などの ECM 受容体の遺伝子が豊富に発現していることがわかった。このうち、トレッドミル TR を行わせたラットの内臓脂肪組織ではインテグリン $\alpha 1$ 遺伝子の発現が増加した (図 1)。インテグリン $\alpha 1$ は、 $\beta 1$ とヘテロダイマーを形成してコラーゲンやラミニンなどの ECM と結合することで細胞内にシグナルを伝達し、上皮細胞増殖因子受容体の活性を抑えることや活性酸素の発生を抑制的に調節することがわかっている。したがって、以前、研究代表者が見出している TR による脂肪組織の酸化ストレス減少にインテグリン $\alpha 1$ の増加が関わっている可能性が推測された。

(2) マウスへの HFD 摂取と TR の施行による ECM 関連遺伝子の発現変化

HFD 群のマウスは普通食群のマウスに比べて 3 週目から体重の有意な増加が認められた。一方、HFD + TR 群では 6 週目に C 群と比べて有意な体重の増加が認められたが HFD 群に比べて有意に低かった。さらに、さらに、HFD 群の内臓脂肪組織では、ECM 分子であるデルマトポンチン (Dpt) の遺伝子発現が増加したが、この増加を自発運動走による TR が減弱させた (図 2)。Dpt は、ECM 中の豊富な非コラーゲン成分であり、コラーゲン線維形成作用やトランスフォーミング増殖因子 (TGF) - β の生理活性を増加させることが肺上皮細

胞で報告されているが脂肪組織における役割は不明である。TGF- β は、肥満者や肥満動物において血中濃度と肥満の程度と間に有意な正の相関関係がみられ糖尿病の発症に関与する可能性が示唆されているほか、TGF- β による刺激を核に伝えるシグナル伝達物質 smad3 をノックアウトしたマウスでは、現在、非常に注目されている白色脂肪組織の褐色脂肪組織化が認められたことから、TGF- β /smad3 経路は白色脂肪組織の褐色化に関与すると考えられている。したがって、肥満による脂肪組織での Dpt 増加は、同じく肥満で増加する TGF- β の作用を増強することが推察された。

以上のことから、TR による脂肪組織のリモデリングに Dpt やインテグリン $\alpha 1$ などの ECM 分子が必要な役割を果たすことが示唆された。

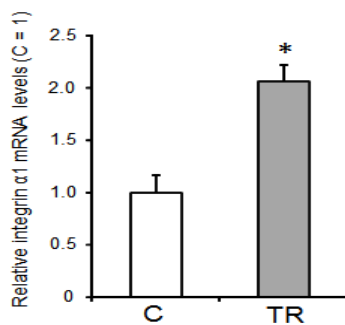


図1 副率丸周囲脂肪組織におけるインテグリン $\alpha 1$ 遺伝子発現に対するTRの効果
n=4 for each group. Mean \pm SE. *P < 0.05 vs. C group.

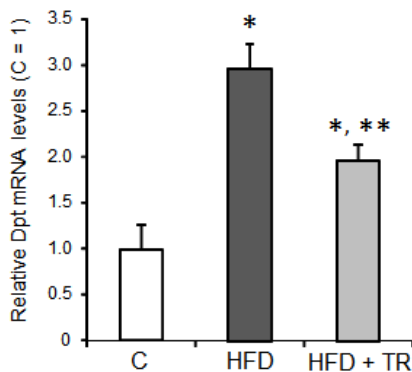


図2 副率丸周囲脂肪組織におけるDpt遺伝子発現に対する高脂肪食摂取とTRの効果
n=4 for each group. Mean \pm SE. *P < 0.05 vs. C group.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

(1) Sakurai, T., Ogasawara, J., Kizaki, T., Ishibashi, Y., Sumitani, Y.,

Takahashi, K., Ishida, H., Miyazaki, H., Saitoh, D., Haga, S., Izawa, T. & Ohno, H. : Preventive and improvement effects of exercise training and supplement intake in white adipose tissues on obesity and lifestyle-related diseases. Environ. Health Prev. Med. 17, 2012, in press, 査読有

