

Effect of calorie restriction on insulin signal transduction: Involvement of GH-IGF-1 axis

(インスリンシグナル伝達におけるカロリー制限の影響：成長ホルモン-インスリン様成長因子1の関連性)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療科学専攻 朴盛俊

[目的]

様々な動物種において、カロリー制限 (Calorie restriction, CR) あるいは growth hormone (GH)-insulin-like growth factor 1 (IGF-1) シグナル経路の抑制は、寿命を延長する。この寿命延長には、エネルギー代謝の変化が関与していることが示唆されているが、詳しいメカニズムはまだ分かっていない。本研究では、加齢にともなうグルコース-インスリン恒常性の変化における CR の効果と GH 抑制の影響について検討した。

[実験方法]

実験 1: 自由に摂食させた生後 12 週、および 18 ヶ月の野生型 Fischer344 ラットを 4 ~4.5 ヶ月間 30%CR させ、7 ヶ月齢および 22 ヶ月齢で実験を行った。対照群は実験期間中、自由に摂食させた (AL 群)。実験 2: GH 抑制の効果を検討するために、アンチセンス GH 導入遺伝子を有するヘテロ接合ラットを用いた。野生型 (Wild-type Wistar, W) ラットの AL, CR 群と比較した。グルコース負荷後のインスリンシグナル系の活性化を検討するために、一晩の絶食後、体重 1kg あたり 1.0g の 50%グルコース溶液、あるいは対照として生理食塩水を腹腔内投与した。投与後 15 分後で屠殺し、体幹の血液と大腿四頭筋 (SM) および白色脂肪 (WAT) を採取した。

血清インスリン濃度を ELISA 法で、血清グルコース濃度はグルコースオキシダーゼ法により測定した。WAT と SM の蛋白を抽出し、tyrosine リン酸化インスリン受容体 (pY-IR) と、その下流の因子であるリン酸化 Akt (p-Akt), p-PKC ζ / λ , 細胞膜分画の Glut4 (mGlut4) を immunoblot 法と ELISA 法で測定した。

[結果]

7 ヶ月齢ラットで、CR はグルコース投与によるインスリンの反応が低いにもかかわらず、耐糖能を改善させた。7 ヶ月 CR ラットの SM では、p-Akt と mGlut4 のレベルが、コントロールの AL 群と変わらなかった。しかし、7 ヶ月 CR ラットの WAT では、インスリンと pY-IR レベルが低いにもかかわらず非刺激時レベルの p-Akt と mGlut4 が増加した。22 ヶ月ラットでの CR は、加齢による耐糖能の低下を部分的に改善させた。SM では CR が加齢によるインスリンシグナルの活性化の障害を改善しなかった。WAT では、CR はインスリン経路に影響を与えなかった。

CR と Tg ラットでは、グルコース投与によるインスリンの反応が低いにもかかわらず、グルコースレベルが AL より低かった。CR と Tg ラットの WAT では、非刺激時の p-Akt レベルはインスリンと pY-IR レベルが低いにもかかわらず AL ラットのグルコース投与後と同じように高かった。しかし、インスリン非依存性経路に関連する p-AMPK α 蛋白レベル、エネルギー代謝に関連する adipogenic および lipogenic 遺伝子 (peroxisome proliferate activator receptor (以下 PPAR γ), adiponectin, acyl-CoA carboxylase1 (ACC1), and fatty acid synthase (FAS)) の発現レベルは、AL ラットと比べると CR ラットで大きく増加した。Tg ラットでは変化がなかった。

