

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790320

研究課題名(和文)肥満おける運動療法に与えるリポ蛋白リパーゼおよびアポリポ蛋白 A の作用の解明

研究課題名(英文)Effects of lipoprotein lipase and apolipoprotein AII on exercise regimen for obesity.

研究代表者

西島 和俊(Nishijima, Kazutoshi)

秋田大学・バイオサイエンス教育・研究センター・准教授

研究者番号：70435874

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：野生型ウサギやリポ蛋白リパーゼ(LPL)遺伝子導入(Tg)ウサギに比べ、アポリポ蛋白(apo)AII-Tgウサギでは、運動時の乳酸閾値が低い傾向が示された。静脈内糖負荷試験の結果、血糖値の下降速度は野生型ウサギに比べ、LPL-Tgウサギでは早く、apoAII-Tgウサギでは遅い傾向があった。10%脂肪食を給与し、週に5日、1日1回の歩行運動を12週間負荷した後に同様の試験を行ったところ、野生型ウサギおよびLPL-Tgウサギに比べ、apoAII-Tgウサギでは血糖値の下降速度が遅い傾向にあった。これらは、導入されたLPLもしくはapoAII遺伝子の作用の結果であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Lactate threshold in apolipoprotein (apo)AII transgenic (Tg) rabbit tended to be lower than in lipoprotein lipase (LPL)-Tg and wild-type rabbits. Within intravenous glucose tolerance test, decreasing rate of blood glucose level was high in LPL-Tg rabbit and low in apoAII-Tg in comparison to wild-type rabbit. After feeding high fat diet and exercise loading, the decreasing rate of blood glucose level in apoAII-Tg rabbit was lower than that in LPL-Tg and wild-type rabbits. These results would be caused by transferred apoAII or LPL gene.

研究分野：実験動物学

キーワード：遺伝子導入ウサギ アポリポ蛋白AII リポ蛋白リパーゼ メタボリック症候群 運動

1. 研究開始当初の背景

メタボリック症候群は心臓病や脳卒中などの動脈硬化性疾患を誘起する可能性を含み、投薬による治療の他、運動療法や食事療法がおこなわれているが、より効果的な予防・治療法の開発のためには、詳細な発症メカニズムを解明することが必要である。

このような基礎研究におけるモデル動物として、ヒトに似た脂質代謝系を有するウサギへの期待が高まっている。我々の研究グループでは、ヒトリポ蛋白リパーゼ(LPL)、ヒトアポリ蛋白(apo)AII 遺伝子などを導入したトランスジェニック(Tg)ウサギを作製し、脂質代謝メカニズムの解明を目指して研究を進めている。

LPL-Tg ウサギは、血中脂質が低値で、インスリン作用が亢進しているなどヒトのランナーと非常によく似た特徴(Nishida et al, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002)を複数もつ貴重な肥満抵抗性モデル動物であると言える。ヒト apoAII-Tg ウサギはコントロールウサギに比べ、血中の中性脂肪および総コレステロールが高値を示す一方、HDL は低値を示した(Koike et al., *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009)。また、apoAII-Tg ウサギでは LPL の活性が低下し、血中の VLDL や IDL (中間比重リポ蛋白)の濃度が上昇していた。これらの表現型はヒトにおける家族性複合型高脂血症のそれと類似しており、apoAII-Tg ウサギは高脂血症のモデル動物となり得る。

LPL-TgウサギとapoAII-Tgウサギは脂質代謝における表現型が正反対のモデルであると言えるが、これらの導入遺伝子の運動療法に与える作用についてはあまり知られていない。

2. 研究の目的

運動と密接な関係をもつと考えられる LPL とその機能を阻害すると考えられる apoAII の高脂肪食給与時の運動療法に対する作用を明らかとすることを目的とする。

LPL-Tg ウサギと apoAII-Tg ウサギにおける歩行エクササイズ効果を脂質代謝、エネルギー代謝の面から比較し、また、ホルモンやサイトカインを含めた機能性分子の挙動を解析することにより、LPL および apoAII の機能についての新たな知見を得る。

3. 研究の方法

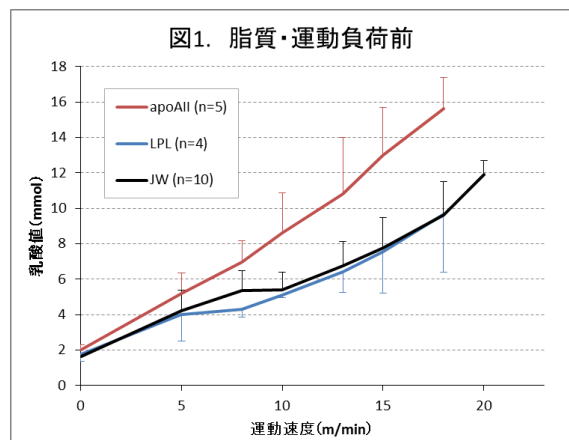
(1) 運動療法は、適切な強度(乳酸閾値程度)の運動を負荷する必要があるため、初めに、ウサギにおける乳酸閾値の測定を行った。ウサギ専用歩行器具を用いて、段階的に速度を上げ、3 分間歩行させたのちに血中の乳酸値を測定した。血中乳酸値が急激に上昇した速度を乳酸閾値と判断した。

(2) 肥満状態を誘起するために、LPL-Tg および apoAII-Tg ウサギ、その対照となる JW ウサギが 26 週齢になった時点で採血を行い、血中の脂質、血糖を計測した。全群のウサギに 10%の脂肪を含んだ食餌の無制限給与を開始した。運動負荷開始 4 週間前から運動負荷終了時まで (1)で得られた成果を元に、ウサギに一定強度の運動負荷を 12 週間与えた。運動負荷期間中は体重、摂餌量、体重、血中脂質をモニターした。

