

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23500834

研究課題名(和文) 運動療法による骨格筋、脂肪組織、血管壁と脳海馬における転写因子の発現について

研究課題名(英文) Exercise induced expressions of transforming factors in skeletal muscle, fat tissue, vessel walls, and hippocampus.

研究代表者

岡田 恭司 (Okada, Kyoji)

秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10185431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：高脂肪飼料で肥育したメタボリック症候群マウスを対照群と運動群に分け、12週間運動させ、体脂肪率測定、インスリン抵抗性試験、経口糖負荷試験をおこなった。体脂肪率は小動物用CTでの測定の他に近赤外分光法から算出し、両者の相関性を検討した。骨格筋ではglucose assayを行った。組織学的は肝、膵でのPPAR-g, レプチン受容体の発現を検討した。体脂肪率とインスリン抵抗性は運動群で良好で、PPAR-gが膵内静脈壁で、レプチン受容体は肝静脈周囲で発現が亢進しており、運動による脂質代謝改善への関与が考えられた。また近赤外分光法で算出した体脂肪率は小動物用CTでの測定値と近似していた。

研究成果の概要(英文)：Mice with metabolic syndrome were developed by feeding of high caloric diet. The mice were divided into control and exercise group. The exercise was performed for 12 weeks. Percentage of body fat, tolerance for insulin, oral glucose tolerance test were examined. Percentage of body fat was evaluated by computed tomography and spectrum of near-infrared spectroscopy (NIS). Glucose assay were performed. Immunohistochemical expression of PPAR-g and leptin receptor were evaluated in liver and pancreas. Percentage of body fat and tolerance for insulin were better in the groups with exercise. Expression of PPAR-g in the vessel walls within pancreas, and leptin receptor in the liver increased in the groups with exercise, and these might be related with better outcome of lipid metabolism. Percentage body fat calculated from NIS were strongly correlated with the value measured in CT.

研究分野：医学

キーワード：メタボリック症候群 PPAR-gamma 運動 レプチン受容体

1. 研究開始当初の背景

高脂血症や耐糖能異常に対しては、薬物療法と食事療法の他に運動療法が広く行われており、一般的には規則的に筋肉の収縮と弛緩を繰り返すリズムカルな運動を、一日おきに 30 分程度行うことが推奨されている。しかしより強度の強い運動や、より高頻度の運動のほうが脂質異常や耐糖能の改善に有効とする報告もあり、いまだに意見の一致を見ていない。メタボリック症候群では合併症を抱えた高齢者も多く、運動療法の適切な頻度と強度の研究は大きなテーマである。

また運動療法は骨格筋の糖や脂質の代謝の総量と効率を高めるとされているが、その機序についてはいまだに不明の点が多い。これまで運動療法の効果に関する分子学的な検討は、多くが糖輸送体 GLUT4 に関して行われている。最近、この GLUT4 の他に注目されているのが転写因子群ペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) である。PPAR は炭水素、脂質、タンパク質等の細胞内代謝と細胞の分化に密接に関与し、運動時、あるいはカロリー摂取制限時に種々の臓器で誘導されることが報告されている。

PPAR の 3 種類のアイソフォームのうち、PPAR- α は遊離脂肪酸などを生理的なりガンドとして活性化され、血中トリグリセリド濃度の低下を導く事が明らかにされ、フィブレート系高脂血症薬の開発につながった。また PPAR- γ はプロスタグランジン J2 をリガンドとして骨格筋のグルコース取り込みを活性化し、組織のインスリン感受性を亢進させるため、チアゾリジン誘導体化合物などインスリン抵抗性改善薬のターゲットとなっている。もう一つのアイソフォームである PPAR- δ においても、合成アゴニストによる刺激で骨格筋での脂質代謝やインスリン抵抗性を改善する事が示されている。このように PPAR は脂質代謝、耐糖能異常の治療と直結する転写因子群であるが、運動療法の頻度や強度の違いにより発現量がどのように変化するのは検討例が少ない。

また近年血糖値の上昇は、加齢に加担して海馬の歯状回に悪影響を及ぼすことが明らかにされた。その一方で運動療法により、脳海馬における神経幹細胞の増殖率が増加する事も報告されており、耐糖能異常が脳の老化、認知症を悪化させ、それが運動療法により予防、または治療できる可能性が指摘されている。

しかし、脳内や膵臓、肝臓などの糖、脂質代謝に関与する臓器での PPAR や c-fos、

レプチン受容体などの発現が運動習慣によりどのように変化するのは明らかにされていない

2. 研究の目的

メタボリック症候群モデルマウスを対象として、脂質異常と耐糖能異常に対する最も有効な運動療法の頻度と強度を明らかにし、さらに運動療法の方法により PPAR の発現、脳海馬での c-fos の発現、肝臓や膵臓でのレプチン受容体の発現がどのように異なるのか比較検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 脂質・耐糖能異常マウスの作製

