

蒲原涼太郎 論文内容の要旨

主 論 文

Overexpression of the adiponectin gene mimics the metabolic and stress resistance effects of calorie restriction, but not the anti-tumor effect

アディポネクチン遺伝子の過剰発現はカロリー制限による代謝適応反応およびストレス耐性作用を模倣するが抗腫瘍効果は示さない

蒲原涼太郎、山座治義、土谷智史、小松利光、朴 盛浚、林 洋子、千葉卓哉、森 亮一、小田邊修一、山田研太郎、永安 武、下川 功

Experimental Gerontology 64, April 2015, 46-54

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 医療科学専攻
(主任指導教員：永安 武 教授)

【緒 言】

摂取カロリーを適度に制限すると、寿命は延長し、癌を含む様々な疾患を抑制することが知られている。そのメカニズムについては未だ不明な点が多いが、長期間のカロリー制限 (CR) は、エネルギーの利用効率を高め、代謝反応を変化させることで、加齢に伴うインスリン抵抗性や耐糖能異常を改善させ、様々なストレスに対する耐性を獲得していると考えられている。

一方で過剰なカロリー摂取は、白色脂肪 (WAT) において p53 発現や炎症性サイトカイン増大などの老化様変化を促進させる。それに伴い、全身のインスリン抵抗性や耐糖能異常が生じるが、これらの機能障害は、WAT において p53 を抑制することで回復することが報告されている。

今回我々は、脂肪細胞特異的に分泌される生理活性物質 (アディポカイン) のひとつであるアディポネクチン (Adipoq) に注目した。CR を行うと、血中 Adipoq 濃度が上昇すること、また、血中 Adipoq の増加は、抗糖尿病効果や抗腫瘍作用などに関連することが知られている。さらに、Adipoq 遺伝子の過剰発現は、マウスにおいて寿命を延長させることが報告されている。

今回我々は、CR の老化を制御するメカニズムにおける、Adipoq 増加の役割について検討した。

【対象と方法】

- Adipoq 過剰発現マウスと野生型 (WT) マウスを、12 週齢から通常食 (RD) 群と高脂肪食 (HFD) 群に分類した。CR 群は、WT に対して 12 週齢から 30%減の RD を与えた。全てのマウスは一晩絶食とし、屠殺後直ちに血液と WAT を採取した。アディポカインおよび血清インスリン濃度については各 ELISA キットを、血清グルコース濃度はグルコースオキシダーゼ法によるキットを用いて測定した。WAT から蛋白を抽出し、p53、p21 を immunoblot 法で測定した。また、WAT から Total RNA を抽出、real-time RT-PCR 法を用いて炎症や代謝などに関連する遺伝子の発現解析を行った。
- in vivo で小胞体 (ER) ストレスをモニタリングするため、ER stress-responsive alkaline phosphatase (ESTRAP) の遺伝子組み換えマウスを用いた。Adipoq/ESTRAP マウスの自由摂食 (AL) 群、WT/ESTRAP マウスの AL 群および CR 群の計 3 群を作成した。エンドトキシンに対する反応性を評価するため、各マウスの腹腔内に LPS の 1 回投与 (10 mg/kg BW) を行った。投与後 5 日間観察し生存期間を追跡した。また、LPS 投与後経時的に血液を眼窩静脈から採取し、分泌型 ALP 活性を計測し、ER ストレスのモニタリングを行った。
- Adipoq の腫瘍増殖に対する効果を評価するため、24 週齢の Adipoq 過剰発現マウスおよび WT マウスの皮下に Lewis 肺癌細胞を移植した。移植後 16 日目に腫瘍を摘出し、その後の解析に用いた。

【結 果】

- RD 群、HFD 群のいずれにおいても、WT マウスと比較して Adipoq 過剰発現マウスではインスリン感受性は有意に高かった。また、WAT における p53 および p21 タンパク発現量、および炎症のバイオマーカーである CD68 や Ccl2 の mRNA 発現量は、RD 群、HFD 群のいずれにおいても、WT マウスと比較して Adipoq 過剰発現マウスにおいて有意に低下していた。WT-CR マウスと WT-AL マウスとの比較によっても同様の結果が得られた。
- Adipoq 過剰発現マウスによって制御される脂肪生成やエネルギー代謝に関連したいくつかの遺伝子は、CR マウスと同じ方向に変化した。
- Adipoq 過剰発現マウスは、WT マウスと比較して LPS 投与に対する生存率が高かった。その要因として ER ストレスに対する耐性の関与が示唆されたが、その効果は CR 群と比較して有意に小さかった。
- Adipoq 過剰発現マウスと WT マウスとの間で腫瘍増殖に差は認めなかった。

【考 察】

今回の研究で、我々は、Adipoq の過剰発現が CR の代謝適応反応およびストレス耐性機構を模倣していることを示した。特に、インスリン抵抗性や耐糖能異常に代表される代謝障害を改善させるメカニズムには、WAT における p53 発現などの老化様変化の抑制が関与していることが示唆された。一方で、今回の癌細胞同種移植モデルでは、Adipoq の過剰発現と腫瘍増殖との関連性は明らかにできなかった。