

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月8日現在

機関番号：82611

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700664

研究課題名（和文）脂肪組織の可塑性とアドレナリン受容体・グルココルチコイド受容体発現との関連

研究課題名（英文）

Association between plasticity of adipose tissue and expression of adrenergic receptor and glucocorticoid receptor

研究代表者

谷端 淳 (TANIHATA JUN)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部・流動研究員

研究者番号：00508426

研究成果の概要（和文）：

β_2 アゴニスト・clenbuterol (CLE) と合成グルココルチコイド・dexamethasone (DEX) が白色脂肪、褐色脂肪の各種アドレナリン受容体、グルココルチコイド受容体、各種脱共益型蛋白質 (UCP) mRNA 発現に及ぼす影響を検討した。また、これら受容体発現と脂肪組織の可塑性との関連を合わせて検討した。CLE 投与により白色脂肪のみ減少したが、DEX 投与では白色脂肪組織である腎周囲脂肪と褐色脂肪の重量は減少した一方で白色脂肪組織の精巣周囲脂肪の重量は増加した。これら応答性の違いと各種アドレナリン受容体、グルココルチコイド受容体、UCP mRNA 発現パターンは脂肪タイプに依存していることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

We studied the effects of clenbuterol (CLE) and dexamethasone (DEX) (each dose=1mg/kg body weight per day for 10 days) on the mRNA expressions of β_1 -, β_2 - and β_3 -adrenergic receptor (AR), glucocorticoid receptor and uncoupling protein (UCP)-1, 2 and 3 in periepididymal (PED), perirenal (PRE) and brown adipose tissues. CLE significantly decreased the relative weight of PED and PRE adipose tissues per body weight without changing that of brown adipose tissue. On the other hand, DEX increased the relative weight of PED and brown adipose tissues per body weight, and decreased that of PRE adipose tissue per body weight. These results suggest that the effects of CLE and DEX on the mRNA expressions of β -ARs, GR, and UCPs and adipose tissue mass depend on the type of adipose tissues.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,700,000	510,000	2,210,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：運動生理学、分子生物学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：クレンブテロール、デキサメタゾン、脂肪分解、アドレナリン受容体、脱共益型タンパク質

1. 研究開始当初の背景

肺や肝臓ではグルココルチコイドが細胞

膜を通過すると、細胞膜内にあるグルココルチコイド受容体 (glucocorticoid receptor:

GR)と複合体を形成することによって核内へ移行し、 β_2 -アドレナリン受容体(adrenoceptor: AR)遺伝子のプロモーター領域にあるグルココルチコイド応答配列(glucocorticoid response element: GRE)に作用することによって β_2 -AR遺伝子の転写を促進する。

ラットにClenbuterol (CLE)を投与すると速筋特異的に筋重量及びRNA濃度が増加し、その受容体である β_2 -AR mRNA発現量が減少する。また、その発現調節に関与するGR mRNA発現量も減少する。一方、Dexamethasone (DEX)をラットに投与すると筋重量及びRNA濃度が減少し、その程度は速筋>遅筋の順となるのに対し、GR mRNAの発現量の減少程度は遅筋>速筋の順となる。また、 β_2 -AR mRNAの発現量は遅筋特異的に減少する。

一般に、DEXとCLEは腎周囲脂肪重量を減少させるが、精巣周囲脂肪重量はCLE投与で減少、DEX投与で増加する。これら異なった応答に β_2 -ARおよびGRの発現が応答するかについては明確でない。また、 β_2 -ARやGRの下流のシグナルが如何に応答するかも明確ではない。そこで本研究では、この現象の実体を解明し、脂肪組織の可塑性機構を明らかにすることを目的とした。これらの知見を健康科学やスポーツ科学の分野に応用することを目指している。

2. 研究の目的

国際オリンピック委員会(International Olympic Committee: IOC)がドーピング禁止薬物として指定している β_2 -アゴニストのクレンブテロール(clenbuterol: CLE)を投与すると筋タンパク質合成速度が高まり骨格筋の肥大を惹起することはよく知られている。この薬物は2009年8月Berlinで開催された世界陸上3000m障害の選手の尿中から検出されたことから、スポーツ界で筋出力系を向上させるために日常的に検出される薬物の一つとなっている。一方、抗炎症薬として知られている合成グルココルチコイド・デキサメタゾン(dexamethasone: DEX)を生体に投与(=摂取)すると筋タンパク質分解速度が高まり筋萎縮が惹起されることもよく知られている。これら二種類の薬物は骨格筋の容積に対して筋タンパク質の合成と分解系の動的平衡が反対の働きを持つのに対し、腎周囲脂肪組織では共に脂肪分解を惹起することが明らかにされている。しかし、精巣周囲脂肪組織ではCLE投与により脂肪分解が、DEX投与により脂肪合成が惹起されるという報告もあり、各種脂肪組織に対するCLEとDEXによる応答性については系統的に明らかにされていない。これらの不明な点を明らかにすることは、体力科学、運動生理学、予防医学等の観点からみて重要である。そこで本研