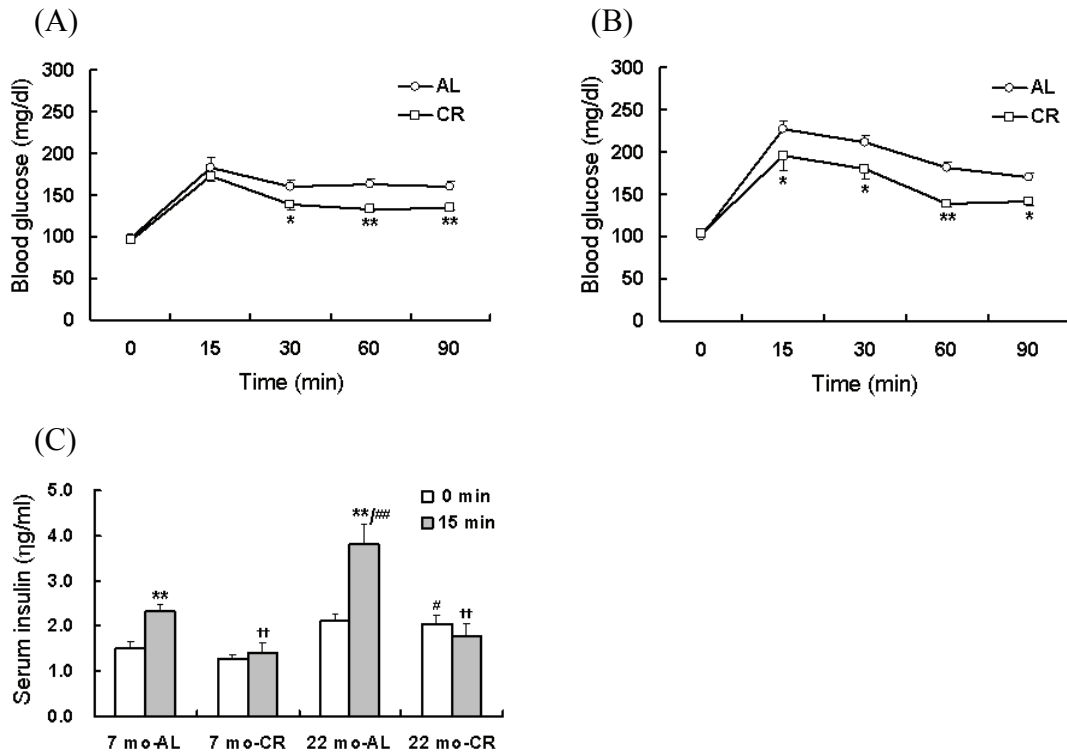


Fig.1. Glucose tolerance test (GTT) and serum insulin levels: effects of CR and age (A) GTT in young aged rats (B) GTT in middle aged rats (C) Serum insulin levels

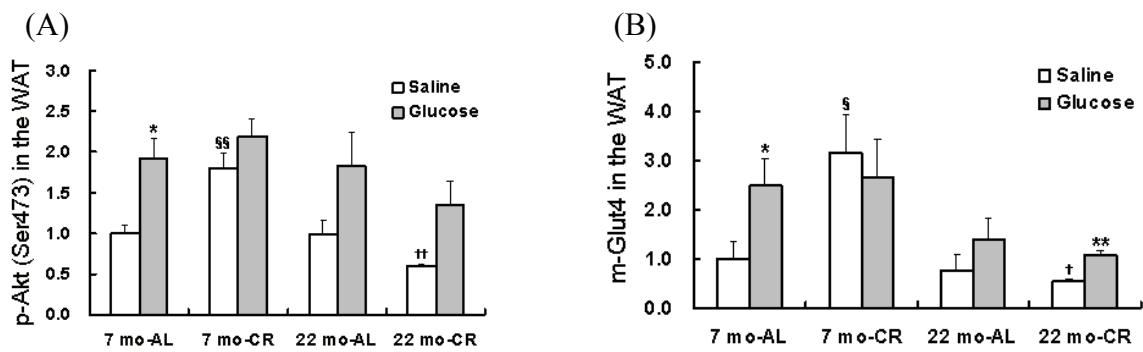


Fig.2. p-Akt (Ser473) and mGlut4 levels in WAT: effects of CR and age (A) Protein levels of p-Akt (B) Protein levels of mGlut4

