

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：27301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700769

研究課題名(和文) 運動と食事による異所性脂肪の変化と転写因子の遺伝子多型に関する研究

研究課題名(英文) Genetic variants and ectopic lipid alterations during aerobic exercise and calorie restriction

研究代表者

飛奈 卓郎 (Tobina, Takuro)

長崎県立大学・看護栄養学部・講師

研究者番号：60509678

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではPGC-1とPPAR の遺伝子多型に注目し、肝臓内脂肪や骨格筋内脂肪、代謝関連因子との関連を運動トレーニングや食事制限の介入前後で調査した。PGC-1遺伝子Gly482Ser多型とPPAR 遺伝子T294C多型が肝臓内脂肪や骨格筋内脂肪の量に関係する可能性を示したが、運動や食事制限による減少との関連は認めなかった。一方で運動による糖代謝とLDLコレステロールの変化、食事制限による糖代謝や骨格筋ミトコンドリア量の変化にこれらの遺伝子多型が関与する可能性を示した。

研究成果の概要(英文)： This study investigated the association with genetic variants that plays as nuclear transcriptional factor and ectopic lipids during aerobic exercise and diet induced calorie restriction. Before interventions, Ser allele of PGC-1 gene Gly482Ser polymorphism and C allele of PPAR T294C influences hepatic and muscular lipid accumulation. After exercise training and diet intervention, the changes of those lipids contents were no differences among the genotypes. However, Gly allele and T allele associates more improvement glucose metabolism and LDL-cholesterol in exercise training group. In diet group, those gene polymorphisms also influenced the changes of muscular mitochondrial contents, and fasting glucose level. This study suggested that the genetic variants of PGC-1 Gly482Ser and PPAR T294C may affects exercise and diet induced glucose and lipid energy metabolism.

研究分野：運動生理学

キーワード：遺伝子多型 生活習慣病 メタボリックシンドローム 骨格筋 ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

体内の糖質の多くは骨格筋と肝臓に貯蔵されている。これまでの研究で内臓脂肪の過剰蓄積だけではなく、骨格筋や肝臓への脂肪（異所性脂肪）の貯蔵がインスリン抵抗性を惹起する因子であることが報告されている。申請者は、運動トレーニングによって血中のアディポネクチン濃度が低下したのにも関わらず、インスリン抵抗性は改善することを報告しており、インスリン抵抗性の改善にはアディポネクチンよりも強い因子が存在することを示した。

一方で糖尿病患者は健常者と比較して、骨格筋の酸化リン酸化に關与する遺伝子発現の多くが低下していることから、これらのエネルギー代謝の低下が異所性脂肪の増加をもたらすインスリン抵抗性の危険因子となっている可能性がある。

酸化リン酸化のマスターレギュレーターとされる PGC-1 の遺伝子発現は、遺伝子多型 (Gly482Ser 多型) に影響を受けており、骨格筋での遺伝子発現は Ser/Ser や Gly/Ser よりも Gly/Gly が高い。また申請者らは、運動トレーニングによる LDL コレステロールの低下が Gly/Gly で大きいことを報告しており、この遺伝子多型が肝臓での脂質代謝の変化に影響する要因である可能性を示した。

2. 研究の目的

本研究では、生活習慣病とメタボリックシンドロームの改善のための運動トレーニングと、食事制限の介入を行い

(1) 肝臓内脂肪量や骨格筋内脂肪量の減少

(2) 糖代謝の改善

(3) 骨格筋ミトコンドリアの量の変化

を PGC-1 など、エネルギー代謝に關係する転写因子の遺伝子多型間で比較して、関連を調査することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 対象はメタボリックシンドロームの判定項目を1つでも満たす40歳以上の男女262名であった。対象者は無作為に運動群、食事群、併用群と観察群に分けられ、12週間のプログラムを実施した。

運動群：対象者は乳酸閾値強度で、自転車エルゴメータ、ジョギングまたはベンチステップ運動を週あたり300分実施した。そのうち120分は大学、180分は自宅で実施させた。6週目に運動負荷試験を実施して乳酸閾値を測定し、トレーニングの負荷修正を行った。

食事群：1日の摂取エネルギーを「理想体重 kg (BMI22に相当する体重) × 25kcal」に設定した。対象者は毎週の食事記録を元に週1回、管理栄養士の指導を受けた。

身体組成に關する測定項目は、身長、体重

と水中体重法による体脂肪率と除脂肪体重、CTによる内臓脂肪面積、肝臓内脂肪、大腿筋内脂肪であった。肝臓内脂肪と大腿筋内脂肪の計測にはCT画像解析ソフト (Osirix, Osirix Foundation) を用いた。

骨格筋のミトコンドリア量の評価のため、筋生検によって外側広筋から組織を得た。得られた筋組織からDNAを抽出し、ミトコンドリアDNA量の分析を行った。分析はTaqMan probeを用いたreal time PCRで行い、-Globinで標準化した。

