

氏名(本籍)	いけ だ しん いち 池 田 真 一 (北 海 道)		
学位の種類	博 士 (学 術)		
学位記番号	博 乙 第 2433 号		
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	運動による筋インスリン感受性並びにミトコンドリア増加の分子機序の解明 -運動によるメタボリックシンドローム予防のための基礎的研究-		
主査	筑波大学教授	学術博士	西 平 賀 昭
副査	筑波大学准教授	理学博士, 博士(医学)	武 政 徹
副査	筑波大学准教授	医学博士	大 森 肇
副査	筑波大学講師	博士(体育科学)	前 田 清 司

論 文 の 内 容 の 要 旨

生体内におけるエネルギーの産生過程は、一つの流れと捉えることができる。末梢の組織、細胞におけるエネルギーの流れは、①血中の糖や脂質といったエネルギー基質を細胞内に取り込み、②ミトコンドリアにより基質が完全に分解され、ATPが産生される、といった2段階で考えることができる。①段階が滞ると、血中の糖、脂質濃度が増加し、高血糖、高脂血症を引き起こすことになる。糖に限定して考えると、①段階の滞りとは、すなわち、インスリン抵抗性である。②段階の滞りは、細胞内に取り込まれたエネルギー基質を完全に分解することができなくなり、代謝中間産物が蓄積し、インスリン抵抗性を惹起する。①段階のみ促進されていても、②段階の活性が高い状態にないと、上述のような理由でインスリン抵抗性を惹起してしまう。現在、2型糖尿病の治療薬として臨床の場で広く使用されている薬剤に、チアゾリジン誘導体がある。この薬剤は末梢組織のインスリン抵抗性の改善には確かに効果的なのだが、末梢組織における脂肪酸・脂質代謝中間産物の蓄積を引き起こすことが広く知られている。これは、チアゾリジン誘導体がエネルギーの流れの①段階しか促進しないために起こる現象である。今日までのところ、エネルギーの流れの両段階を同時に活性化する薬理学的手法は存在せず、そのため、2型糖尿病患者にとって、病態のコントロールは極めて困難なこととなっている。

運動は上述の①、②両段階を活性化することのできる現在唯一の方法である。運動によるこの作用の分子メカニズムを理解することは、エネルギーの流れの両段階を活性化する薬剤の開発につながり得るという点で極めて意義深い研究である。そこで、本論文では、①段階の活性化である運動による筋インスリン感受性の亢進に関して研究課題1で、②段階の活性化である運動によるミトコンドリア増加に関して研究課題2, 3, 4でその分子機序を明らかにすることを目的として研究を行った。

研究課題1では、一過性運動後の筋インスリン感受性亢進に対してマクロファージが関与するかどうかをマウスを対象に検討した。運動終了後、マウス骨格筋において著明なマクロファージ数の増加が認められ、マーカー遺伝子の発現を検討した結果、これらのマクロファージはM2マクロファージであることが示唆された。また、培養細胞を用いた実験により、C2C12筋細胞とM2マクロファージとの接触は、C2C12筋細

胞のインスリン感受性を亢進することが示された。M2 マクロファージを欠損させたマウスでは、骨格筋のインスリン抵抗性を惹起するという先行研究と本研究の結果から、M2 マクロファージは骨格筋のインスリン感受性を正に制御するメディエーターであると考えられる。

PGC-1 α は、多くの細胞においてミトコンドリア遺伝子の発現を誘導し、運動よりヒト、げっ歯類においてその発現量が増加することが知られており、運動によるミトコンドリア増加の中心的な制御因子であると考えられている。しかしながら、この考えは遺伝子の過剰発現系によって得られたものであり、運動のような生理学的条件下でも同様のことが起こっているかは明らかにされていない。