究ではラットにCLEとDEXを各々投与することによって惹起される脂肪組織における可塑性(肥大・萎縮)の応答特性を明らかにするため、各種脂肪組織におけるアドレナリンとグルココルチコイドの受容体の遺伝子発現およびその下流のシグナル分子に対する両薬物の影響を検討する。

3. 研究の方法

ラットにCLEとDEXを単独に投与すると脂肪分解が惹起され、hormone sensitive lipase (HSL)の活性化によりtriglycerideがglycerolとfree fatty acidに分解される。また、DEX投与によってcAMPの上昇とprotein kinase A (PKA)の活性化を介してHSLの活性化が惹起され、脂肪分解が起こり、DEX投与により精巣周囲脂肪組織では脂肪重量が増加する。これら脂肪組織における可塑性の応答に対して各種受容体の遺伝子発現応答が如何に関わっているか明らかとなっていない。そこでCLEとDEXを各々単独に投与することによって腎周囲脂肪と精巣周囲脂肪において各種 β -ARおよびGRの発現が如何に変動するかを明らかにする。さらに、褐色脂肪組織における各種受容体の遺伝子発現についても相互に比較・検討した。

約7週齢のSprague Dawley (SD)系雄性ラットにCLE/DEXをそれぞれ1.0mg/kg BW/dayの割合で10日間投与した後、腎周囲脂肪組織と精巣周囲脂肪組織および褐色脂肪組織を摘出・秤量し、以後の測定試料に供する(図1)。測定には白色脂肪組織と褐色脂肪組織の各種 β -ARおよびGRの遺伝子発現に加えて、褐色脂肪組織において熱産生・脂肪分解に関与しているとされているuncoupling protein (UCP)の発現をmRNAとタンパク質の各レベルで解析する。

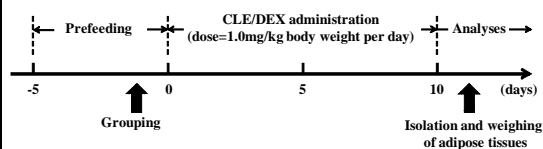


図1 Experimental protocol

さらに肥満ラットでは脂肪組織において脂肪分解シグナルに対する感受性が低下することが知られている。しかし、肥満ラットの脂肪組織で各種受容体の発現がどのように変化するか、また、肥満ラットにDEXを単独に投与すると脂肪組織の可塑性及び各種受容体の発現が如何に変化するのかについては明らかになっていない。肥満ラットを作成するため、約3週齢SD系雌性ラットに高脂肪食を与え、肥満を惹起させた後、約7週齢時に実験に使用する。肥満したラットにDEXを1.0mg/kg BW/dayのdoseで10日間投与した後、腎周囲脂肪組織、精巣周囲脂肪組

織、褐色脂肪組織を摘出・秤量し、以後の測定試料に供する。

4. 研究成果

CLE 投与により体重あたりの褐色脂肪重量は変化しないが、PED, PRE の重量を著しく減少させる。CLE 投与により褐色脂肪の GR mRNA 発現量を増加させるが PED, PRE の各種 β -AR mRNA 発現には影響を与えなかった。一方、DEX 投与により体重あたりの PED, 褐色脂肪重量は増加し、PRE 重量は減少した。DEX 投与により 3 種類の脂肪組織で β_1 -AR mRNA の発現は増加、PED と褐色脂肪で β_2 -AR mRNA の発現は減少、褐色脂肪で β_3 -AR mRNA の発現は増加、PRE と褐色脂肪で GR mRNA の発現は増加していた。以上の結果を Table 1 に示す。

Table 1 Summary of the effects of CLE and DEX on the relative weight, RNA concentration and the mRNA expressions of β_1 , β_2 - and β_3 -AR and GR in the PED, PRE and brown adipose tissues.

	CLE			DEX		
	PED	PRE	Brown	PED	PRE	Brown
Weight/body weight	↓ (0.83)	↓ (0.79)	n.s. (0.91)	↑ (1.65)	↓ (0.67)	↑ (2.85)
RNA concentration	n.s. (1.04)	n.s. (1.08)	↑ (1.27)	↓ (0.80)	↑ (1.30)	↓ (0.59)
β_1 -AR mRNA	n.s. (1.04)	n.s. (1.27)	n.s. (1.78)	↑ (2.15)	↑ (3.14)	↑ (4.68)
β_2 -AR mRNA	n.s. (0.91)	n.s. (0.82)	n.s. (1.17)	↓ (0.53)	n.s. (1.37)	↓ (0.32)
β_3 -AR mRNA	n.s. (1.46)	n.s. (0.69)	↑ (4.35)	n.s. (1.24)	n.s. (1.17)	↑ (4.27)
GR mRNA	n.s. (0.95)	n.s. (0.84)	↑ (5.92)	n.s. (1.02)	↑ (3.83)	↑ (2.56)

Values in parentheses are shown as the relative ratio of the CLE/DEX group to the CON group. Up arrow: significantly higher in the CLE/DEX group than in the CON group. Down arrow: significantly lower in the CLE/DEX group than in the CON group. n.s.: not significant between the CLE/DEX group and the CON group.

