

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350819

研究課題名(和文) 身体運動は骨格筋前駆細胞の褐色脂肪細胞化をどのように誘導するか

研究課題名(英文) What is the mechanism underlying habitual physical exercise-induced browning of skeletal muscle in interscapular region?

研究代表者

小笠原 準悦 (Ogasawara, Junetsu)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：20415110

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：myf-5を発現する骨格筋前駆細胞は、PRDM16の転写調節作用を介して褐色脂肪細胞へと分化することが断定され、褐色脂肪の有するエネルギー消費能を介した抗肥満療法の確立が期待されている。我々は、急性の水泳運動によってラット肩甲部骨格筋の褐色脂肪細胞化シグナルが活性化されることを観察したが、急性の走運動では一連の変化は観察されず、継続的な走運動ではむしろ骨格筋化へのスイッチングを伴った褐色脂肪量の有意な減少を観察した。身体運動はラット肩甲部骨格筋の褐色脂肪細胞化への修飾能を有するものの、運動環境や運動様式の違いが一連の生理現象の調節因子として作用することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：It has demonstrated that the precursor of skeletal muscle cells, MYF-5-positive precursors, differentiate into brown adipocyte via transcriptional regulation of PRDM16 in interscapular. Brown adipocyte burns substrates, including fatty acid and glucose, to produce heat which is accompanied by rising energy consumption. Thus, it has been expected to provide a novel therapeutic intervention against obesity and obesity-related disease through the capacity of brown adipocytes. In the present study, in interscapular, it was shown that acute swimming exercise activated molecules of browning, although no changes were observed by acute running exercise. On the other hand, habitual running exercise attenuated significantly the mass of brown adipose tissue with increasing the differentiation into skeletal muscle in this region. These results suggest that both environmental factor and exercise pattern play a key role in exercise-induced browning of MYF-5-positive precursor cells in interscapular.

研究分野：細胞生理学

キーワード：褐色脂肪細胞 肩甲部骨格筋 分化誘導 身体運動 PRDM16 EHMT1

#### 1. 研究開始当初の背景

myf-5 を発現する骨格筋前駆細胞は、PRDM16 の転写調節作用を介して褐色脂肪細胞へと分化することがほぼ断定された。褐色脂肪細胞は熱産生を介したエネルギー消費能を有することから、本機能を介した抗肥満療法の確立が期待されている。しかしながら、褐色脂肪細胞化を促す生理的な条件については全くわかっていない。身体運動は、恒常性を逸脱しない生理的な範囲において細胞の生理・生化学的变化を惹起する特徴を持つ。そのため、身体運動による褐色脂肪細胞化の検討は、ヒトへの応用を視野に入れた新たな抗肥満運動療法の確立に有用な知見となることが期待できる。本研究では、身体運動が誘導する骨格筋前駆細胞の褐色脂肪細胞化について、関連分子の挙動変化に着眼し検討した。

#### 2. 研究の目的

我々の先行研究において、マウスに急性の水泳と走運動を施し、下肢筋群である腓腹筋、ヒラメ筋、長拇指伸筋や体幹を形成する腹直筋、広背筋、そして褐色脂肪組織の下部に分布する肩甲骨周囲骨格筋群における褐色脂肪細胞化について、褐色脂肪細胞のマーカー分子である UCP-1 の発現を中心に検討したところ、水泳運動により肩甲骨周囲骨格筋群の UCP-1 mRNA の発現は著しく亢進することを見出した。この状況下では、PRDM16 mRNA の発現亢進に加えて、近年同定された褐色脂肪細胞のマーカーである Zic-1 mRNA の発現も顕著に増加した。加えて、Zinc-finger 型の転写調節因子である PRDM16 は C/EBP- $\beta$  と結合することによって転写活性を促進させることが報告されているが、水泳運動は PRDM16 と C/EBP- $\beta$  のタンパク質複合体の形成を有意に増加させることも観察している。こうした結果は、身体運動が骨格筋前駆細胞の分化能を非侵襲的に制御できるとともに、褐色脂肪細胞化に有用な生理条件として応用できることを示唆していると考えられる。本研究では、より汎用性の高い走運動（急性の走運動と継続的な走運動トレーニング）による肩甲骨部の褐色脂肪細胞化について検討することを目的とした。

