

平成 22 年 5 月 27 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20700527

研究課題名 (和文) 脂肪細胞における新規運動特異的分子の単離・同定

研究課題名 (英文) Identification of novel exercise-specific factors in adipocytes

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)：脂肪組織で運動トレーニング (TR) によって発現が変化する遺伝子を DNA アレイで検索することにより、新しい運動効果を解明することを目的に検討を行った。その結果、コラーゲンなどの細胞外マトリックス関連分子、活性酸素合成酵素 NADPH oxidase 複合体の触媒サブユニットである NOX2 などの遺伝子発現が TR によって変化するという結果が得られた。さらに、脂肪組織中に存在し脂肪細胞に分化する脂肪組織由来幹細胞中の脂肪細胞分化関連分子の遺伝子発現が、TR によって変化することがわかった。

研究成果の概要 (英文)：In the present study, DNA array analysis was performed to identify novel genes whose expression was changed in white adipose tissue (WAT) by exercise training (TR). Expression of genes for extracellular matrix-related factors, such as collagen, and NOX2, the catalytic subunit of NADPH oxidase, in WAT was changed by TR. Moreover, TR affected the expression of adipocyte differentiation-related genes in adipose tissue-derived stem cells.

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	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：運動生理学、運動分子生物学

科研費の分科・細目：スポーツ生化学

キーワード：運動トレーニング、脂肪組織、DNA アレイ、Nox2、細胞外マトリックス、脂肪組織由来幹細胞、脂肪細胞分化

1. 研究開始当初の背景

肥満は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。日本においても2,000万人がメタボリックシンドローム、もしくはその予備軍であるといわれており、生活習慣病発症のリスクが高いと

されている。この生活習慣病の重要な原因臓器の1つに(白色)脂肪組織があり、現在、積極的な研究が行われている。運動トレーニング (TR) は、脂肪組織重量、脂肪細胞数の減少、脂肪細胞の縮小を引き起こし、肥満及び生活習慣病の改善手段として有効であ

ると認められ、広く用いられている。脂肪組織における運動効果の生理・生化学的検討は、脂肪組織中の脂肪細胞の脂肪分解反応を中心として行われてきたが、脂肪組織に対する新たな運動効果発見することは、運動の有用性を証明するために非常に重要であると考えられた。

2. 研究の目的

脂肪細胞における運動効果については、これまでに脂肪分解反応やアディポカインの発現変化などから検討がなされているが、運動によってどのような分子が変化するかを網羅的に解析した検討はなされていない。今後、肥満・生活習慣病の予防・改善手段としての運動の役割がますます重要になっていくことが予想され、それに伴い、既存の分子や反応についての検討の他に、新しい運動特異的なターゲット分子を検索することが、運動の有用性を科学的に証明するために非常に重要であると考えられた。そこで本研究は、脂肪組織における新たな運動特異的なターゲット分子を DNA アレイ法を用いて単離・同定し、TR の脂肪組織に対する新たな効果を発見することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では以下の検討を行った。(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) 脂肪組織において運動トレーニングによって変化する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。また、活性酸素合成酵素である NADPH oxidase 複合体の各サブユニットの遺伝子発現を網羅的に検討した。さらに、脂肪組織中に存在し脂肪細胞に分化する脂肪組織由来幹細胞を含む stromal-vascular fraction (SVF) 細胞における脂肪細胞分化関連遺伝子の発現解析を行った。変化のあった遺伝子について Real-time PCR 法で確認の後、特に発現の差が顕著なものについて Western blot 法でタンパク質発現を検討した。(3) 遺伝子導入脂肪細胞株の樹立: SVF 細胞において TR によって発現増加が認められた転写因子 hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) について、その全長 cDNA を用いた発現ベクターを作製した。作製した発現ベクターを C 群の SVF 細胞に導入した。さらに、HIF-1 α を導入した SVF 細胞の脂肪細胞分化関連遺伝子の発現を Real-time PCR 法で検討した。

