

林 洋子 論文内容の要旨

主 論 文

Calorie restriction minimizes activation of insulin signaling in response to glucose: potential involvement of the growth hormone-insulin-like growth factor 1 axis

(カロリー制限はグルコースに反応するインスリンシグナル系の活性化を小さくする: growth hormone-insulin-like growth factor 1 の関連の可能性)

林 洋子, 山座治義, 小松利光, 朴 盛浚, 千葉卓哉, 樋上賀一, 永安 武, 下川 功

Experimental Gerontology • 43(9) • 827-832 • 2008年 • 原稿36枚

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: 下川 功 教授)

緒 言

様々な生物種においてカロリー制限 (以下 CR) と growth hormone (以下 GH)-insulin-like growth factor 1 (以下 IGF-1) のシグナル経路を抑制すると, 寿命が延長する。以前我々は, アンチセンス GH 導入遺伝子の過剰発現によって GH-IGF-1 系を選択的に抑制したトランスジェニック (以下 Tg) ラットが, 食餌を自由摂取した (以下 AL) 野生型 (以下 W) ラットと比較して寿命が延長することを報告した。AL-Tg ラットは 30% の CR を行った W ラットと同様な形質を示す。また, W-CR ラットと Tg-AL ラットはグルコース投与後血清インスリン濃度の急上昇が見られないにも関わらず, 正常か良好な糖代謝を示す。CR が GH-IGF-1 系を抑制することは知られており, CR が GH-IGF-1 系の抑制を介してグルコース刺激時のインスリンシグナル系を変化させる可能性が考えられる。

インスリンが細胞膜上の受容体に結合すると, そのチロシン蛋白が活性化し, insulin receptor substrate 蛋白がリン酸化 (以下 IRS) される。チロシンリン酸化した IRS 蛋白は phosphatidylinositol 3-kinase を活性化し, Akt を含む下流因子を活性化する。Akt のリン酸化は FoxO1 を不活化する。FoxO1 は線虫における寿命延長に関する重要な転写因子である Daf16 のほ乳類オルソログに所属する。CR はこれらインスリン受容体 (以下 IR) -Akt-FoxO1 系を変化させることによって抗老化および寿命延長効果を発揮し得る。

今回の研究では, W-CR ラットと Tg-AL ラットにおいて, グルコース刺激時のインス

リン反応, および肝臓と骨格筋における IR と Akt のリン酸化レベル, FoxO1 の DNA 結合活性を測定した。我々はここにインスリンシグナル系における CR に特異的な変化, および CR と GH-IGF-1 系抑制の効果の類似性を示す。

対象と方法

アンチセンス GH 導入遺伝子を有するヘテロ接合 (tg-) のオスラットを使用した。6 週齢より, AL-W ラットが摂取する食餌の 70% の量を W ラットに与え, 30% の CR を開始した。全てのラットは一晩絶食させ, 1.0g/kg の 50% ブドウ糖液あるいは対照として生理食塩水を腹腔内投与し, その 15 分後に屠殺した。直ちに体幹の血液と肝臓および大腿四頭筋 (以下 QFM) を採取した。

血清インスリン濃度を ELISA 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るキットを使用して測定した。

肝臓と QFM の蛋白を抽出し, リン酸化 IR (以下 p-IR) とリン酸化 (以下 p-Akt) を ELISA にて測定した。FoxO1 の DNA 結合活性は TransAM™FKHR (FOXO1) Transcription Factor Assay Kits を使用して測定した。

結 果

W-AL ラットでは, 肝臓と QFM における p-IR がグルコース投与群で生食投与群と比較して有意に上昇したが, W-CR および Tg-AL 群では有意な上昇が見られなかった。また, グルコース投与時の p-IR レベルでは, W-AL 群が W-CR・Tg-AL 群と比較して有意に高かった。

W-AL ラットでは, 肝臓における p-Akt レベルがグルコース投与群で生食投与群と比較して有意に上昇した。Tg-AL ラットでもほぼ有意な上昇が認められたが, W-CR ラットでは有意な上昇はみられなかった。グルコース投与時の p-Akt レベルは W-AL ラットが Tg-AL ラットより有意に高く, W-CR ラットとの比較では有意ではなかったが W-AL ラットの方が高い傾向が認められた。QFM における p-Akt レベルは全てのラットで, グルコース投与群が生食投与群と比較して有意に高かった。グルコース投与時の QFM の p-Akt レベルでは, 各ラット間の差はみられなかった。

W-AL ラットの肝臓では, グルコース投与群で, 生食投与群と比較して FoxO1 DNA 結合活性の有意な低下が認められた。W-CR ラットおよび Tg-AL ラットでは, グルコース投与による有意な動きは見られなかった。筋肉では, 全てのラットにおいてグルコース投与による FoxO1 DNA 結合活性の有意な変化は見られなかった。

考 察

今回の研究で我々は, CR はグルコース上昇に伴う血清インスリン値の上昇と IR-Akt シグナル系の活性を小さくすること, またそれにより少なくとも肝臓では FoxO1 の不活化を減少させることを示した。GH 抑制 Tg ラットはインスリンシグナル系の反応において W-CR ラットと広く同様な変化を示した。この類似性は CR が根本的に GH-IGF-1 系の減少を通してグルコース代謝におけるインスリンシグナル系の活性を減少させるという仮説を支持するものと考えられる。