#### 3. 研究の方法

急性運動群や運動トレーニング群、およびコントロール群のマウスから得られた骨格筋組織を調製後、UCP-1、Zic-1、PRDM16 や PPAR $\gamma$ 、C/EBP- $\beta$ 、などをはじめとする褐色脂肪細胞化調節分子の mRNA とタンパク質の発現について、PCR 法とウエスタンブロット法を用いて測定した。タンパク質複合体の検討は免疫沈降法を用いて行った。骨格筋の冷凍切片を作成し免疫組織化学染色により標的タンパク質の発現を検討した。

#### 4. 研究成果

急性の走運動において、肩甲骨部骨格筋における UCP-1 の mRNA (褐色脂肪細胞のマーカー) の発現は、対照群と比べて有意な変化を生じないことが明らかとなった。この状況下では、やはり PRDM16 の mRNA とタンパク質の発現も変化せず、PRDM16 機能の補助因子である C/EBP- $\beta$  や PGC1- $\alpha$  の mRNA 発現や、PRDM16 の活性化に必須な C/EBP- $\beta$  と PRDM16 との結合なども、対照群と比べて有意な変化は観察されなかった。

一方、走運動トレーニングにより肩甲骨部の褐色脂肪組織量は有意に減少することを観察した。この状況下にある肩甲骨部骨格筋では、褐色脂肪細胞化を促す PRDM16/PPAR $\gamma$  や PRDM16/EHMT1 の複合体の発現は対照群と比べて有意に低下しており、前者の結合を阻害する TLE3 の発現は走運動トレーニングにより有意に増加することが明らかとなった。

免疫組織化学染色により、対照群と走運動群ともに myf-5 陽性細胞は主に肩甲骨部に発現することを観察したことから、走運動は肩甲骨部にある myf-5 陽性細胞の褐色脂肪と骨格筋へのスイッチング作用に対する修飾能を有するものと断定できる。しかしながら、継続的な走運動トレーニングはむしろ褐色脂肪細胞化を誘導せずに骨格筋への分化を促すため、運動様式が褐色脂肪の形成に影響する可能性も否定できない。加えて、走運動と水泳運動にみられる温熱環境の違いは、熱産生を主な生理作用とする褐色脂肪の形成と深く関係している可能性も考えられる。水泳トレーニングによる褐色脂肪細胞化の検討を含めて、本研究課題のさらなる遂行が必要である。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 15 件)

Shirato K, Imaizumi K, Sakurai T, Ogasawara J, Ohno H, Kizaki T, Regular Voluntary Exercise Potentiates Interleukin-1 $\beta$  and Interleukin-18 Secretion by Increasing Caspase-1 Expression in Murine Macrophages, 査読有, Mediators Inflamm., 2017, Article ID 9290416, 11 pages, 2017.

DOI: 10.1155/2017/9290416

Sakurai T, Ogasawara J, Shirato K, Izawa T, Oh-ishi S, Ishibashi Y, Radak Z, Ohno H, Kizaki T. Exercise training attenuates the dysregulated expression of adipokines and

oxidative stress in white adipose tissue, 査読有, *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2017, Article ID 9410954, 12 pages, 2017.

DOI: 10.1155/2017/9410954

Shirato K, Takanari J, Sakurai T, Ogasawara J, Imaizumi K, Ohno H, Kizaki T, Enzyme-Treated Asparagus Extract Prevents Hydrogen Peroxide-Induced Pro-Inflammatory Responses by Suppressing p65 Nuclear Translocation in Skin L929 Fibroblasts, 査読有, *Nat. Prod. Commun.*, 11, 1883-1888, 2016.