4. 研究成果

C 群よりも TR 群の副睾丸周囲脂肪組織で発現が増加した遺伝子には、secreted frizzled-related protein 2 や solute carrier family 7 などがあつた。逆に、TR 群で発現が減少した遺伝子は、phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 2 や chemokine (C-X-C motif) ligand 2 などであつた。特に発現に差異が見られた遺伝子群に、コラーゲンやインテグリンなど細胞外マトリックス (ECM) 関連分子があつた。さらに、TR 群の副睾丸周囲及び後腹膜脂肪組織の活性酸素量は、C 群に比べて有意な低値を示したことから、NADPH oxidase 複合体の各サブユニットの遺伝子発現を網羅的に検討した。その結果、触媒サブユニットである NOX2 の遺伝子・タンパク質の発現が C 群に比べて TR 群で減少していた。また、TR 群の副睾丸周囲の脂肪組織中の SVF 細胞では、脂肪細胞の分化を制御する転写因子であるペロオキシソーム増殖剤応答性受容体 γ (PPAR γ) や脂肪合成に関与する脂肪酸合成酵素などの遺伝子発現が C 群に比べて減少し、逆に、脂肪細胞の分化を抑制すると報告されている HIF-1 α や preadipocyte factor-1 (Pref-1) の遺伝子発現が増加することがわかつた。実際、SVF 細胞の脂肪細胞への分化は TR によって抑制された。HIF-1 α の発現ベクターを導入した SVF 細胞では、PPAR γ 遺伝子の発現低下と Pref-1 遺伝子の発現増加が観察された。以上のことから、TR によって、脂肪組織の NOX2 の発現低下が起これ、この減少が酸化ストレスの減少に関与していること、SVF 細胞では脂肪細胞分化関連遺伝子の発現変化により脂肪細胞の分化抑制が起これることが示唆された。これらの結果は、脂肪組織における新しい運動効果の知見を国内外に提供できるものである。さらに、最近、肥満による脂肪組織のリモデリングにコラーゲンが関与することが報告されたことから、TR による脂肪組織のモデリングにも ECM 関連分子の発現変化が関与している可能性が考えられ、今後さらに検討していく予定である。

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 16 件)

1. Miyazaki S, Izawa T, Ogasawara J, Sakurai T, Nomura S, Kizaki T, Ohno H and Komabayashi T: Effect of exercise training on adipocyte-size-dependent expression of leptin and adiponectin. Life Sci 86: 691-698, 2010, 査読有
2. Sakurai T, Kitadate K, Nishioka H, Fujii