脂質・運動負荷前後に、静脈内にグルコースを投与後継時的に採血し、血糖値の変化を観察した(静脈内糖負荷試験)。運動負荷終了時に二重標識水をウサギの静脈内に投与し、4 時間後、7 日間後に採血して、血中の標識水の濃度を計測した。

4. 研究成果

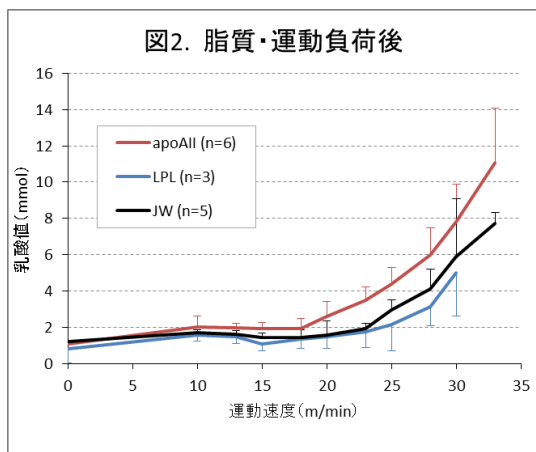
それぞれの群の乳酸閾値を測定した結果、LPL-Tg、JW ウサギでは 10m/分の速度で血中乳酸値が急激に上昇したが、apoAII-Tg ウサギでは 5 m/分の速度から乳酸値は上昇し始め、その後もほぼ同様の割合で、上昇した。また、その乳酸値は絶えず、LPL-Tg、JW ウサギを上回っていた(図1)。



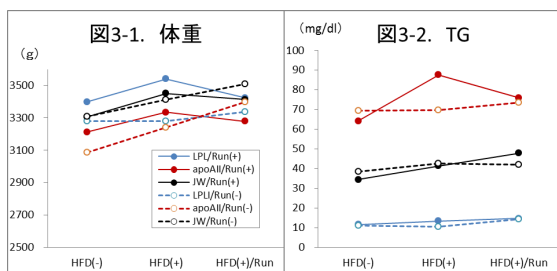
同様の測定を脂質・運動負荷後に行ったと

ころ、LPL-Tg、JW ウサギの乳酸閾値は 23m/分程度であったのに対して、apoAII-Tg ウサギでは 18m/分程度であった（図 2）。

この結果から、apoAII-Tg ウサギでは運動耐性が低い可能性が示された。また、今回の実験で負荷した運動が、ウサギの運動耐性を増強し、適切な強度であったことが示された。



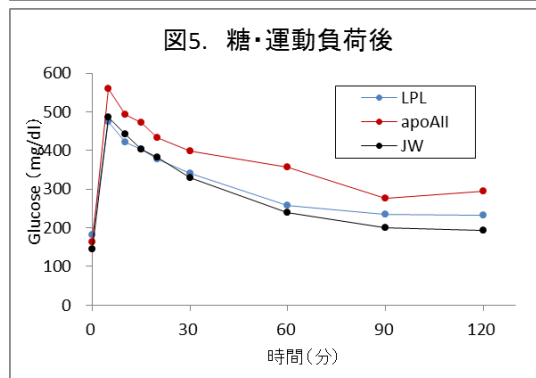
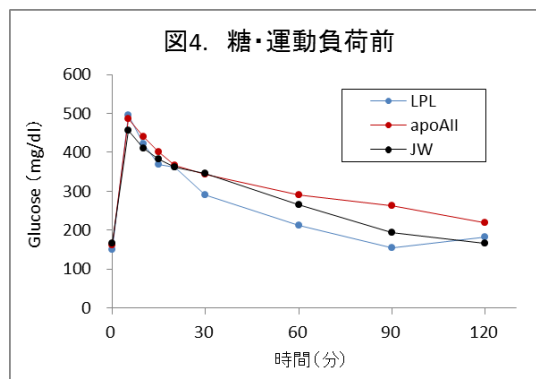
ウサギに 10%脂肪食を負荷して 4 週後に 12 週の運動負荷をする前後で、体重は、高脂肪食により上昇し、同時に運動負荷した場合には減少した（図 3-1）。血中の中性脂肪（TG）は、JW に比べ apoAII-Tg で高く、LPL-Tg で低い傾向にあった（図 3-2）。



脂質・運動負荷前に静脈内糖負荷試験を行った結果、JW ウサギに比べ、LPL-Tg ウサギでは早く、apoAII-Tg ウサギでは血糖値の下降速度は遅い傾向にあった（図 4）。

一方、脂質・運動負荷後に静脈内糖負荷試験を行ったところ、JW、LPL-Tg ウサギに比べ、apoAII-Tg ウサギでは血糖値の下降速度が遅い傾向にあった（図 5）。

これらの結果により、apoAII-Tg ウサギでは、運動耐性が低下し、また、運動の効果が表れにくい可能性が考えられた。



更なる検討を進めるために、二重標識水法によるエネルギー代謝測定のためのサンプリング、同位体の計測を終え、解析を進めている。また、脂質・運動負荷後に採取した脂肪組織、筋肉、肝臓に対して、リアルタイム PCR 法による関連遺伝子の発現量の解析を進めている。

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 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 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 件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
出願年月日：
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

西島 和俊 (NISHIJIMA, Kazutoshi)
秋田大学・バイオサイエンス教育・研究センター・准教授
研究者番号：70435874

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：