(2) Sakurai, T., Ogasawara, J., Kizaki, T., Ishibashi, Y., Fujiwara, T., Akagawa, K., Izawa, T., Radák, Z. & Ohno, H. : Exercise training and the promotion of neurogenesis and neurite outgrowth in the hippocampus. J. Phys. Fit. Sports Med. 1, 2012, in press, 査読有

(3) Ohno, H., Shirato, K., Sakurai, T., Ogasawara, J., Sumitani, Y., Sato, S., Imaizumi, K., Ishida, H. & Kizaki, T. : Effect of exercise on HIF-1 and VEGF signaling. J. Phys. Fit. Sports Med. 1: 5-16, 2012, 査読有

(4) Arai, T., Oh-Ishi, T., Yamamoto, H., Nunoi, H., Kamizono, J., Uehara, M., Kubota, T., Sakurai, T., Kizaki, T. & Ohno, H. : Copy number variations due to large genomic deletion in x-linked chronic granulomatous disease. PLoS One 7 : e27782, 2012, 査読有
DOI: 10.1371/journal.pone.0027782

(5) Kizaki, T., Sato, S., Sakurai, T., Ogasawara, J., Imaizumi, K., Izawa, T., Nagasawa, J., Saitoh, D., Haga, S. & Ohno, H. : The effects of exercise on macrophage function. J. Phys. Fit. Sports Med. 1, 2012, in press, 査読有

(6) Ogasawara, J., Sakurai, T., Kizaki, T., Takahashi, K., Sumitani, Y., Ishida, H., Izawa, T., Toshinai, K. & Ohno, H. : Effect of physical exercise on lipolysis in white adipocytes. J. Phys. Fit. Sports Med. 1, 2012, in press, 査読有

(7) Sakurai, T., Ogasawara, J., Kizaki, T., Ishibashi, Y., Fujiwara, T., Akagawa, K., Izawa, T., Oh-ishi, S., Haga, S. & Ohno, H. : Involvement of leucine zipper transcription factor-like protein 1 (Lztf11) in the attenuation of cognitive impairment by exercise training. Biochem. Biophys. Res. Commun. 416 : 125-129, 2011, 査読有
DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.11.008