研究課題2では、マウスに一過的走運動を施し、運動終了後のミトコンドリア遺伝子、PGC-1 α の発現変化を詳細に検討し、それらの発現の制御に p38 MAPK が関与するかどうかを検証した。一過的走運動により、マウス足底筋においてミトコンドリア遺伝子は二相性の増加を示し、第2相の増加は PGC-1 α の増加を伴っていたが、第1相の増加には、PGC-1 α の発現増加は観察されなかった。また、p38 MAPK はミトコンドリア遺伝子の両相、並びに PGC-1 α の発現増加のすべてに関与していることが示された。よって、運動によるミトコンドリア遺伝子の発現増加には、PGC-1 α の発現増加によるメカニズムと、それによらないメカニズムとが存在することが示唆された。

研究課題2より、運動による骨格筋ミトコンドリア遺伝子発現増加には、PGC-1 α タンパク質を増加させるというメカニズムだけではなく、その他の機序も存在することが明らかになった。研究課題3では、その機序として PGC-1 α の“量”ではなく“活性”に着目し、培養細胞系を用いて検証を行った。その結果、他の細胞とは異なり、平常時の C2C12 筋細胞において、PGC-1 α は細胞質にほとんど存在していた。また、この C2C12 筋細胞に律動的伸縮刺激を施すことによって PGC-1 α は核へと移行した。筋細胞においては、PGC-1 α のコンパートメンテーションによってそのターゲット遺伝子の発現が調節されている可能性が示唆され、これが先の第1相におけるメカニズムであることが考えられる。

研究課題4では、ランニングホイールを用いた自発走を運動モデルとし、長期間の運動による PGC-1 α 、ミトコンドリアタンパク質発現量の経時的変化を、タイプの異なる骨格筋（ヒラメ筋、足底筋、前脛骨筋）間で比較検討すること、また、研究課題2の第1相のような、PGC-1 α の発現量増加を伴わないミトコンドリアタンパク質の増加が、長期間の運動による変化の過程においても認められるかどうかを検証した。その結果、長期間の運動による変化は骨格筋によりそのパターンがことなっていた。また、前脛骨筋において、ミトコンドリアタンパク質の発現量増加が認められたにもかかわらず、PGC-1 α の発現量には変化がなかった。これらのことから、長期間の運動によるミトコンドリアタンパク質の増加においても、PGC-1 α の発現量増加を必要としないメカニズムが存在することが示された。

本論文は、運動による筋インスリン感受性の亢進、並びにミトコンドリア遺伝子発現増加のメカニズムを明らかにすることを目的とし、研究を行った。その結果、運動による筋インスリン感受性亢進における M2 マクロファージの関与を明らかにし、また、運動によるミトコンドリア遺伝子発現増加には、細胞質に存在する PGC-1 α が核へ移行することによって誘導される段階と、PGC-1 α の発現量を増加させることによって誘導される段階との2つの段階が存在することを明らかにした。これらのことを一つの指標とすることにより、メタボリックシンドロームの予防のために最適な運動プログラムを作出できるようになり、運動によるメタボリックシンドロームの予防に向けた、重要な基礎的知見を得ることができた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は運動により骨格筋のインスリン感受性がどのようなメカニズムで亢進し、並びにミトコンドリアがどのようなメカニズムで増加するのかを分子レベルで解析し、いくつかの新しい知見を得たものである。

インスリン感受性の亢進については、抗炎症性マクロファージ（M2）が重要な働きをすることを示したことが本論文の新しい知見の一つである。それを裏付ける証拠については、現在継続中の実験において、マウスの M2 を特異的に破壊するような処置をすると、インスリン感受性が落ちることがわかり、その信憑性が確認された。また、このような分子メカニズムを研究する意義については、個々人の遺伝子情報と重要なシグナル経路の照合からあらかじめ運動処方の効果を予測し、インスリン抵抗性の治療のための運動処方が適用可／不可の判断をし、適応可の場合にはオーダーメイド運動処方に繋げたり、予防のための運動処方の過程をモニタリングすることにも応用できる可能性を示した。副査から将来さらに深く研究を掘り下げることが期待する意見もあったが、これは博士号取得後の研究課題として引き継ぐ予定である。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。