5 週の雄 C57BL/6J マウス 40 匹を高脂肪食ウエスタン飼料で 7 週間飼育した。予備実験では OGTT で耐糖能異常が認められるマウスとなる。各マウスは、それぞれ独立したケージで飼育した。実験開始から終了まで餌、水は同一で自由摂取とし、体重、摂餌量は 2-3 日間隔で測定した。明暗周期は 12 時間とし、明 7:00-19:00、暗 19:00-7:00 にて飼育した。

(2) トレッドミルによる運動負荷

肥育したマウスを対照群、週 1 運動群、週 3 運動群、週 5 運動群に分類し、小動物用トレッドミル (MUROMACHI 社製) を用い、マウスの 65%VO₂Max の条件である 5 度傾斜、速度 10 m/s で一日 30 分間運動させた。運動を行う期間は 12 週間とした。

(3) 体脂肪率の計測

運動期間前と運動期間終了時に小動物用 micro CT で測定した。他に近赤外分光法のスペクトルから代表的吸収値を選出し、重回帰分析を行って体脂肪率を算出した。また両者の測定値の相関性も検討した。

(4) インスリン抵抗性試験

運動期間前と運動期間終了時にマウスにインスリンを投与し、尾部から採血してインスリン抵抗性を検討した。

(5) 経口糖負荷試験

運動期間前と運動期間終了時にマウスに糖負荷し、経時的に眼窩から採血して血糖値を測定した。

(6) 骨格筋 glucose assay

対照群と週 5 運動群の一部のマウスで運動期間終了時に、下肢骨格筋を採取し、glucose assay を semi-in vivo で行い、糖代謝効率を検討した。

(7) 組織採取と組織学的検討

運動期間が終了した時点で、全身麻酔下に心臓から灌流固定し、脳、肝臓、膵臓を採取した。採取した組織をクライオスタック

トで薄切片、PPAR- α , β , γ , δ , c-fos, レプチン受容体の発現量を比較検討した。

4. 研究成果

(1) 体脂肪率

運動期間終了時点での体脂肪率は対照群に比べ、週3、週5運動群が有意に良好であった。また小動物用CTでの測定値と重回帰を用いた近赤外分光法の結果には強い相関がみられた。

(2) インスリン抵抗性

運動期間終了時点でのインスリン抵抗性は対照群に比べ、週3、週5運動群で有意に良好であった。

(3) 経口糖負荷試験

経口糖負荷試験の結果では対照群と運動3群との間に有意差は認められなかった。

(4) 骨格筋 glucose assay

対照群と週5運動群で行った骨格筋 semi-in vivo glucose assay では差は認められなかった。

(5) 組織学的所見

免疫組織学的に検討した結果、c-fos が脳被殻周囲で、PPAR γ が膵臓内の静脈壁で、レプチン受容体は肝静脈周囲の肝細胞で発現が亢進していた。PPAR- α , β , δ については対照群と運動群では差は見られなかった。

以上の結果からメタボリック症候群でも適切な運動により脂質代謝が改善し、その機序としてインスリン抵抗性の改善、膵臓内静脈壁でのPPAR の発現亢進、肝静脈周囲の肝細胞でのレプチン受容体の発現、脳被殻周囲でのc-fos の発現が関与しているものと考察した。一方糖代謝は本運動期間終了後も有意な改善は見られず、運動強度や期間などに検討が必要と思われた。また近赤外分光法で得られる代表的吸収値から算出した体脂肪率は小動物用CTでの体脂肪率の測定値と近似しており、簡便な体脂肪率計測法として有用と思われた。

< 引用文献 >

Kliwer SA et al. Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferators-activated receptors. *Pros Natl Acad Sci* 1994;91:7355-9.

Wu W et al. The brain in the age of old: the hippocampal formation is targeted differentially by disease of late life. *Ann Neurol* 2010;67:838-9.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計1件)

岡田恭司、藤原一彦：近赤外分光法を用

いた簡便な小動物の体脂肪率測定法
Bioindustry 30:53-58, 2013.

[学会発表](計3件)

若狭正彦 他、トレッドミル運動負荷による被殻内c-fos蛋白の発現：高脂血症マウスによる検討、第117回日本解剖学会、2012年3月26日、甲府市
齋藤明 他、ランニングトレーニングが脳内c-fos発現に及ぼす影響、第117回日本解剖学会、2012年3月26日、甲府市

月山克史 他、高脂肪食誘導性肥満マウスのインスリン抵抗性における運動療法の有効性、第56回日本糖尿病学会年次学術集会、2013年5月25日、熊本市

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称：小動物の体脂肪測定方法

発明者：岡田恭司、藤原一彦、小川信明

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2012-076714

出願年月日：平成 24 年 3 月 1 日

国内外の別：国内

取得状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡田恭司 (OKADA Kyoji)

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10185431

(2) 研究分担者

月山克史 (TSUKIYAMA Katsushi)

秋田大学・医学部・准教授

研究者番号：10359797

大友和夫 (OTOMO Kazuo)
秋田大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：30006754

(3)連携研究者

()

研究者番号