(8) Kizaki, T., Maegawa, T., Sakurai, T.,

- Ogasawara, J., Ookawara, T., Oh-ishi, S., Izawa, T., Haga, S. & Ohno, H. : Voluntary exercise attenuates obesity -associated inflammation through ghrelin expressed in macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 413 : 454-459, 2011, 査読有 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.08.117
- (9) Hatano, D., Ogasawara, J., Endoh, S., Sakurai, T., Nomura, S., Kizaki, T., Ohno, H., Komabayashi, T. & Izawa, T. : Effect of exercise training on the density of endothelial cells in the white adipose tissue of rats. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 21 : e115-e121, 2011, 査読有 DOI : 10.1111/j.1600-0838.2010.01176.x
- (10) Ogasawara, J., Kitadate, K., Nishioka, H., Fujii, H., Sakurai, T., Kizaki, T., Izawa, T., Ishida, H. & Ohno, H. : Comparison of the effect of Oligonol, a new lychee fruit - derived low molecular form of polyphenol, and epigallocatechin-3-gallate on lipolysis in rat primary adipocytes. *Phytother Res.* 25 : 467-471, 2011, 査読有 DOI : 10.1002/ptr.3296
- (11) 大野秀樹、白土健、櫻井拓也、小笠原準悦、石橋義永、芳賀脩光、木崎節子 : 食細胞の機能と低酸素環境. *臨床免疫・アレルギー科* 55 : 239-246, 2011, 査読なし
- (12) Ogasawara, J., Kitadate, K., Nishioka, H., Fujii, H., Sakurai, T., Kizaki, T., Izawa, T., Ishida, H., Tanno, M. & Ohno, H. : Oligonol, an oligomerized lychee fruit-derived polyphenol, activates the Ras/Raf-1/MEK1/2 cascade independent of the IL-6 signaling pathway in rat primary adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 402 : 554-559, 2010, 査読有 DOI : 10.1016/j.bbrc.2010.10.082
- (13) Ogasawara, J., Nomura, S., Rahman, N., Sakurai, T., Kizaki, T., Izawa, T., Ishida, H., Haga, S. & Ohno, H. : Hormone - sensitive lipase is critical mediators of acute exercise-induced regulation of lipolysis in rat adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 400 : 134-139, 2010, 査読有 DOI : 10.1016/j.bbrc.2010.08.026
- (14) Sakurai, T., Endo, S., Hatano, D., Ogasawara, J., Kizaki, T., Oh-ishi, S., Izawa, T., Ishida, H. & Ohno, H. : Effects of exercise training on adipogenesis of stromal-vascular fraction cells in rat epididymal white adipose tissue. *Acta Physiol (Oxf).* 200 : 325-338, 2010, 査読有 DOI : 10.1111/j.1748-1708.2010.02159.x
- (15) Miyazaki, S., Izawa, T., Ogasawara, J., Sakurai, T., Nomura, S., Kizaki, T., Ohno, H. & Komabayashi, T. : Effect of exercise training on adipocyte size- dependent expression of leptin and adiponectin. *Life Sci.* 86 : 691-698, 2010, 査読有 DOI : 10.1016/j.lfs.2010.03.004
- (16) 長澤純一、杉山康塚、内丸仁、笹尾真美、高野宏二、野口いづみ、鈴木康弘、北舘健太郎、芳賀脩光、前川剛輝、櫻井拓也、小笠原準悦、木崎節子、大野秀樹: 低圧・低酸素環境が引き起こす酸化ストレスとオリゴノールの抗酸化効果. *登山医学* 30 : 118-124, 2010, 査読有
- [学会発表] (計 21 件)
- (1) 櫻井拓也ほか: Oligonol は神経細胞において小胞体ストレス減弱作用をもつ. 第 82 回日本衛生学会学術総会、京都、2012 年 3 月 24~26 日.
- (2) 櫻井拓也 : オリジナリティあふれる衛生学を~社会医学と実験医学のクロストーク~. 第 82 回日本衛生学会学術総会、京都、2012 年 3 月 24~26 日.
- (3) 小笠原準悦ほか: 水泳運動は骨格筋前駆細胞から褐色脂肪細胞への分化シグナルを促進する. 京都、2012 年 3 月 24~26 日.
- (4) 櫻井拓也ほか: Oligonol は神経細胞において小胞体ストレスを減弱させる. 第 9 回日本予防医学会学術総会、東京、2011 年 11 月 19~20 日.
- (5) 小笠原準悦ほか: 運動は骨格筋から褐色脂肪細胞への分化を活性化するか. 第 40 回杏林医学会総会、三鷹、2011 年 11 月 19 日.
- (6) Sakurai, T. et al. : Preventive effects of Oligonol on cognitive impairment in senescence-accelerated mice and identification of its molecular target in hippocampus. 第 19 回統合医療機能性食品国際会議、札幌、2011 年 10 月 15~16 日.
- (7) 小笠原準悦ほか: 骨格筋から褐色脂肪細胞への分化機構に及ぼす寒冷曝露と水泳運動の効果. 第 66 回日本体力医学会大会、下関、2011 年 9 月 16~18 日.

