

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591342

研究課題名(和文) AMPD1による新規骨格筋インスリン感受性調節機構に関する基礎的検討

研究課題名(英文) AMPD1 plays a role in the regulation of insulin sensitivity.

研究代表者

平瀬 徹明 (HIRASE, Tetsuaki)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：60363446

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋は、インスリンの最大の標的臓器のひとつとして糖・脂質代謝調節に重要な役割を果たす。骨格筋インスリン感受性の低下は、糖尿病の病因において重要である。骨格筋に選択的に発現し、細胞内アデニンヌクレオチド代謝調節を介してインスリンシグナルに関与することが示唆されるAMPD1の糖代謝における役割についてAMPD1欠損マウスを用いて検討した。

本研究において、AMPD1欠損マウスでは、野生型に比して高脂肪食により誘導される耐糖能低下及びインスリンシグナルの減弱が改善することが明らかとなった。AMPD1阻害が、インスリン感受性の改善を介して糖尿病に対する治療的効果を持つ可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：Insulin resistance is a key factor in the pathogenic mechanisms of diabetes. We have studied the function of AMPD1, an isoform of AMP catalyzing enzyme AMP deaminase, which is preferentially expressed in skeletal muscles and potentially modifies insulin signaling pathway, in the glucose and lipid metabolism by analyzing AMPD1-deficient mice. We demonstrate that AMPD1 deficiency improves impaired glucose tolerance and insulin resistance induced by high fat diet challenge. Gene expression profiles in skeletal muscles were modified by AMPD1 deficiency during high fat diet challenge. Although further studies are necessary to elucidate the targets of AMPD1 in insulin signaling pathway, these data suggest that AMPD1 inhibition could be a therapeutic strategy against diabetes.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：amp deaminase 骨格筋 インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

(1) 骨格筋と糖・脂質代謝調節

骨格筋は個体の運動能力に必須であるのみならず、糖・脂質代謝調節を介してエネルギー代謝に重要な役割を果たすことが示されてきた。また、運動による骨格筋代謝の賦活化が肥満・糖尿病・脂質代謝異常を含むメタボリックシンドロームに対して治療的効果を有することが臨床的に明らかにされてきた。骨格筋はインスリンの最大の標的臓器のひとつであり、肥満は骨格筋インスリン感受性を低下させインスリン抵抗性を惹起し、これが糖尿病の発症・進展に重要な役割を果たすと考えられ、インスリン抵抗性改善薬の糖尿病における治療的効果が明らかとなっている。

(2) AMP deaminase (AMPD)と骨格筋代謝

AMP deaminase (AMPD)はプリンヌクレオチドサイクルにおける主要な AMP 分解酵素であり、細胞内 ATP レベルの調節を介して細胞内エネルギー代謝中心に細胞機能を制御する。AMPD には3つのアイソザイムが存在するが、このうち AMPD1 は骨格筋に選択的に発現する。連携研究者森崎らによってヒト代謝性ミオパチーと AMPD1 機能欠損の関連が示され (*Proc Natl Acad Sci USA* 89:6457-6461)、骨格筋運動機能とエネルギー代謝における AMPD1 の重要性が明らかとなってきた。

(3) AMPD の糖代謝への関与の可能性

細胞内 AMP レベルを感知して標的分子の燐酸化を制御する AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) が糖・脂質代謝調節の鍵分子として注目されているが、AMP 分解酵素として細胞内 AMP レベルの決定に関与する AMPD が AMPK 活性調節に関与する可能性が考えられる。また、AMPD1 遺伝子多型とインスリン感受性の指標であるインスリンクリアランスの相関が報告されている。したがって、AMPD1

の骨格筋代謝調節を介した糖・脂質代謝調節への関与が推測される状況にあった。

2. 研究の目的

本研究では骨格筋インスリン感受性調節における AMPD1 の関与とその作用を明らかにすることを目的とする。そのため、野生型と AMPD1 欠損マウスを用いて、高脂肪食負荷により誘導されるインスリン感受性低下に対する AMPD1 の役割を検討する。あわせて、インスリンシグナル、その下流に存在し糖新生・糖取り込み・異化合成に関与する酵素群の発現・活性に対する AMPD1 の作用を検討する。また、マウス生体を用いて FDG-PET イメージングによる骨格筋における糖取り込みの可視化・定量評価を行い、AMPD1 の骨格筋糖取り込みに対する作用を検討する。

3. 研究の方法

(1) 糖代謝における AMPD1 の役割の検討

野生型及び AMPD1 欠損マウスに対して、通常食または高脂肪食を一定期間投与後に糖負荷試験により糖代謝を評価した。同時に、経時的に体重の測定、CT 断層撮影による体内脂肪組織量と分布の検討を行い、野生型と AMPD1 欠損マウスで比較検討した。血中脂質を測定し、脂質プロファイルの評価を行った。

(2) 骨格筋組織におけるインスリンシグナルに対する AMPD1 の役割の検討

上記(1)において、通常食・高脂肪食長期投与後に野生型及び AMPD1 欠損マウスから骨格筋を摘出し、そこから抽出した蛋白質を用いてインスリンシグナルへの関与が明らかとなっている AMPK、Akt、p70 S6 kinase の活性化をそれぞれの自己燐酸化をウエスタンブロット法で定量することにより評価した。骨格筋組織以外のインスリン標的臓器である肝臓、脂肪組織においても同様の検討を行った。