- H, Kizaki T, Kondoh Y, Izawa T, Ishida H, Radák Z and Ohno H: Oligomerized grape seed polyphenols attenuate inflammatory changes due to antioxidative properties in coculture of adipocytes and macrophages. *J Nutr Biochem* 21: 47-54, 2010, 査読有
3. Shirato K, Kizaki T, Sakurai T, Ogasawara J, Ishibashi Y, Iijima T, Okada C, Noguchi I, Imaizumi K, Taniguchi N and Ohno H: Hypoxia-inducible factor-1 α suppresses the expression of macrophage scavenger receptor 1. *Pflügers Arch* 459: 93-103, 2010, 査読有
 4. 大野秀樹, 櫻井拓也, 小笠原準悦, 前川剛輝, 木崎節子. β_3 -アドレナリン受容体. 『日本臨床』: 2010年増刊 肥満症[第2版]—基礎・臨床研究の進歩—: 272-276, 2010, 査読無
 5. Ogasawara J, Kitadate K, Nishioka H, Fujii H, Sakurai T, Kizaki T, Izawa T, Ishida H and Ohno H: Oligonol, a new lychee fruit-derived low-molecular form of polyphenol, enhances lipolysis in primary rat adipocytes through activation of the ERK1/2 pathway. *Phytother Res* 23: 1626-1633, 2009, 査読有
 6. Ohno H, Haga S, Takemasa T, Sakurai T, Ogasawara J, Shirato K, Ishibashi Y, Imaizumi K and Kizaki T: Swimming training prevents induction of suppressor macrophages in mice during acute exposure to cold. *Adv Exerc Sports Physiol* 15: 1-7, 2009, 査読有
 7. Sakurai T, Izawa T, Kizaki T, Ogasawara J, Shirato K, Imaizumi K, Takahashi K, Ishida H and Ohno H: Exercise training decreases expression of inflammation-related adipokines through reduction of oxidative stress in rat white adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 379: 605-609, 2009, 査読有
 8. Kizaki T, Shirato K, Sakurai T, Ogasawara J, Oh-ishi S, Matsuoka T, Izawa T, Imaizumi K, Haga S and Ohno H: β_2 -Adrenergic receptor regulates Toll-like receptor 4-induced TRIF-dependent late-phase NF- κ B activation. *Mol Immunol* 46: 1195-1203, 2009, 査読有
 9. Yamada T, Shimizu T, Sakurai T, Nanashima N, Kihara-Negishi F, Suzuki M, Fan Y, Akita M, Oikawa T and Tsuchida S: Physical and functional interactions between hematopoietic cell-specific ETS transcription factors and homeodomain proteins. *Leuk Res* 33: 483-489, 2009, 査読有
 10. Hitomi Y, Watanabe S, Kizaki T, Sakurai T, Takemasa T, Haga S, Ookawara T, Suzuki K and Ohno H: Acute exercise increases expression of extracellular superoxide dismutase in skeletal muscle and the aorta. *Redox Report* 13: 213-216, 2008, 査読有
 11. Kizaki T, Takemasa T, Sakurai T, Izawa T, Hanawa T, Kamiya S, Haga S, Imaizumi K and Ohno H: Adaptation of macrophages to exercise training improves innate immunity. *Biochem Biophys Res Commun* 372: 152-156, 2008, 査読有
 12. Kizaki T, Izawa T, Sakurai T, Haga S, Taniguchi N, Tajiri H, Watanabe K, Day NK, Toba K and Ohno H: β_2 -Adrenergic receptor regulates Toll-like receptor-4-induced nuclear factor- κ B activation through β -arrestin 2. *Immunology* 124: 348-356, 2008, 査読有
 13. Yamada T, Shimizu T, Suzuki M, Kihara-Negishi F, Nanashima N, Sakurai T, Fan Y, Akita M, Oikawa T and Tsuchida S: Interaction between the homeodomain protein HOXC13 and ETS family transcription factor PU.1 and its implication in the differentiation of murine erythroleukemia cells. *Exp Cell Res* 314: 847-858, 2008, 査読有
 14. Ohno H, Sakurai T, Hisajima T, Abe S, Kizaki T, Ogasawara J, Ishibashi Y, Imaizumi K, Takemasa T, Haga S, Kitadate K, Nishioka H and Fujii H: The supplementation of Oligonol, the new lychee fruit-derived polyphenol converting into a low-molecular form, has a positive effect on fatigue during regular track- and- field training in young athletes. *Adv Exerc Sports Physiol* 13: 93-99, 2008, 査読有
 15. 櫻井拓也, 北館健太郎, 西岡 浩, 藤井 創, 久島達也, 安部 茂, 木崎節子, 小笠原準悦, 白土 健, 石橋義永, 井澤鉄也, 今泉和彦, 鈴木健二, 中野法彦, 大野秀樹: 新規低分子化ポリフェノール Oligonol の抗酸化作用. *Food Function* 5: 2-11, 2008, 査読無
 16. 櫻井拓也, 大野秀樹, 井澤鉄也: スポーツと燃焼系サプリメント. *Functional Food* 5: 257-261, 2008, 査読無

[学会発表] (計 25 件)