持久力の指標として最大酸素摂取量または最大努力時酸素摂取量を測定した。

血液検査の項目は、空腹時血糖、空腹時インスリン、HbA1c、中性脂肪、HDLコレステロール、LDLコレステロール、総コレステロール、高分子アディポネクチン、TNF と IL-6 と ALT と AST であった。空腹時の血糖とインスリンから HOMA-IR と quantitative insulin-sensitivity check index (QUICKI) を算出した。また経口糖負荷試験 (OGTT) を実施して、血糖とインスリンの2時間値を測定した。

遺伝子多型解析のために、白血球からゲノムDNAを抽出した。PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型と PPAR 遺伝子 T294C 多型は PCR RFLP 法で分析を行った。

4. 研究成果

本研究の成果を横断研究と縦断研究に分けて以下に示す。なお縦断研究は遺伝子多型間で比較が可能な対象者数であった運動群と食事群に焦点を当てて報告する。

(1) PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型間で介入前の測定値を比較した。Gly/Gly、Gly/Ser と Ser/Ser の人数はそれぞれ92名、121名と49名であった。Gly/Gly+Gly/Ser の皮下脂肪面積は Ser/Ser に比べて有意に低値を示した。Gly/Gly は Gly/Ser+Ser/Ser に比べて体重、BMI が低く、HDL コレステロールと高分子アディポネクチンは高値を示した。

(2) PPAR 遺伝子 T294C 多型間で介入前の測定値を比較した。T/T、T/C と C/C の人数はそれぞれ165名、85名と12名であった。C/C は T/T と T/C に比べて AST と ALT が有意に高値で、肝臓/脾臓 (L/S) 比も有意に低い値、つまり肝臓の脂肪が多いという結果を得た

(3) 遺伝子多型の組み合わせと介入前測定値の関連性を検討するために、PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型の Gly/Gly:2、Gly/Ser:1、Ser/Ser:0、PPAR 遺伝子 T294C 多型の T/T:2、T/C:1 と C/C:0 とした Total Gene Score (TGS) との相関分析を行った。

大腿部骨格筋の脂質量の指標として用いたCT画像のHU0-29の面積とTGSには負の相関関係を認めた。またL/S比とTGSには正の

相関関係を認めたことから、これらの遺伝子多型の組み合わせによって異所性脂肪の蓄積に差が生じる可能性を示した。

(4) 運動介入によって肝臓内脂肪、骨格筋内脂肪ともに有意な減少を示した。次に異所性脂肪を含む各測定値の変化を遺伝子多型間で比較した。PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型の Gly/Gly、Gly/Ser と Ser/Ser の人数はそれぞれ 34 名、39 名と 10 名であった。Gly/Gly+Gly/Ser の OGTT 120 分の血糖値の減少は Ser/Ser に比べて有意に大きかった (図 1)。

PPAR 遺伝子 T294C 多型間の T/T、T/C と C/C の人数は 57 名、25 名と 3 名であった。T/T の総コレステロールと LDL コレステロール (図 2) の減少は T/C+C/C に比べて有意に大きかった。

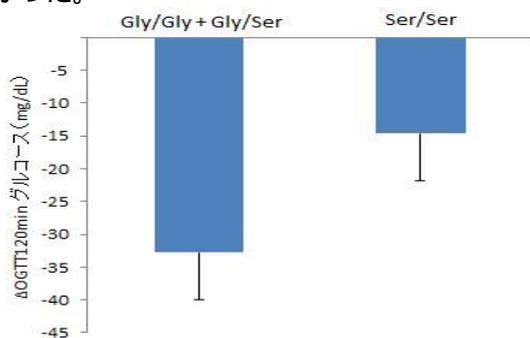


図 1 運動による OGTT 120 分の血糖の変化と PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型 (平均値 ± 標準誤差)

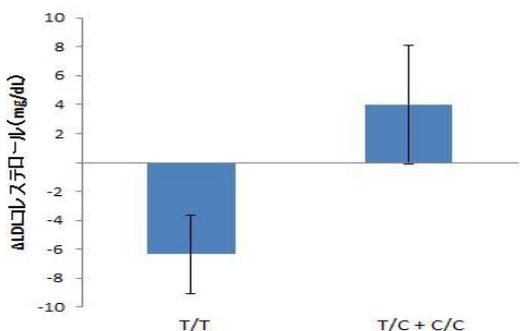


図 2 運動による LDL コレステロールの変化と PPAR 遺伝子 T294C 多型

(5) 食事制限によって肝臓内脂肪、骨格筋内脂肪ともに有意な減少を示した。次に異所性脂肪を含む各測定値の変化を遺伝子多型間で比較した。PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型の Gly/Gly、Gly/Ser と Ser/Ser の人数はそれぞれ 22 名、31 名と 18 名であった Gly/Gly の HDL コレステロールと骨格筋ミトコンドリア量 (図 3) は Gly/Ser+Ser/Ser に比べて大きく減少した。