<http://www.naturalproduct.us>

Haga S, Sakurai T, Hamaoka T, Esaki K, Ueya K, Toshinai K, Miyazaki H, Ogasawara J, Shirato K, Hashimoto N, Katsumura T, Nioka S, Chance B, Yamaguchi I, Kizaki T, Ohno H, Cerebral artery blood flow and oxygenation in the frontal lobe region in response to a judo chokehold (shimewaza), 査読有, *J. Exerc. Sports Orthop.*, 3, 1-8, 2016.

<https://symbiosisonlinepublishing.com/exercise-sports-orthopedics/exercise-sports-orthopedics43.php>

Shirato K, Takanari J, Ogasawara J, Sakurai T, Imaizumi K, Ohno H, Kizaki T, Enzyme-Treated Asparagus Extract Attenuates Hydrogen Peroxide-Induced Matrix Metalloproteinase-9 Expression in Murine Skin Fibroblast L929 Cells, 査読有, *Nat. Prod. Commun.*, 5, 677-680, 2016.

<http://www.naturalproduct.us>

Sumitani Y, Hosaka T, Susaki Y, Fujisawa Y, Kuriyama K, Tsukada Y, Yokoyama T, Ogasawara J, Nishida S, Inukai K, Okajima Y, Ohno H, Ishida H, Clinical effect of real time pulse rate monitoring with a portable pulsimeter on physical exercise therapy for male patients with type 2 diabetes, 査読有, *Diabet. Int.*, 7, 221-228, 2016.

[http://www.jds.or.jp/modules/journal/index.php?content\\_id=2](http://www.jds.or.jp/modules/journal/index.php?content_id=2)

Ogasawara J, Izawa T, Sakurai T, Shirato K, Ishibashi Y, Ohira Y, Ishida H, Ohno H, Kizaki T, Habitual physical exercise acts as a physiological stimulator for constant activation of lipolytic enzymes in

primary rat white adipocytes, 査読有, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 464, 348-353, 2015.

DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.06.157

Ogasawara J, Izawa T, Sakurai T, Sakurai T, Shirato K, Ishibashi Y, Ishida H, Ohno H, Kizaki T, The molecular mechanism underlying continuous exercise training-induced adaptive changes of lipolysis in white adipose cells, 査読有, *J. Obese.*, 2015, Article ID 473430, 10 pages, 2015.

DOI: 10.1155/2015/473430

Kato H, Tanaka G, Masuda S, Ogasawara J, Sakurai T, Kizaki T, Ohno H, Izawa T, Melatonin promotes adipogenesis and mitochondrial biogenesis in 3T3-L1 preadipocytes, 査読有, *J. Pine. Res.*, 59, 267-75, 2015.

DOI: 10.1111/jpi.12259

Kizaki T, Sato S, Shirato K, Sakurai T, Ogasawara J, Izawa T, Ohira Y, Suzuki K, Ohno H, Effect of circadian rhythm on clinical and pathophysiological conditions and inflammation, 査読有, *Crit. Rev. Immunol.*, 35, 261-275, 2015.

DOI:

10.1615/CritRevImmunol.2015014925

Ogasawara J, Ito T, Wakame K, Kitadate K, Sakurai T, Sato S, Ishibashi Y, Izawa T, Takahashi K, Ishida H, Takabatake I, Kizaki T, Ohno H, ETAS, an enzyme-treated asparagus extract, attenuates amyloid  $\beta$ -induced cellular disorder in PC12 cells, 査読有, *Nat. Prod. Commun.*, 9, 561-564, 2014.

<http://www.naturalproduct.us>

Sato S, Sakurai T, Ogasawara J, Ishibashi Y, Ohishi S, Imaizumi K, Haga S, Hitomi Y, Izawa T, Ohira Y, Ohno H, Kizaki T, Direct and indirect

suppression of interleukin-6 gene expression in murine macrophages by nuclear orphan receptor REV-ERB $\alpha$ , 査読有, Scientific World Journal, 2014, Article ID 685854, 10pages, 2014.

