

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 9 月 3 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16522

研究課題名(和文)運動強度に着目した異所性脂肪蓄積、インスリン抵抗性改善メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of ectopic fat accumulation and insulin resistance improvement mechanism focusing on exercise intensity.

研究代表者

竹野 景海 (Takeno, Kageumi)

順天堂大学・医学部・非常勤助教

研究者番号：50459062

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病の治療・予防として運動療法があるが運動強度の違いによる骨格筋蓄積への与える影響は不明点が多い。被験者を低強度と高強度運動群にランダムに分け、消費エネルギーを同一となるよう運動を5日連続実施した。運動期間の前後でインスリンの効きやすさや脂肪筋量等の評価や筋生検を実施した。脂肪筋量は低強度運動群でほとんど変化はなく、高強度運動群では介入前に比べ介入後は増加した。インスリンの効きやすさは両群共に介入前に比較して改善した。筋生検サンプルの質量解析からは低強度運動群と高強度運動群により蓄積する脂肪成分・質量は異なっていた。以上より運動強度の違いで脂肪筋の成分・質量は異なる特徴的变化が確認された。

研究成果の概要(英文)：Although there is exercise therapy as treatment and prevention of diabetes, the influence on intramyocellular lipid (IMCL) due to difference in exercise intensity is unclear. We recruited 20 men and randomly assigned to low intensity exercise(LIE) or vigorous intensity exercise (VIE) group. Each group performed with ergometer for 5 consecutive days. Before and 3-day after completion of protocol, Insulin resistance (IR) was evaluated by glucose clamp. IMCL was measured by 1H-MRS. Both exercise protocol improved IR. IMCL level did not notice any significant change in LIE group, that in VIE group increased from baseline. These data suggested exercise intensity is a determinant of change of IMCL. From the mass analysis of the muscle biopsy sample, the fat component / mass accumulated by LIE and VIE group were different. Based on these findings, it was confirmed that the fat mass components and mass differed differently due to differences in exercise intensity.

研究分野：インスリン抵抗性

キーワード：骨格筋細胞内脂質 運動強度 インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

運動が糖尿病や動脈硬化発症を予防することは、現在までの疫学的研究や前向き介入研究により立証されてきている。その結果を元にして、我が国においてもエクササイズガイドが作成され、健康を維持するために必要な運動の「強度」や「量」が提示されてきた。しかしながら、糖尿病診療の現場においても歩数をはじめとした「量」を中心とした指導が多くなされているのが実情であり、「強度」についてはあまり指導されていない傾向がある。また健康日本21の目標値も「歩数を増やす」ことが目標として強調されているものの、強度についてはほとんど言及されていない。このように運動強度に基づいた指導がなされない原因として、“高強度”の運動がリスクの面で実行しづらいことに加え、トータルの“身体活動量”が同程度であれば、「強度」がそれ程強くなくても効果には大きな差は無いであろうと推測されてきたからである。しかしながら、近年の大規模調査により、その推測を否定する結果が得られ始めている。例えば台湾で行われた約42万人を対象とした疫学調査では運動内容が高強度(vigorous)であると、量依存的に死亡率が低下したが、中等度(moderate)ではそのような傾向が認められないことが明らかとなった。このように、運動の強度が糖尿病患者における死亡率や糖代謝と関連することが明らかとなったが、その因果関係やメカニズムについては不明な点が多く残されており、今後の検討が必要であると考えられる。この点に関して、我々の研究グループでは proton magnetic resonance spectroscopy(^1H -MRS)による骨格筋細胞内脂質の測定と高インスリン正常血糖

クランプ法によるインスリン感受性の測定を駆使し、健常者からスポーツ選手、糖尿病患者まで数百例に上る症例を対象に測定を行った。その結果、低強度の身体活動は、骨格筋細胞内脂質を減少させインスリン抵抗性を改善する一方で、持続的な中～高強度の運動は、骨格筋細胞内脂質を増加させながらも、インスリン感受性を良好に保つという、運動強度により相反的な生理学的反応が生じる可能性が示された。しかしながら、なぜこのような相反的な現象が生じるのかは、ほとんど明らかになっていない。