PPAR 遺伝子 T294C 多型間の T/T、T/C と C/C の人数は 48 名、17 名と 6 名であった。C/C の空腹時血糖値の減少は T/T に比べて有

意に大きかった (図 4)。

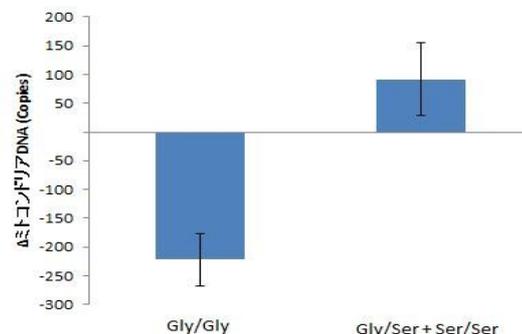


図 3 食事制限によるミトコンドリア量の変化と PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型

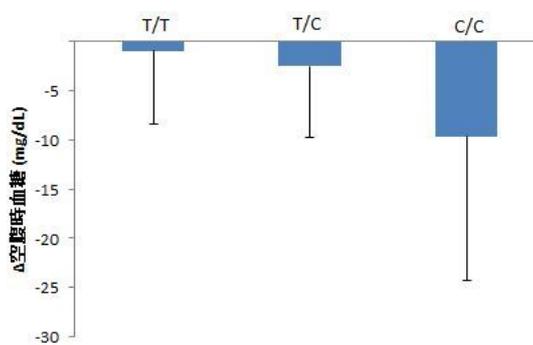


図 4 食事制限による空腹時血糖値の変化と PPAR 遺伝子 T294C 多型

(6) 研究成果のまとめ

本研究では横断研究と縦断研究から、PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型と PPAR 遺伝子 T294C 多型が異所性脂肪や身体のエネルギー代謝に及ぼす影響を調査した。これまでも Ser/Ser が糖尿病をはじめとする生活習慣病の発症に関与するという報告があり、本研究でもそれを追認する結果を得た。

PPAR は脂質代謝を調整する転写因子の 1 つで、T294C 多型と肝脂肪量に関連を認めた。これが血中の AST と ALT の差として現れた可能性があり、CT 解析と血液分析の両面からこの遺伝子多型と肝脂肪量の関係を見出すことができた。

骨格筋内脂質量と上述の遺伝子多型には単独では関連を認めなかったが、TGS では関連を認めたことから 2 つの遺伝子多型の組み合わせによって異所性脂肪の蓄積の予測に寄与できる可能性がある。

一方でこれらの遺伝子多型と運動や食事制限による異所性脂肪の変化には関連を認めなかった。本研究はメタボリックシンドロームの判定項目を 1 つでも満たす者を対象者としているため、異所性脂肪の蓄積が必ずしも多い者ばかりではないと考えられる。今後、脂肪肝の患者などで検討すると異なる結果が得られる可能性がある。

本研究では運動群と食事群に分けて検討

をしている。測定項目を介入内容で比較したところ、運動群では骨格筋のミトコンドリア量が増加したが、食事群では変化を示さなかった。運動群のミトコンドリア量の変化には本研究で焦点を当てた遺伝子多型は関与しなかったが、食事群においてのみ PGC-1 遺伝子 Gly482Ser 多型間で差を認めた。ミトコンドリアの機能がどのように変化するかを調査する必要があるが、骨格筋のエネルギー代謝を維持・向上させることを意図した場合、食事制限が必ずしも良い効果をもたらすわけではない者がいることを示したことは、今後の生活習慣病の予防や治療を行う上で有益な情報になると考えられる。

本研究では運動や食事制限による糖代謝や脂質代謝の変化に影響を与える可能性がある遺伝子多型を見出すことができた。遺伝型と表現型の関係は人種によって差が生じることもあり、今後もデータを蓄積していくことで個々の体質に適した運動や食事の調整が提供できるような情報へと繋げていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

飛奈卓郎, 塩瀬圭佑, 熊原秀晃, 吉村英一, 綾部誠也, 松田拓朗, 清永明, 桧垣靖樹, 田中宏暁. 運動または食事制限による骨格筋ミトコンドリアの変化. 第70回日本体力医学会大会 2014年

Tobina Takuro, Shiose Keisuke, Yoshimura Eiichi, Kumahara Hideaki, Ayabe Makoto, Matsuda Takuro, Kiyonaga Akira, Tanaka Hiroaki. Energy restriction attenuates exercise induced muscular mitochondrial biogenesis. 15th International Biochemistry of Exercise Conference. 2015

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ

http://sun.ac.jp/research/researcher/researcher_detail/?uid=tobitaku

6. 研究組織

(1)研究代表者

飛奈 卓郎 (TOBINA, Takuro)

長崎県立大学・看護栄養学部・講師

研究者番号: 60509678