

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590396
 研究課題名（和文）カロリー制限による SREBP1/LXR を介した細胞傷害・炎症抑制および代謝の変化
 研究課題名（英文）Suppressed cellular damage and inflammation, and altered metabolism by caloric restriction via SREBP1/LXR
 研究代表者
 樋上 賀一（HIGAMI YOSHIKAZU）
 東京理科大学・薬学部・教授
 研究者番号：90253640

研究成果の概要：

カロリー制限（CR）による抗老化・寿命延長作用のメカニズムとして、白色脂肪組織の形質変化（脂肪細胞の小型化、代謝の活性化、炎症の抑制）が重要であり、さらにこの形質変化に sterol regulatory element binding protein（SREBP）1c が関与している可能性を検証した。CR を行った SREBP1c ノックアウトおよび野生型マウスの解析から、CR による白色脂肪組織の形質変化のうち SREBP1c により制御されていると考えられる 4 つの遺伝子群を同定した。加えて、108 週齢現在、自由摂食群、CR 群とも、SKO マウスの生存率が抑制されており、また CR に伴う最大体重の減少率が SKO マウスにおいて抑制されているようであった。今後、さらなる検討が必要であるが、本研究成果は CR の作用の一部に SREBP1c が関与している可能性を強く支持するものである。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
19 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
20 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：老化、寿命、カロリー制限、SREBP1、ノックアウトマウス、脂肪組織

1. 研究開始当初の背景

実験動物における若年時からの適度なカロリー制限（CR）は、様々な疾患や生理的老化現象を抑制し、寿命を延長する。しかしながら、CR の分子メカニズムの詳細は未だ明らかになっていない。我々は、CR の作用が成長ホルモン（GH）/インシュリン様成長因子（IGF）-1 抑制依存性および非依存性に制御されてい

ること、CR による GH/IGF-1 非依存性のメカニズムとして、白色脂肪組織（WAT）の形質変化（脂肪細胞の小型化、代謝の活性化、炎症の抑制）が重要である可能性、さらに CR による WAT の形質変化に、転写因子である sterol regulatory element binding protein（SREBP）1 および liver X receptor（LXR）が関与している可能性を示した。

2. 研究の目的

本研究では、CR を行った SREBP1 ノックアウト(KO)および LXR KO マウスを詳細に解析する事により、CR による WAT の形質変化、加齢に伴う細胞傷害・炎症状態、疾患発症の抑制、寿命延長における SREBP1 および LXR の重要性を明らかにする。そして、将来、CR による白色脂肪組織の形質変化を模倣する事で、疾患予防、長寿が期待できる遺伝子改変マウスを新規に作製し、さらに老化や寿命、老年病・生活習慣病を制御するための薬剤の開発につなげたい。

3. 研究の方法

(1) 我々は以前、DNA マイクロアレイ法を用いて、ラット白色脂肪組織において CR により発現が増加する遺伝子群を同定している。このデータを基に、CR により発現が増加する遺伝子群のうちその転写開始点近傍に SREBP1 結合領域を有する遺伝子群を同定した。

(2) 以下①-④の計 4 群、各群 30-32 匹ずつのマウスを飼育し、そのうち 20 匹(実験群)を 8 ヶ月齢で屠殺、実験に必要な臓器を採取、保存した。今後、様々な解析に使用する。残り各群 10-12 匹は死亡するまで飼育し(寿命集団)、死亡時解剖を行い、病理所見を解析した。

①SREBP1 KO マウス自由摂食群(SKO/AL)

②12 週齢から摂取カロリーを自由摂食群の 60-70%に制限した SREBP1 KO マウスカロリー制限群(SKO/CR)

③野生型(SREBP1 KO マウスのコントロール)マウス自由摂食群(SWL/AL)

④野生型 CR 群(SWL/CR)

なお、研究計画書に記載した LXR KO マウスについては、平成 19 年 4 月 1 日付けで研究代表者が長崎大学から東京理科大学に移動した事、異動後の研究室のセットアップに時間を要した事などにより、マウスの飼育に至っておらず、このマウスの解析を断念した。

(3) KO マウス基礎データの収集(採取した各臓器での SREBP1a、1c、2 等の遺伝子発現レベルの定量)。

(4) SKO/AL 群、SKO/CR 群、SWL/AL、SWL/CR 群の精巣周囲白色脂肪組織において、(1)で CR により発現が増加する遺伝子のうち SREBP1 の関与が示唆される遺伝子群の mRNA 量を real-time RT-PCR 法にて定量した。

4. 研究成果

(1) CR により発現が増加する遺伝子のうちその転写開始点近傍に SREBP1 結合配列である SRE (Sterol Regulatory Element) 様配列を有する遺伝子として、hexokinase 2、LDL receptor、protein phosphatase 1、

regulatory subunit 3B、ATP citrate lyase を同定した。

(2a) SKO/AL、SKO/CR、SWL/AL、SWL/CR 群の寿命を解析した。108 週齢現在で生存率は各々 33%、55%、67%、80%で、SKO 群の寿命が AL 群、CR 群とも有意に短いようである。

(2b) 飼育期間中の最大体重は、SKO/AL 群 35.9±5.4g、SKO/CR 群 26.8±2.0g、SWL/AL 群 34.2±4.8g、SWL/CR 群 22.0±1.9g であり、自由摂食群では SREBP1 ノックアウトの影響は見られなかった。しかし、CR に伴う体重比 (CR/AL) は SKO で 74%、SWL で 64%であり、CR が最大体重に及ぼす影響は SREBP1 ノックアウトにより抑制されているようであった。

(2c) 8 ヶ月齢の SKO/AL 群、SKO/CR 群、SWL/AL 群、SWL/CR 群を各群 20 匹ずつ屠殺し、血液、白色脂肪組織、褐色脂肪組織、肝臓、骨格筋、心臓など、解析に必要な主要臓器を採取した。

(3) 白色脂肪組織において SREBP1a は CR により特に摂食後に、野生型、KO にかかわらず増加した。一方、SREBP2 は CR により摂食前後にかかわらず、野生型および KO マウスとも増加したが、SREBP1c ノックアウトにとりなう明らかな SREBP1a、SREBP2 の代償反応は観察されなかった。

(4) (1) において同定された 4 つの遺伝子では、野生型では CR により発現が増加するが、KO では CR による発現増加が摂食後もしくは摂食前のいずれかにおいて抑制されていた。

(5) 今後、さらなる検討が必要であるが、本研究成果は CR の作用の一部に SREBP1c が関与している可能性を強く支持するものである。

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

仲條 良和、沖田 直之、伊藤 麻希子、鈴木 智典、宮崎 智、樋上 賀一、カロリー制限時の白色脂肪組織における Srebp-1 支配的遺伝子発現変動の網羅的解析、第 32 回日本基礎老化学会、横浜、平成 21 年 6 月 19、20 日 (発表予定)

[図書] (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋上 賀一 (HIGAMI YOSHIKAZU)

東京理科大学・薬学部・教授

研究者番号：90253640

(2) 研究分担者

沖田 直之 (OKITA NAOYUKI)

東京理科大学・薬学部・助教

研究者番号：60453841

(3) 連携研究者

下川 功 (SHIMOKAWA ISAO)

長崎大学・医歯（薬）学総合研究科・教授

研究者番号：70187475

千葉 卓哉 (CHIBA TAKUYA)

長崎大学・医歯（薬）学総合研究科・助教

研究者番号：40336152