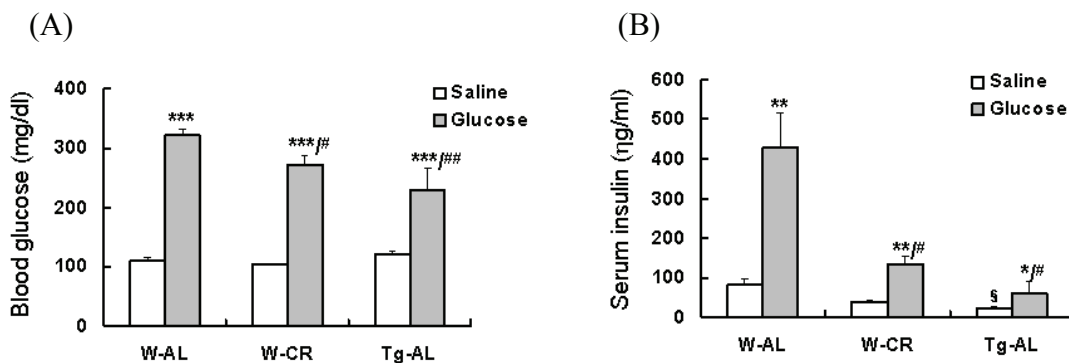


Fig.3. Blood glucose and serum insulin levels: effects of CR and GH-suppression (A) Blood glucose levels (B) Serum insulin levels

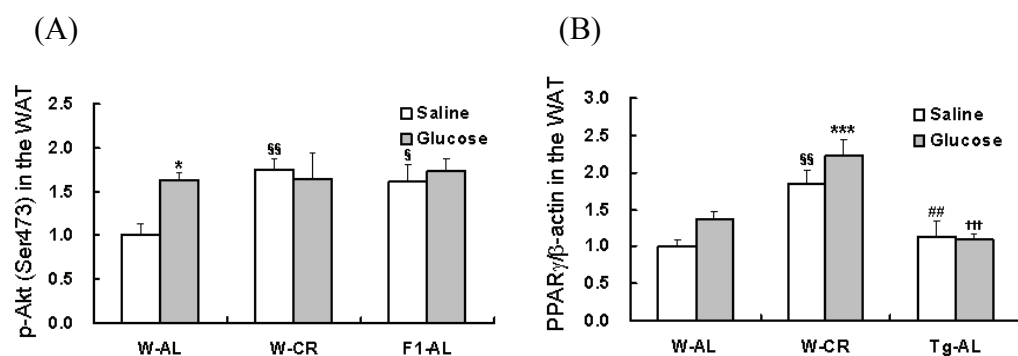


Fig.4. Protein levels of p-Akt (Ser473) and gene expression levels of PPAR γ : effects of CR and GH-suppression (A) Protein levels of p-Akt (Ser473) (B) Gene expression levels of PPAR γ / β -actin

[考察]

今回の研究では、特に WAT でのグルコースの取り込みとエネルギー代謝において、CR により誘導されるインスリン非依存性経路の存在が示唆された。また、インスリン非依存性経路の活性化に、GH 抑制の影響が部分的にあることも示された。グルコース取り込みにおけるインスリン非依存性経路の制御は、糖尿病や代謝異常の患者治療に有用な役割をすると考えられる。WAT における遺伝子発現の結果で、CR 特異的な PPAR γ による脂肪細胞分化の促進、および遊離脂肪酸の生成と uptake の増加は、エネルギーを蓄えておく thrifty メカニズムの一つだと考えられる。この PPAR γ による thrifty メカニズムは、白色脂肪以外の組織での脂肪蓄積を減少させて、老化によるインスリン抵抗性を予防すると考えられる。

[基礎となった学術論文]

1. Park S, Komatsu T, Hayashi H, Yamaza H, Chiba T, Higami Y, Kuramoto K, Shimokawa I
Calorie restriction initiated at middle age improved glucose tolerance without affecting age-related impairments of insulin signaling in rat skeletal muscle. *Exp. Gerontol.*, **41**, 837-845 (2006)
2. Park S, Komatsu T, Hayashi H, Yamaza H, Chiba T, Higami Y, Kuramoto K, Shimokawa I
Calorie restriction initiated at a young age activates the Akt-PKC ζ / λ -Glut4 pathway in rat white adipose tissue in an insulin-independent manner. *Age*, **30**, 293-302 (2008)