2. 研究の目的

このような研究背景から本研究では、エネルギー消費量が同じであるが強度が異なる運動が筋インスリン抵抗性・骨格筋細胞内脂質へ与える影響を明らかにすることを目的とした。

また、得られたヒトの骨格筋生検サンプルをリポドーム、マイクロアレイ解析し、in vitro, in vivo による機能解析を通し、適切な「運動強度」とそれを裏付けるメカニズムが明らかとする。係る結果は今後の運動強度に着目した予防施策を講じる重要なエビデンスの一つとなることが期待される。

テーマ 低強度の運動の運動は骨格筋細胞内脂質を減少させ、中～高強度の運動では増加させるメカニズムを明らかとする、
テーマ 中～高強度の運動では骨格筋細胞内脂質の蓄積が生じるにも関わらず、インスリン抵抗性が生じないメカニズムを明らかとする、
に関連する候補遺伝子を抽出し、その遺伝子の強制発現系や発現抑制系を用いることにより、分子メカニズムを確定し、予防医学における運動強度に関するエビデンスの基礎データを構築する

3. 研究の方法

満 20 歳以上の習慣的な運動を行っていない下記の条件を満たした健常者 20 名を募集し、同意が取得された被験者を登録する。年齢 20-50 歳の男性 定期的運動習慣が週 1 回以下 下記のリスクファクターを少なくとも一つ持ち、かつ、HOMA-IR 1.6 の者 ・脂質 TG 150mg/dL or HDL <40mg/dL

・ 血圧 SBP 130mmHg or DBP 85 mmHg

・ 空腹時血糖 110mg/dL

初回検査日に安静時の心拍数、血圧測定、を行い、その後体重と体脂肪量の測定、¹H-MRS 法による前脛骨筋、ヒラメ筋における細胞内脂質の定量、MRI による腹腔内脂肪・皮下脂肪量の定量を行った。その後、使い捨て生検針を用いて筋生検及び脂肪生検を施行した。筋生検終了後、安定同位体 [6,6-²H₂]glucose を用いた高インスリン正常血糖クランプ検査(インスリン注入速度 20mU/m²/min)により、肝臓、骨格筋のインスリン抵抗性を判定する。また、別

日に 75g 経口糖負荷試験、最大酸素摂取量を測定し、その後 5 日間、運動の介入を行った。計画としては運動量が 1 日あたり 300kcal と同等になるようにし、測定した最大酸素摂取量 (VO₂max) とその時点の負荷を用いて、VO₂max 時の 40% 負荷となる低強度運動と、70% 負荷となる高強度運動を、介入として施行した。5 日間の運動介入後に再度初回検査と同様の手順で検査を行い Primary な評価項目を骨格筋細胞内脂質蓄積とインスリン抵抗性として、生理学的な変化を評価した。

また骨格筋生検サンプルの解析データを整理し、テーマ に関して検討する。

得られたサンプルを用い、骨格筋 RNA を抽出しマイクロアレイ解析を行うと同時に、

リピドームによる代謝産物の解析を行う。リピドーム解析においては、fatty acyls, glycerolipids, glycerophospholipids, sphingolipids, sterol lipids, prenol lipids に分類される 600 の代謝産物を網羅的に測定する。これらの解析から、テーマ、テーマに関連する候補遺伝子 10 程度まで絞り込む。(遺伝子の機能解析) 解析から得られる候補遺伝子を関与が強く示唆された遺伝子から順に、アデノウイルス発現ベクターと shRNA 発現抑制ベクターを作成する。その後、マウス骨格筋由来細胞株 C2C12 細胞にアデノウイルスを感染させ候補遺伝子の細胞での機能について検討を行う。細胞内脂質蓄積を Oil-O-Red 染色で、インスリン感受性は 2-[³H]deoxy-D-glucose の取り込みで評価する。