DOI: 10.1155/2014/685854

Sakurai T, Ito T, Wakame K, Kitadate K, Arai T, Ogasawara J, Kizaki T, Sato S, Ishibashi Y, Fujiwara T, Akagawa K, Ishida H, Ohno H, Enzyme-treated asparagus officinalis extract shows neuroprotective effects and attenuates cognitive impairment in senescence-accelerated mice, 査読有, Nat. Prod. Commun., 9, 101-106, 2014. <http://www.naturalproduct.us>

Sato S, Sakurai T, Ogasawara J, Imaizumi K, Ohno H, Kizaki T, A Circadian Clock Gene, Rev-erb , Modulates the Inflammatory Function of Macrophages through the Negative Regulation of Ccl2 Expression, 査読有, J. Immunol., 192, 407-417, 2014.

DOI: 10.4049/jimmunol.1301982

Haga S, Sakurai T, Sato S, Sasahara M, Aita F, Esaki K, Toshinai K, Ueya E, Hashimoto N, Ogasawara J, Kizaki T, Sakurai T, Ohno H, Takakuwa E, The effects of long-term exercise on cerebral function and the maintenance of concentration in the elderly, 査読有, J. Exerc. Sports Orthop., 1, 6-11, 2014.

<https://symbiosisonlinepublishing.com/exercise-sports-orthopedics/exercise-sports-orthopedics03.php>

〔学会発表〕(計 10 件)

小笠原準悦、運動は肥満に有効か？脂肪細胞の機能変化に着目して、第 168 回日本体力医学会関東地方会、2016 年 12 月 3 日、東京。

小笠原準悦ら、PC12 細胞の神経突起形成に及ぼす ETAS (enzyme-treated asparagus extract) の効果、第 86 回日本衛生学会学術総会、2016 年 5 月 13

日、旭川。

小笠原準悦ら、Acute swimming exercise can accelerate the browning of skeletal muscle in interscapular region、第 93 回日本生理学会大会、2016 年 3 月 23 日、札幌。

Ogasawara J et al., Effect of acute swimming exercise on switching action of PRDM16 in skeletal muscles, The 16th International Conference on the Biochemistry of Exercise, 2015 年 9 月 8 日, Sao Paulo, Brazil.

小笠原準悦ら、ETAS は PC12 細胞の神経突起の形成を促進する、第 25 回体力栄養免疫学会大会、2015 年 8 月 23 日、東京。

Ogasawara J et al., Enzyme-Treated Asparagus Extract (ETAS) Induces Heat Shock Protein 70 Expression and Attenuates Stress, The 12th Asian Congress on Nutrition, 2015 年 5 月 17 日, Yokohama .

小笠原準悦ら、ブライト脂肪細胞の形成を修飾する持続的総運動トレーニングの効果、第 85 回日本衛生学会学術総会、2015 年 3 月 27 日、和歌山。

小笠原準悦ら、水泳運動により誘導される肩甲骨周囲骨格筋群の褐色脂肪細胞化の検討、第 69 回日本体力医学会大回、2014 年 9 月 19 日、長崎。

Ogasawara J et al., ETAS, an enzyme-treated asparagus extract, has the ability to enhance both the differentiation and the neurite outgrowth in PC12 cells, The 22th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, 2014 年 7 月 26 日, Sapporo.

小笠原準悦ら、アスパラガス茎熱水抽出物(ETAS)はアミロイドによる細胞障害性を抑制する、第 84 回日本衛生学会学術総会、2014 年 5 月 26 日、岡山。

〔図書〕(計 1 件)

小笠原準悦 他, 真興交易, ニュー運動

生理学( ), 2015, 270-282.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

小笠原 準悦 (OGASAWARA, Junetsu)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号: 20415110

### (2)連携研究者

櫻井 拓也 (SAKURAI, Takuya)

杏林大学・医学部・講師

研究者番号: 20353477

木崎 節子 (KIZAKI, Takako)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号: 00322446

大野 秀樹 (OHNO, Hideki)

杏林大学・医学部・名誉教授

研究者番号: 00133819