1. 櫻井拓也, 小笠原準悦, 木崎節子, 石橋義永, 白土 健, 井澤鉄也, 今泉和彦, 鈴木健二, 野口いづみ, 芳賀脩光, 大野秀樹: 運動トレーニングによる肥満・生活習慣病および認知症予防効果とそのメカニズム. 文部科学省学術フロンティア研究プロジェクト「ライフステージに応じた健康増進と多様性保持」第 4 回研究会, 2010 年 1 月 6 日, 所沢
2. 小笠原準悦, 北館健太郎, 西岡 浩, 藤井 創, 櫻井拓也, 木崎節子, 井澤鉄也, 長澤純一, 斎藤大蔵, 今泉和彦, 大野秀樹: 脂肪代謝に及ぼす新規低分子化ポリフェノール (Oligonol) の効果と作用機序. 文部科学省学術フロンティア研究プロジェクト「ライフステージに応じた健康増進と多様性保持」第 4 回研究会, 2010 年 1 月 6 日, 所沢
3. 櫻井拓也, 小笠原準悦, 木崎節子, 木本紀代子, 大野秀樹: 運動トレーニングは脂肪組織由来幹細胞の脂肪細胞分化を抑制する効果をもつ. 第 38 回杏林医学会総会, 2009 年 11 月 21 日, 三鷹
4. 櫻井拓也, 小笠原準悦, 木崎節子, 大野秀樹: 運動をプローブとしたアルツハイマー型認知症予防に対する新規ターゲット分子の検索. 第 38 回杏林医学会総会, 2009 年 11 月 21 日, 三鷹
5. 櫻井拓也, 井澤鉄也, 木崎節子, 小笠原準悦, 前川剛輝, 長澤純一, 武政 徹, 芳賀脩光, 大野秀樹: 脂肪組織由来幹細胞の脂肪細胞分化に及ぼす運動トレーニングの影響. 第 64 回日本体力医学会大会, 2009 年 9 月 18-20 日, 新潟
6. 小笠原準悦, 井澤鉄也, 櫻井拓也, 木崎節子, 前川剛輝, 白土 健, 今泉和彦, 芳賀脩光, 大野秀樹: 運動トレーニングによる脂肪細胞の脂肪分解反応の亢進には adipose triglyceride lipase (ATGL) の発現変化が関与する. 第 64 回日本体力医学会大会, 2009 年 9 月 18-20 日, 新潟
7. Shirato K, Kizaki T, Sakurai T, Ogasawara J, IshibashiY, Saitoh D, Haga S, Imaizumi K and Ohno H: Hypoxia-inducible factor-1 α regulates expression of mRNA for macrophage scavenger receptor 1. International Congress of Physiological Science, July 27- August 1, 2009, Kyoto
8. Ogasawara J, Kitadate K, Nishioka H, Wakame K, Fujii H, Sakurai T, Kizaki T, Maegawa T, IshibashiY, Izawa T, Saitoh D and Ohno H: The signal transduction pathway of Oligonol-induced phosphorylation on ERK1/2 in primary rat adipocytes. 17th International Symposium of AHCC Research Association, July 25-26, 2009, Sapporo
9. 櫻井拓也, 井澤鉄也, 木崎節子, 小笠原準悦, 前川剛輝, 芳賀脩光, 大野秀樹: 脂肪組織由来幹細胞の脂肪細胞への分化は運動トレーニングによって抑制される. 第 17 回日本運動生理学会大会, 2009 年 7 月 25-26 日, 東京
10. 前川剛輝, 小笠原準悦, 井澤鉄也, 櫻井拓也, 木崎節子, 長澤純一, 芳賀脩光, 大野秀樹: 急性運動は脂肪細胞の脂肪分解反応をどのように調節するのか. 第 17 回日本運動生理学会大会, 2009 年 7 月 25-26 日, 東京
11. Sakurai T, Kitadate K, Wakame K, Nishioka H, Fujii H, Hisajima T, Abe S, Kizaki T, Ogasawara J, IshibashiY, Shirato K, Imaizumi K and Ohno H: New lychee fruit-derived polyphenol Oligonol converted into a low-molecular form improves exercise-induced fatigue. 3rd Symposium International Nutrition, Oxygen Biology and Medicine, April 8-10, 2009, Paris
12. 櫻井拓也, 井澤鉄也, 木崎節子, 小笠原準悦, 白土 健, 今泉和彦, 人見嘉哲, 中野法彦, 芳賀脩光, 大野秀樹: 脂肪組織由来幹細胞の脂肪および血管内皮細胞への分化に対する運動トレーニングの影響. 第 79 回日本衛生学会学術総会, 2009 年 3 月 29 日-4 月 1 日, 東京
13. 小笠原準悦, 櫻井拓也, 木崎節子, 石橋義永, 井澤鉄也, 鈴木健二, 大河原知水, 大石修司, 長澤純一, 大野秀樹: 急性運動による脂肪細胞の脂肪分解反応のメカニズム. 第 79 回日本衛生学会学術総会, 2009 年 3 月 29 日-4 月 1 日, 東京
14. 白土 健, 木崎節子, 櫻井拓也, 小笠原準悦, 石橋義永, 今泉和彦, 芳賀脩光, 大野秀樹: マクロファージスカベンジャー受容体 1 の発現は HIF-1 α によって調節される. 第 145 回日本体力医学会関東地方会, 2009 年 3 月 14 日, 三鷹
15. 井澤鉄也, 小笠原準悦, 木崎節子, 櫻井拓也, 大野秀樹: 運動や運動トレーニングによる β -アドレナリン受容体の適応機構. 第 23 回日本体力医学会近畿地方会, 2009 年 1 月 31 日, 吹田
16. 白土 健, 木崎節子, 櫻井拓也, 小笠原準悦, 大石修司, 松岡 健, 長澤純一, 斎藤大蔵, 今泉和彦, 大野秀樹: 低酸素誘導因子 (HIF) -1 α によるマクロファージスカベンジャー受容体の発現調節.