CLE 投与により PED では UCP2, UCP3 mRNA の発現が有意に減少したが、PRE では各種 UCP mRNA の発現量に変化は認められなかった。同様に褐色脂肪でも各種 UCP mRNA の発現量に変動は認められなかった。一方で DEX 投与により PED では UCP1 mRNA の発現に変化はなく、UCP2 mRNA の発現は減少、UCP3 mRNA は増加していた。PRE では UCP1, UCP2 mRNA の発現量には変化が認められず、UCP3 mRNA の発現は有意に増加していた。褐色脂肪では UCP1 mRNA の発現には変化が見られなかったが、UCP2 mRNA の発現は減少、UCP3 mRNA の発現は有意に増加していた。以上の結果を Table 2

Table 2 Summary of the effects of DEX and CLE on the relative weight, RNA concentration and the mRNA expressions of UCP1, UCP2 and UCP3 in PED, PRE and brown adipose tissues.

	DEX			CLE		
	PED	PRE	Brown	PED	PRE	Brown
Weight/body weight	↑ (1.65)	↓ (0.67)	↑ (2.85)	↓ (0.83)	↓ (0.79)	n.s.
RNA concentration	↓ (0.80)	↑ (1.30)	↓ (0.59)	n.s.	n.s.	↑ (1.27)
UCP1 mRNA	n. d.	n. d.	n. s.	n. d.	n. d.	n. s.
UCP2 mRNA	↓ (0.66)	n. s.	↓ (0.51)	↓ (0.70)	n. s.	n. s.
UCP3 mRNA	↑ (3.83)	↑ (4.95)	↑ (3.08)	↓ (0.71)	n. s.	n. s.

Values in parentheses are shown as the relative ratio of the DEX/CLE group to the CON group. Up arrow: significantly higher in the DEX/CLE group than in the CON group. Down arrow: significantly lower in the DEX/CLE group than in the CON group. n.s.: not significant between the DEX/CLE group and the CON group. n.d.: not detected.

に示す。

以上の結果より、CLE 投与によって惹起される脂肪分解反応には直接的な受容体である β_2 -AR mRNA の発現に変化は認められないことから、その下流のシグナル分子の応答が影響していることが示唆された。今後は下流シグナルの cAMP, HSL, PKA 等の分子の動態を負う必要がある。一方で DEX 投与によって惹起される脂肪組織の可塑性は同じ脂肪組織でも応答性が異なり、その違いは直接的な受容体の GR mRNA の発現応答に関与している可能性が示された。本実験では DEX 投与の有無で GR mRNA の発現量の増減を検討したが、通常時の GR のタンパク質量が PED と PRE とで異なるか否かを確認しておく必要がある。また、GR mRNA の発現量の増加と cAMP, HSL, PKA 等の分子の動態とのかかわりを更に検討する必要がある。

また、肥満ラットを用いて DEX 投与の実験を行ったが正常ラットを用いて行った時とほぼ同様の傾向が示されたが、その程度は比較的軽く、DEX に対する感受性の低下が示唆された。この感受性の低下が GR タンパク質レベルの発現量の低下か、GR と DEX との結合力の低下か否かも併せて検討していく必要がある。また、肥満ラットに CLE 投与した際の応答性が DEX 投与と異なるかどうか併せて検討していきたい。

本研究より脂肪組織の可塑性は同じ白色脂肪組織内でも異なることが示され、その応答に各受容体の関与の有無が異なることが新たに示された。また、脂肪重量に関して同様の応答を示した場合でも脂肪分解に関する分子である各種 UCP の発現応答が異なること、白色脂肪組織と褐色脂肪組織とでは応答が全く異なることを示した。

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)

[学会発表] (計 3 件)

① 齊藤 崇、永田哲也、青木吉嗣、谷端 淳、増田 智、本橋裕子、横田俊文、武田伸一、患者由来細胞を用いたデュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソン・スキッピング治療の開発、第 32 回 日本臨床薬理学会年回 シンポジウム 2 「ヒト組織を用いた臨床薬理学研究の発展」、2011 年 12 月 1 日、浜松

② 青木吉嗣、横田俊文、永田哲也、谷端 淳、齊藤 崇、中村昭則、Eric Hoffman、Terence Partridge、武田伸一、モルフォリノを用いたエクソン 45-55 ブロックスキップにより Duchenne 型筋ジストロフィーマウスの筋病理と筋機能は改善する、第 6 回 筋ジストロフィー治療研究合同発表会、2011 年 11 月 5

日、熊本

③谷端 淳、佐藤章悟、立屋敷かおる、今泉和彦、Effects of dexamethasone on the expression of beta adrenoceptors and glucocorticoid receptor mRNAs in white and brown adipose tissues of rats、日本生理学会、2010年5月21日、盛岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷端 淳 (TANIHATA JUN)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 流動研究員

研究者番号：00508426