4 . 研究成果

選出された 20 名に対して低強度運動群 11 名、高強度運動群 9 名に無作為割り付けが行われた。低強度運動群の平均年齢は 39.7 歳、BMI 28.0kg/m²、高強度

運動群の平均年齢は 33.5 歳、BMI 29.5kg/m² で、その他体脂肪率、空腹時血糖値、脂質パラメータ、運動能力 (最大酸素摂取量) に関しても両群間に差は認められなかった。運動介入後の結果、安定同位体を使用した高インスリン正常血糖クランプ検査にて測定した骨格筋インスリン感受性は、両群共に介入前に比較して改善

を認めた (低強度群 1.88 ± 0.57 3.13 ± 1.06 mg/kg/min $P=0.006$, 高強度群 2.58 ± 1.72 3.13 ± 1.32 mg/kg/min $P=0.022$)

一方で、骨格筋細胞内脂質は、5 日間の介入により、低強度運動群はほとんど変化

を認めなかったのに対し、大変興味深いことに、高強度運動群では介入前に比べ介入後には 1.19 倍以上の増加を認めた(図1)。また安定同位体を使用した高インスリン正常血糖クランプ検査で測定した肝インスリン感受性は介入前後で両群ともに変化なかった(低強度群 72.0 ± 11.8 $78.4 \pm 8.35\%$ $P=0.74$, 高強度群 67.1 ± 14.1 $74.7 \pm 14.9\%$ $P=0.125$)。

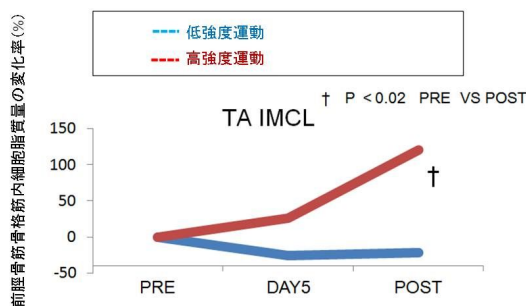


図1 . 骨格筋内細胞脂質の介入前後の結果

リピドーム解析

骨格筋サンプルを用いたリピドーム解析より、運動の介入前後で低強度ではリン脂質の幾つかの分画で変化を認めた.高強度では、同様の分画と、それとは違う分画で変化を認めた。

現在までの既報では、いずれの運動強度でも、介入によりインスリン感受性は改善する傾向が示されており、本研究でも同様の結となった。一方で、インスリン感受性との相関が示唆されている骨格筋細胞内脂質に関しては、高強度の運動介入では増加する傾向であるのに対し、低～中強度の運動介入では不変もしくは減少する傾向にあると報告されている。しかしながら、これらは対象・期間・食事調整・測定している骨格筋、運動消費量が異なり、同一条件下

のもとで、異なる運動強度による骨格筋内細胞内脂質量やメタボローム解析をみた報告はなされておらず、本研究が初めての報告になる。

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 0 件)

[学会発表](計 2 件)

1. 船山 崇, 田村 好史, 竹野 景海, 川口美奈子, 渡邊 隆宏, 加賀 英義, 古川 康彦, 鈴木 瑠璃子, 山本 理紗子, 笈 佐織, 藤谷与士夫, 河盛 隆造, 綿田 裕孝

同一消費熱量運動実施下における運動強度差がインスリン抵抗性と異所性脂肪に及ぼす影響について

第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会, 東京第一ホテル下関、下関、山口県(日本) 2015 年 5 月

2. Funayama T , Tamura Y , Takeo K , et al: Role of exercise intensity on intramyocellular lipid level after exercise in subjects with moderate insulin resistance.

American Diabetes Association 75th Scientific Sessions. Boston, USA 2015 年 6 月

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類：

番号：

出願年月日：

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〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

竹野 景海 (Takeno Kageumi)

順天堂大学・医学部・非常勤助教

研究者番号：50459062

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()