- 文部科学省学術フロンティア研究プロジェクト「ライフステージに応じた健康増進と多様性保持」第3回研究発表会，2009年1月6-7日，所沢
17. 木崎節子，白土 健，櫻井拓也，小笠原準悦，石橋義永，人見嘉哲，鈴木健二，芳賀脩光，今泉和彦，大野秀樹：運動トレーニングによる免疫機能の修飾：マクロファージを中心として．文部科学省学術フロンティア研究プロジェクト「ライフステージに応じた健康増進と多様性保持」第3回研究発表会，2009年1月6-7日，所沢
 18. 井澤鉄也，櫻井拓也，小笠原準悦，木崎節子，大野秀樹：脂肪細胞サイズとアディポカイン遺伝子発現との関係に及ぼす運動トレーニングの影響．文部科学省学術フロンティア研究プロジェクト「ライフステージに応じた健康増進と多様性保持」第3回研究発表会，2009年1月6-7日，所沢
 19. 人見嘉哲，木崎節子，櫻井拓也，小笠原準悦，武政 徹，神林康弘，日比野由利，芳賀脩光，中村裕之，大野秀樹：骨格筋に対する in vivo 遺伝子導入法による calcineurin 制御タンパク Rcan1 発現制御の検討．第 81 回日本生化学会大会，2008年12月9-12日，神戸
 20. 櫻井拓也，井澤鉄也，木崎節子，小笠原準悦，白土健，石橋義永，今泉和彦，武政 徹，長澤純一，芳賀脩光，大野秀樹：運動トレーニングは脂肪組織由来幹細胞の脂肪細胞への分化を抑制する．第6回日本予防医学会学術総会，2008年11月29-30日，東京
 21. 小笠原準悦，櫻井拓也，木崎節子，大野秀樹：脂肪細胞の β -アドレナリン受容体の運動による発現変化とユビキチンプロテアソームの役割．第37回杏林医学会総会，2008年11月15日，三鷹
 22. 小笠原準悦，櫻井拓也，白土健，木崎節子，井澤鉄也，長澤純一，今泉和彦，大野秀樹：急性運動と脂肪細胞のホルモン感受性リパーゼの発現変化．第63回日本体力医学会大会，2008年9月18-20日，別府
 23. 小笠原準悦，櫻井拓也，白土健，木崎節子，今泉和彦，井澤鉄也，大野秀樹： β 作動性脂質代謝とユビキチン．第1回脳・神経・内分泌から運動の意義を考える会，2008年9月17日，別府
 24. Ogasawara J, Sakurai T, Kitadate K, Nishioka H, Fujii H, Shirato K, Ishibashi Y, Kizaki T, Izawa T, Saitoh D, Imaizumi K and Ohno H: Effect of Oligonol on lipolysis in primary rat adipocytes. Functional Polyphenol Symposium ~ Novel Use of Low Molecular Polyphenol: Oligonol ~, July 25, 2008, Sapporo
 25. 櫻井拓也，北舘健太郎，西岡 浩，藤井創，久島達也，安部 茂，木崎節子，小笠原準悦，白土 健，石橋義永，井澤鉄也，今泉和彦，石田 均，大野秀樹：ライチ由来新規低分子化ポリフェノール Oligonol は疲労改善効果をもつ．国際食品機能学会 2008，2008年5月21日-23日，東京
- 〔図書〕(計2件)
1. 櫻井拓也．運動と骨髄と免疫．ナップ，運動と免疫，2009，p.66-69.
 2. 櫻井拓也，大野秀樹．運動と白色脂肪組織と免疫．ナップ，運動と免疫，2009，p.86-92.
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