- (8) 小笠原準悦ほか: 脂肪細胞の脂肪分解反応に及ぼす新規カテキン型ポリフェノール複合体 Oligonol の効果. 第 21 回体力・栄養・免疫学会大会、東京、2011 年 8 月 27~28 日.
- (9) 櫻井拓也ほか: 運動は老化促進モデルマウスの認知機能障害を予防する. 第 19 回日本運動生理学会大会、徳島、2011 年 8 月 25~26 日.
大会、東京、2011 年 5 月 13~15 日.
- (10) Ogasawara, J. et al.: The lipolytic activity in adipocytes differs between normal and high fat diet mice via changes in the trafficking of β_2 -adrenergic receptor. 第 88 回日本生理学会大会、横浜、2011 年 3 月 28~30 日.
- (11) 櫻井拓也ほか: 運動および Oligonol の摂取は老化促進モデルマウスの認知機能障害を予防する. 第 81 回日本衛生学会学術総会、東京、2011 年 3 月 25~28 日.
- (12) 櫻井拓也: 脂肪組織をプローブとした運動トレーニングおよびサプリメント摂取による肥満・生活習慣病の予防・改善効果. 第 81 回日本衛生学会学術総会、東京、2011 年 3 月 25~28 日.
- (13) 小笠原準悦ほか: 肥満抑制効果を有する Oligonol による脂肪分解反応の調節機構の解明. 第 81 回日本衛生学会学術総会、東京、2011 年 3 月 25~28 日.
- (14) 櫻井拓也ほか: 老化促進モデルマウスの認知機能障害に対する Oligonol の予防効果. 第 8 回日本予防医学会学術総会、金沢、2010 年 12 月 11~12 日.
- (15) 小笠原準悦ほか: 新規低分子化ポリフェノール (Oligonol) による脂肪分解反応の調節メカニズム. 第 39 回杏林医学会総会、三鷹、2010 年 11 月 20 日.
- (16) 櫻井拓也ほか: 老化促進モデルマウスの認知機能障害に対する運動トレーニングの予防効果. 第 65 回日本体力医学会大会、市川、2010 年 9 月 16~18 日.
- (17) 小笠原準悦ほか: 持久的トレーニングによる脂肪細胞の ATG 発現の変化と調節メカニズム. 第 18 回日本運動生理学会大会、鹿児島、2010 年 7 月 31 日~8 月 1 日.
- (18) Sakurai, T. et al.: Both Oligonol and exercise have preventive effects on cognitive impairment in senescence-accelerated mice. 18th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, Sapporo, Jul. 24~25, 2010.
- (19) Ogasawara, J. et al.: Oligonol, a new

lychee fruit - derived low molecular form of polyphenol, enhances lipolysis in primary rat adipocytes via activation of the ERK1/2 pathway. 11th International Congress on Obesity ICO 2010, Stockholm, Jul. 11~15, 2010.

- (20) 小笠原準悦ほか: 運動トレーニングによる脂肪細胞の脂肪分解反応と Adipose Triglyceride Lipase (ATGL) の役割. 第 80 回日本衛生学会総会、仙台、2010 年 5 月 9~11 日.
- (21) 櫻井拓也ほか: 運動および新規低分子化ポリフェノール Oligonol による脂肪組織酸化ストレス軽減効果. 第 80 回日本衛生学会総会: 連携研究会酸化ストレス研究会シンポジウム、仙台、2010 年 5 月 9~11 日.

[図書] (計 8 件)

- (1) 大野秀樹ほか: 機能的食品素材と運動療法—生活習慣病予防と運動機能維持向上を目指して—、シーエムシー出版、2012、印刷中
- (2) 櫻井拓也ほか: 明治安田厚生事業団第 27 回健康医科学研究助成論文集 平成 22 年度、東京六法出版、87-96、2012.
- (3) 櫻井拓也、小笠原準悦ほか: 脂肪組織のエクササイズバイオロジー 1 冊まるごと脂肪組織と運動の話、ナッパ、23-130、2011.
- (4) 櫻井拓也ほか: Proceedings 19th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine、アミノアップ化学、113-116、2011.
- (5) 小笠原準悦ほか: 公益財団法人中富健康科学振興財団第 22 回研究助成業績集平成 23 年版、医薬ジャーナル社、100-105、2011.
- (6) 大野秀樹ほか: からだと温度の事典、朝倉書店、516-517、2010.
- (7) 櫻井拓也ほか: 運動生理学のニューエビデンス、真興交易 (株) 医書出版部、381-388、2010.
- (8) 大野秀樹ほか: 『日本臨床』: 2010 年増刊 肥満症 [第 2 版] —基礎・臨床研究の進歩—、日本臨床社、272-276、2010.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

櫻井 拓也 (SAKURAI TAKUYA)

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：20353477

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

大野 秀樹 (OHNO HIDEKI)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：00133819

木崎 節子 (KIZAKI TAKAKO)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：00322446

小笠原 準悦 (OGASAWARA JYUNETSU)

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：20415110