通常食・高脂肪食長期投与後に野生型及び AMPD1 欠損マウスから骨格筋を摘出し、そこから抽出した RNA を用いて、定量的 PCR 法によりミトコンドリア機能に関わる peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) PPAR coactivator-1 (PGC-1)、PGC-1 脂肪代謝に関わる uncoupling protein 3 (UCP3) の遺伝子発現を定量評価した。

(3) 骨格筋による糖取り込みにおける AMPD1 の役割の検討

国立循環器病研究センター研究所・画像診断医学部飯田秀博部長らとの共同研究により、FDG-PET イメージングを用いて、通常食・高脂肪食長期投与後に野生型及び AMPD1 欠損マウスにおける骨格筋による糖取り込みの定量評価を行った。

4. 研究成果

(1) 高脂肪食により誘導されるインスリン感受性低下の AMPD1 欠損による減弱

通常食及び高脂肪食投与下では、体重の経時的変化に野生型及び AMPD1 欠損マウスの間で有意な差は認めなかった。CT 断層撮影で検出される体内脂肪組織量と脂肪組織分布にも野生型及び AMPD1 欠損マウスの間で有意な差は認めなかった。

通常食投与下においては、空腹時血糖値及びグルコース負荷後の血糖値、血中インスリン値に野生型及び AMPD1 欠損マウスの間で有意な差は認めなかった。一方、高脂肪食投与下においては、空腹時血糖値及びグルコース負荷後の血糖値、血中インスリン値ともに野生型マウスに比して AMPD1 欠損マウスにおいて有意に低値を示した。

血中コレステロール値は、通常食投与下の野生型及び AMPD1 欠損マウスの間で有意な差は認めなかったが、血中中性脂肪値は高脂肪食投与下においては、野生型マウスに比して

AMPD1 欠損マウスにおいて有意に低値を示した。

以上から、マウスにおいて高脂肪食により誘導されるインスリン感受性低下が AMPD1 欠損により減弱することが示唆された。

(2) 高脂肪食により誘導されるインスリンシグナル抑制の AMPD1 欠損による減弱

骨格筋におけるインスリン受容体の発現は、摂餌内容、遺伝子型により変化は見られなかった。骨格筋組織における AMPK、Akt、p70 S6 kinase の磷酸化は、通常食投与下では野生型と AMPD1 欠損マウスの間で有意な差は認めなかった。野生型マウスで観察される高脂肪食投与による AMPK、Akt、p70 S6 kinase の磷酸化の抑制は、AMPD1 欠損により減弱した。

骨格筋における AMPD1 欠損を介した遺伝子発現変化

通常食及び高脂肪食投与下ともに、PGC-1 の骨格筋における遺伝子発現は AMPD1 欠損により亢進した。PPAR、UCP3 の発現は、摂餌内容、遺伝子型により変化は見られなかった。AMPD1 欠損が PGC-1 の骨格筋における遺伝子発現増加を介してミトコンドリア機能を修飾する可能性が考えられる。

以上から、高脂肪食により誘導されるインスリンシグナルの抑制は、AMPD1 欠損により減弱すると考えられ、AMPD1 抑制がインスリン抵抗性に対する治療的効果を示す可能性が考えられる。

(3) FDG-PET イメージングを用いた骨格筋糖取り込みの評価

野生型及び AMPD1 欠損マウスの空腹時における下肢骨格筋の FDG 取り込みは、通常食及び高脂肪食投与下ともに有意な差は認めなかった。

空腹時の骨格筋による糖取り込みに対して AMPD1 欠損は影響しないことが示唆される

が、糖負荷や運動負荷による代謝ストレスにおける AMPD1 欠損の作用を検討する予定である。

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 0 件)

[学会発表](計 6 件)

平瀬徹明、遠山桂子、程継東、森崎裕子、森崎隆幸 AMPD1 plays a role in the regulation of insulin sensitivity. 第35回日本分子生物学会年会 2012年12月11日～2012年12月12日 福岡

平瀬徹明、遠山桂子、程継東、森崎裕子、森崎隆幸 AMP deaminase 1(AMPD1)はインスリンシグナルを調節する 第46回日本痛風・核酸代謝学会総会 2013年02月14日～2013年02月14日 東京

平瀬徹明、アンドレアス タンデリリン、遠山桂子、程継東、森崎裕子、森崎隆幸 糖代謝におけるAMP代謝酵素AMPD3の役割 第36回日本分子生物学会年会 2013年12月3日 神戸

アンドレアス タンデリリン、平瀬徹明、遠山桂子、程継東、森崎裕子、森崎隆幸 骨格筋インスリン感受性調節におけるAMP代謝酵素AMPD1の役割 第36回日本分子生物学会年会 2013年12月3日 神戸

平瀬徹明、Andreas Tandelilin、遠山桂子、程継東、森崎裕子、森崎隆幸 高脂肪食により誘導されるインスリン抵抗性への糖代謝におけるAMP deaminaseの関与 第47回日本痛風・核酸代謝学会総会 2014年02月20日 神戸

Andreas Tandelilin、Tetsuaki Hirase、Keiko Toyama、Jidong Cheng、Hiroko Morisaki、Takayuki Morisaki 第47回日本痛風・核酸代謝学会総会 2014年02月

20日 神戸

[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

<http://www.ncvc.go.jp/res/divisions/bio-science/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

平瀬 徹明 (HIRASE, Tetsuaki)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号: 60363446

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

森崎 隆幸 (MORISAKI, Takayuki)

独立行政法人国立循環器病研究センタ

ー・研究所・部長

研究者番号：30174410

森崎 裕子 (MORISAKI, Hiroko)

独立行政法人国立循環器病研究センタ

ー・研究所・室長

研究者番号：40311451